

UC-NRLF



B 3 778 055

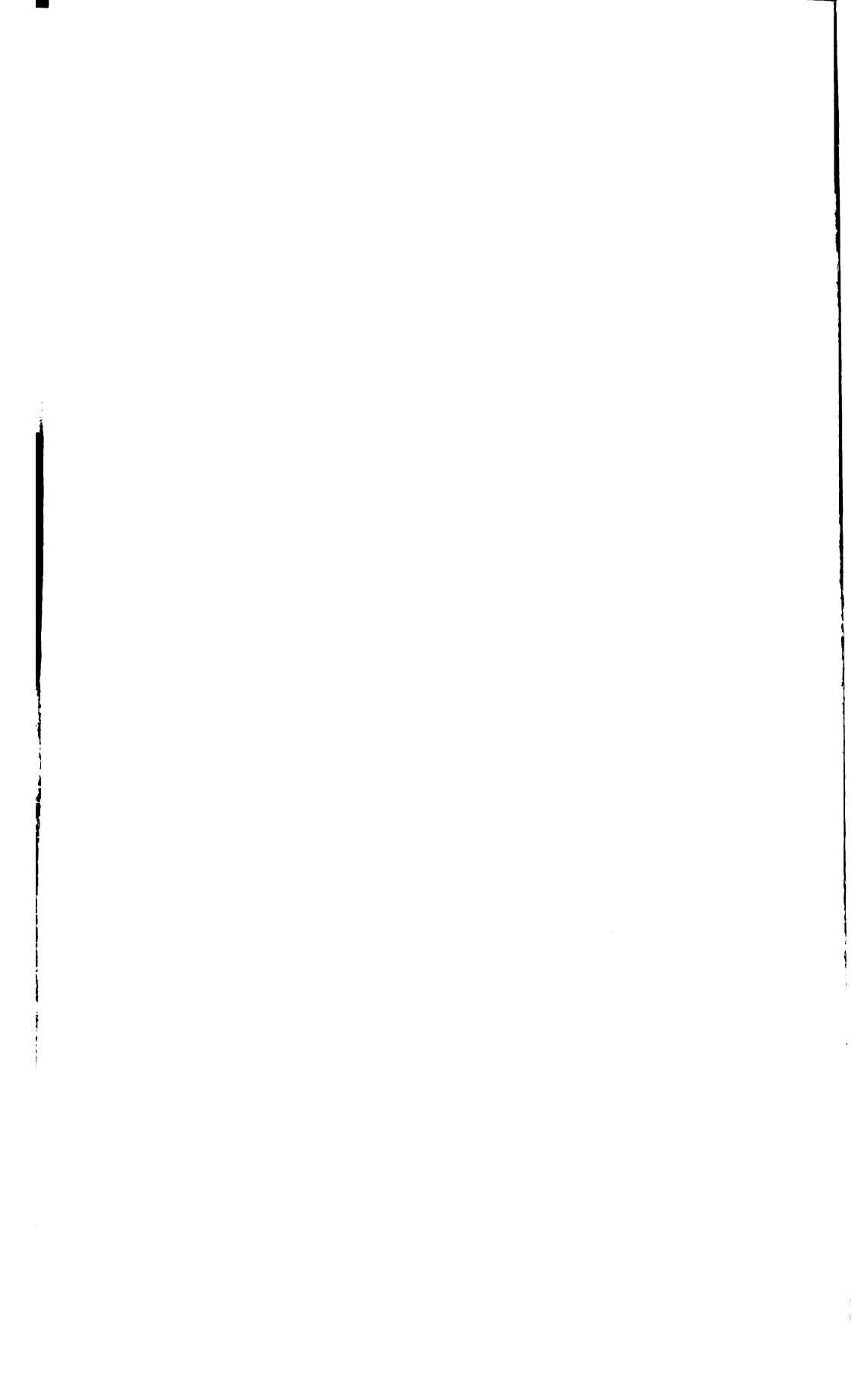
UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
MEDICAL CENTER LIBRARY  
SAN FRANCISCO



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, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris,  
A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-  
Karlsruhe i. B., F. Czapek-Leipzig, A. Darig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stock-  
holm, 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, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hart-  
Budapest, E. Häggund-Åbo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopen-  
hagen, B. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Hüber-Kiel, M. Jacoby-  
Berlin, A. Koch-Göttingen, F. Landell-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levey-  
New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-  
Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau,  
P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-Greifswald, L. Mithaelis-Berlin, H. Mollseh-Wien,  
J. Mergensroth-Berlin, E. Münsen-Frag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Pallad-  
in-St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, W. Paull-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Ptek-  
Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Percher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Sa-  
laskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf,  
S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stekfass-Frag,  
W. Straub-Freiburg i. B., A. Stützer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, H. v. Tappeler-  
München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-  
Berlin, W. Witechowski-Frag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundzwanzigster Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.



## Inhaltsverzeichnis.

	Seite
<b>Iwanoff, Nikolaus N.</b> Über die Verwandlung stickstoffhaltiger Substanzen bei den Endphasen der Hefenautolyse . . . . .	1
— Über Eiweißspaltung in Hefen während der Gärung . . . . .	25
— Über den Einfluß der Gärungsprodukte auf den Zerfall der Eiweißstoffe in den Hefen . . . . .	62
<b>Klein, W. und Maria Steuber.</b> Die elementaranalytische Methode der direkten Bestimmung von Kohlensäure und Sauerstoff in der Berthelotschen Bombe und ihre Bedeutung für Stoffwechsellbilanzen speziell beim Herbivoren . . . . .	81
<b>Traube, J. und R. Somogyi.</b> Zur Theorie der Desinfektion . . . . .	90
<b>Somogyi, R.</b> Wirkung von Säuren auf die Hefegärung . . . . .	100
— Quellung von Fibrin durch Säuren . . . . .	103
<b>Traube, J.</b> Ein neues Viscostalagmomometer zur Bestimmung der Oberflächenspannung und Reibung für Flüssigkeiten von verschiedenster Reibung . . . . .	106
— Nochmals die Wasserstoffionen . . . . .	108
<b>Traube, J. und P. Klein.</b> Experimentelle Beiträge zur Theorie der Narkose . . . . .	111
<b>Kahho, Hugo.</b> Zur Kenntnis der Neutralsalzwirkungen auf das Pflanzenplasma. II. Mitteilung . . . . .	125
<b>Fühner, H.</b> Die Wirkungsstärke der Narkotica. I. Versuche am isolierten Froschherzen . . . . .	143
<b>Schenker, Robert.</b> Zur Kenntnis der Lipase von <i>Aspergillus niger</i> (van Tiegh.) . . . . .	164
<b>Meißner, R.</b> Zur Beschleunigung der Blutgerinnung durch Euphyllin . . . . .	197
<b>Joachimoglu, Georg.</b> Die Wirkung einiger Verwandten des Chloroforms mit besonderer Berücksichtigung der Traubeschen Theorie über die Wirkung der Narkotica der Fettreihe . . . . .	203
<b>Katsch, G. und Géza Némethy.</b> Über Alkaptonchromogene . . . . .	212
<b>Fränkel, Sigmund und Emil Feldsberg.</b> Über eine neue Funktion des tryptischen Fermentes (Anhydrase) und über die Darstellung von d-Tyrosinanhydrid und d-Tryptophananhydrid aus den tryptischen Verdauungsprodukten . . . . .	218
<b>Bachem, C. und H. Kriens.</b> Über Jodabspaltung aus Jodoform und dessen Ersatzpräparaten . . . . .	230

	Seite
<b>Sarin, E.</b> Beiträge zur Chemie der Bildung und Reifung des Bienenhonigs . . . . .	250
— Einfluß organischer Säuren auf die Bildung und Reifung des Zuckerhonigs . . . . .	259
<b>Wachtel, Curt.</b> Nachweis und Bestimmung des Morphins und anderer Alkaloide in tierischen Ausscheidungen und Organen . . . . .	265
<b>Wacker, Leonh.</b> Kohlensäuredruck oder Eiweißquellung als Ursache der Muskelkontraktion? II. . . . .	284
<b>Volgt, J. und M. Fritz.</b> Versuche mit kolloiden Metallen zum Studium der Funktionsweise der Nieren . . . . .	303
<b>Autorenverzeichnis</b> . . . . .	319

---

# 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., F. Czapek - Leipzig, A. Durig - Wien, F. Ehrlich - Breslau, H. v. Euler - Stockholm, J. Folgi - 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 - Åbo, A. Heffter - Berlin, V. Henri - Paris, V. Henriques - Kopenhagen, E. O. Herzog - Berlin-Dahlem, W. Heubner - Göttingen, R. Höber - Kiel, M. Jacoby - Berlin, A. Koch - Göttingen, 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 - 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, J. K. Parnas - Lemberg, 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, T. Sasaki - Tokio, A. Scheunert - Berlin, A. Schloßmann - Düsseldorf, S. P. L. Sörensen - Kopenhagen, K. Spiro - Liestal, E. H. Starling - London, J. Stoklassa - Prag, W. Straub - Freiburg i. B., A. Stutzer - Königsberg i. Pr., K. Suto - Kanazawa, H. v. Tappeler - München, K. Thomas - Leipzig, H. Thoms - Berlin, P. Trendelenburg - Rostock, O. Warburg - Berlin, W. Wiechowski - Prag, A. Wohl - Danzig, J. Wohlgemuth - Berlin.**

Redigiert von

**C. Neuberg - Berlin**

Hundertundsiebzehnter Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921



**Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.**

## Inhaltsverzeichnis.

	Seite
<b>Ma de Corral, José.</b> Einfluß der Temperatur auf die aktuelle Reaktion des Blutes . . . . .	1
<b>Elias, H. und U. Sammartino.</b> Über die Rolle der Säure im Kohlenhydratstoffwechsel. IV. Mitteilung. Die Beziehungen von Säure und Alkali zur Adrenalinglykosurie . . . . .	10
<b>Hári, Paul.</b> Über einen aus normalem Menschenharn durch Behandlung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugten, rein dargestellten roten Farbstoff . . . . .	41
<b>Hofvendahl, Agda.</b> Die Bekämpfung der Cocainvergiftung im Tierversuch . . . . .	55
<b>Klein, W.</b> Die Cellulosegärung im Pansen des Ochsen und ihre Bedeutung für Stoffwechselversuche . . . . .	67
<b>Karezag, L.</b> Studien über Oxydationskatalysen. I . . . . .	69
<b>Kahho, Hugo.</b> Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenprotoplasmas durch Neutralsalze. I . . . . .	87
<b>Baur, Emil und Eugen Herzfeld.</b> Über Gärung ohne Hefe . . . . .	96
<b>Hirsch, Julius.</b> Zur Kenntnis des oxydativen Zuckerabbaus im Tierkörper. (Vorläufige Mitteilung) . . . . .	113
<b>Galeotti, Gino †</b> . . . . .	117
<b>Wellmann, O.</b> Über den Stoff- und Energieumsatz junger Ferkel auf Grund von Fütterungsversuchen, verbunden mit der Zerlegung ganzer Ferkelkörper . . . . .	119
<b>Costantino, A.</b> Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des Plasmas und der Blutkörperchen nach I. Bang . . . . .	140
<b>Luger, Alfred.</b> Zur Kenntnis der Chininhämolyse . . . . .	145
— Über die Wirkung metallischen Kupfers und Silbers auf Diastase. Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten oligodynamischen Phänomene . . . . .	153
<b>Abderhalden, Emil.</b> Ergänzungen zu der Arbeit „Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide?“ von E. Herzfeld und R. Klinger . . . . .	161
<b>Boas, Friedrich.</b> Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle . . . . .	166
<b>Murschhauser, Hans.</b> Drehungserscheinungen von Dextrose in Lösungen von tertiärem Natriumphosphat. Die Mutarotation als analytische Methode . . . . .	215
<b>Shimizu, Tomihide.</b> Über das Schicksal einiger Polysaccharide im Verdauungskanal bei Säugetieren . . . . .	227

	Seite
<b>Shimizu, Tomihide.</b> Über die Spaltung von einigen Polysacchariden (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) im Verdauungskanal bei Säugetieren . . . . .	241
— Über den Einfluß einiger Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) auf den Eiweißumsatz . . . . .	245
— Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Gehirns . .	252
— Verhalten des Phrenosins im Tierkörper . . . . .	263
— Verhalten des Pyrrols im Tierkörper. I. Mitteilung . . . . .	266
<b>Neuberg, Carl und Bernhard Arinstein.</b> Vom Wesen der Buttersäure- und Butylalkoholgärung. Abfangung von Acetaldehyd als Umsetzungsprodukt. Übergang von Brenztraubensäure-aldol in Buttersäure. Entstehung höherer Fettsäuren aus Zucker . . .	269
<b>Autorenverzeichnis</b> . . . . .	315

# Biochemische Zeitschrift

Beiträge  
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt a. M. MEDICAL CENTER LIBRARY  
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, B. F. Czapek-Leipzig, 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, 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-Åbo, A. Hoffer-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, E. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, 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, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pault-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Saksakin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, H. v. Tappeler-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wischowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

JAN 2 1962

San Francisco, 22

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertundsiebentzehnter Band

Erstes bis zweites Heft

Ausgegeben am 17. Mai 1921



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

# 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. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hiltorfstr. 18, zu richten.*

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

**Verlagsbuchhandlung Julius Springer**

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

117. Band.	Inhaltsverzeichnis.	1./2. Heft.
		Seite
<b>Ma de Corral, José.</b> Einfluß der Temperatur auf die aktuelle Reaktion des Blutes . . . . .		1
<b>Ellas, H. und U. Sammartino.</b> Über die Rolle der Säure im Kohlenhydratstoffwechsel. IV. Mitteilung. Die Beziehungen von Säure und Alkali zur Adrenalinglykosurie . . . . .		10
<b>Hári, Paul.</b> Über einen aus normalem Menschenharn durch Behandlung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugten, rein dargestellten roten Farbstoff . . . . .		41
<b>Hofvendahl, Agda.</b> Die Bekämpfung der Cocainvergiftung im Tierversuch . . . . .		55
<b>Klein, W.</b> Die Cellulosegärung im Pansen des Ochsen und ihre Bedeutung für Stoffwechselfersuche . . . . .		67
<b>Karczag, L.</b> Studien über Oxydationskatalysen. I. . . . .		69
<b>Kahho, Hugo.</b> Über die Beeinflussung der Hitzeoagulation des Pflanzenprotoplasmas durch Neutralsalze. I. Mitteilung . . . . .		87
<b>Baur, Emil und Eugen Herzfeld.</b> Über Gärung ohne Hefe . . . . .		96
<b>Hirsch, Julius.</b> Zur Kenntnis des oxydativen Zuckerabbaus im Tierkörper. (Vorläufige Mitteilung) . . . . .		113

# Einfluß der Temperatur auf die aktuelle Reaktion des Blutes.

Von  
José M<sup>a</sup> de Corral.

(Aus dem physiologischen Institut der „Junta para Ampliación de Estudios“,  
Madrid.)

(Eingegangen am 5. Februar 1921.)

In reinen Säurelösungen weist die Konzentration in Ionen H<sup>+</sup> [H<sup>+</sup>], d. h. ihre aktuelle Reaktion, fast keine Veränderung mit der Temperatur auf. Es ist allgemein bekannt, daß die Temperatur die Dissoziationskonstante der Säuren nur sehr wenig beeinflusst, was seinen Grund darin hat, daß deren Ionisationswärme außerordentlich gering ist. Der Temperaturkoeffizient dieser Konstante ist zwischen 8° und 40° fast 0.

In Essigsäure z. B. erreicht die Dissoziationskonstante bei den verschiedenen Temperaturen und nach den klassischen Bestimmungen von Lundén folgende<sup>1)</sup> Werte:

Temperatur	<i>k</i>
8°	1,81 <sub>9</sub> · 10 <sup>-5</sup>
10°	1,81 <sub>9</sub> · 10 <sup>-5</sup>
15°	1,84 <sub>3</sub> · 10 <sup>-5</sup>
35°	1,84 <sub>9</sub> · 10 <sup>-5</sup>
40°	1,79 <sub>7</sub> · 10 <sup>-5</sup>

Der Temperaturkoeffizient der Aminosäuren ist etwas höher.

Dasselbe hat Henderson<sup>2)</sup> für die erste Dissoziationskonstante der Kohlensäure festgestellt. Ausgehend von dem von Thomson angegebenen ionischen Wärmegrad dieser Säure, berechnet Henderson die Konstante bei 38° um 37% höher als bei 18°. Die Kohlensäure würde bei 38° stärker sein als bei 18°; jedoch glauben Michaelis, Davidoff<sup>3)</sup> und Rona<sup>4)</sup> bewiesen zu haben, daß der Temperaturkoeffizient dieser Konstante zwischen 18° und 38° ebenfalls in praxi Null gleichkommt.

<sup>1)</sup> Lundén, Zeitschr. f. physikal. Chemie **54**, 532. 1906.

<sup>2)</sup> Henderson, *Ergebn. d. Physiol. von Asher und Spiro* **8**, 296. 1909.

<sup>3)</sup> Michaelis und Davidoff, diese Zeitschr. **46**, 131. 1912.

<sup>4)</sup> Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **47**, 182. 1914.

Obleich in den Säurelösungen die  $[H^+]$ , durch die Temperatur nicht erhöht wird, verändert sich jedoch die Hydroxilionkonzentration  $[OH^-]$ , also ihre aktuelle Alkalinität, da bekanntlich die Dissoziationskonstante des Wassers durch die Temperatur große Veränderungen erleidet<sup>1)</sup>, und  $k_w = [H^+] \cdot [OH^-]$ .

So gab z. B. eine 0,01 n-HCl:

$$[OH^-] = 7,6 \cdot 10^{-13} \text{ bei } 18^\circ,$$

$$[OH^-] = 3,6 \cdot 10^{-12} \text{ bei } 38^\circ.$$

Sie ist folglich alkalischer bei 38° als bei 18°, während die aktuelle Acidität die gleiche bleibt.

Bei alkalischen Lösungen ist Entsprechendes zu beobachten. Die Dissoziationskonstante wechselt nur wenig unter dem Einfluß der Temperatur, und deswegen verändert sie auch nicht ihre  $[OH^-]$ ; sie ändert dagegen ihre aktuelle Acidität  $[H^+]$ .

Z. B. wird 0,1 n-NH<sub>3</sub> die gleiche  $[OH^-]$  bei 18° wie bei 38° haben; es beträgt ihre  $[H^+]$  bei 18°,  $5,4 \cdot 10^{-12}$ , bei 38° aber  $2,5 \cdot 10^{-11}$ . Es ist also bei 38° NH<sub>3</sub> saurer als bei 18°.

Bei Anwendung der ursprünglichen elektrometrischen Methoden erhielt man (Fränkel, Farkas sowie Michaelis und Rona) für Blut die gleiche  $[H^+]$  bei 18° — Zimmertemperatur — als bei 38° — Körpertemperatur. Und zu gleichen Resultaten gelangte Henderson durch theoretische Betrachtungen.

Die  $[OH^-]$  des Blutes dagegen würde sich mit der Temperatur vermehren; sie würde bei 38° stärker sein als bei 18°, und was noch von größerer Bedeutung ist: sie würde sich bei Fiebertemperatur noch mehr erhöhen. Bottazzi wies darauf hin, daß dies die Erhöhung der Oxydationen, die bei Fieber vorhanden sind, erklären könnte, wenn, wie wahrscheinlich, die Oxydationen mit dem Alkaleszenzgrade zunehmen.

Bevor wir weitergehen, bemerken wir, daß, obgleich das Blut leicht alkalisch ist<sup>2)</sup>, es sich in bezug auf die Temperatur genau so verhalten würde, wie die Säuren; es ändert seine  $[OH^-]$ , aber nicht seine  $[H^+]$ . Es besteht hierin kein Widerspruch, da das Blut seine Alkaleszenz der Hydrolyse der Salze schwacher Säuren verdankt, somit deren Dissoziation die Reaktion bedingt.

<sup>1)</sup> Bei 18° ist die Konstante  $0,72 \cdot 10^{-14}$ ; bei 38° ist die Konstante  $3,35 \cdot 10^{-14}$ .

<sup>2)</sup> Vgl. Corral, Reacción actual de la sangre, Valladolid 1914; diese Zeitschr. 72, 1. 1915.

An 9 Personen, bei denen Michaelis und Davidoff (l. c.) die Reaktion des Blutes prüften, fand man eine kleine, aber konstante Differenz zwischen der  $[H^+]$  bei 18–22° und der  $[H^+]$  bei 37,5°. Der Wert des  $p_H$  bei 37,5° war durchschnittlich um 0,21 geringer als bei 18°. Die individuellen Verschiedenheiten schwankten mit den angewandten Methoden zwischen den zulässigen Abweichungen. Ein gleiches Resultat würden Serum und Exsudate ergeben.

Die Differenz der Alkaleszenz des Blutes bei 18° und 37,5° wird also geringer sein, als man annahm, jedoch besteht sie auf alle Fälle. Von größter Wichtigkeit ist jedoch, daß, wenn man nur den Wert von  $p_H$  bei 18° kennt, man jetzt den bei 38°, der uns in der Physiologie am meisten interessiert, berechnen kann. Es bedeutet dies einen Fortschritt, da es technisch viel komplizierter ist,  $p_H$  bei 38° als bei 18° zu messen.

Ein Versuch von Hasselbalch, der bei Menschenblut einen um 0,17 kleineren Wert für  $p_H$  bei 37° erhielt als bei 18°, bestätigt dieses Resultat<sup>1)</sup>.

Durch direkte Bestimmungen konnte ich in verschiedenen Fällen das Resultat dieser Autoren bestätigen. Die überzeugendste Bestätigung glaubte ich jedoch auf indirekte Weise geben zu können<sup>2)</sup>. Bei 30 elektrometrischen Bestimmungen von Venenblut, von 8 Färsen, mit einer natürlichen  $CO_2$ -Tension, die ich bei einer Temperatur von 14–20° vorgenommen habe, fand ich als Durchschnittswert:  $p_H = 7,59$ .

Die einzelnen Werte weisen die bei der angewandten Technik zulässigen Abweichungen auf.

Hasselbalch und Lundsgaard<sup>3)</sup> haben früher mit der gleichen elektrometrischen Methode, in dem mit  $CO_2$  bei 40 mm Druck (Durchschnittsdruck der  $CO_2$  im Venenblut) gesättigten Ochsenblut, bei 38,5°  $p_H = 7,36$  gefunden; also 0,23 weniger als der von mir bei 18° konstatierte Wert beträgt. Die Differenz ist also demnach fast gleich der von Michaelis und Davidoff bei Menschen gefundenen (= 0,21).

Andererseits habe ich bei der Untersuchung des menschlichen Venenblutes dreier Individuen im Durchschnitt  $p_H$  im Venenblut bei natürlichen  $CO_2$ -Druck und 14° Temperatur zu  $p_H = 7,59$  festgestellt, während Michaelis und Davidoff unter gleichen

1) Hasselbalch, diese Zeitschr. 49, 451. 1913.

2) Corral, l. c.

3) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 77. 1912.



Bedingungen, jedoch bei  $37,5^\circ$   $p_H = 7,35$  gemessen haben, was eine Differenz von 0,24 zwischen beiden Werten darstellt. Obgleich die von letzteren angewandte Technik ziemlich viel von der von mir benutzten abweicht, sind die Resultate, wie wir sehen, annähernd die gleichen.

Nach obigen Daten könnte man annehmen, daß das Blut einen Temperaturkoeffizient hat, und Michaelis versuchte dies mit der Annahme zu erklären, daß es die Dissoziationskonstante der Eiweißkörper es sei, die sich mit der Temperatur verändert. Zwei amerikanische Forscher dagegen, Mac Clendon und Magoon<sup>1)</sup>, haben neuerdings diese Frage studiert und, sich gerade auf meinen Befund stützend, daß ich keinen Temperaturkoeffizienten für einige „Puffer“ festgestellt hatte, sagen sie, daß es ihnen seltsam erscheint, daß das Blut einen hätte und somit eine Ausnahme darstellen sollte. Sie maßen in Anbetracht dessen das Blut bei  $23^\circ$  und  $37^\circ$  und finden keine Differenz zwischen den gefundenen Werten des  $p_H$ . Später, jedoch unabhängig von den genannten Autoren, stellt auch Hasselbalch bei 5 direkten Versuchen und entgegen seinen früheren Angaben fest<sup>2)</sup>, daß keine Differenz der  $[H^+]$  des Blutes bei  $18^\circ$  und  $38^\circ$  besteht. Der jetzt von ihm gefundene Wert ist gleich dem früher bei  $38^\circ$  ermittelten.

Fernerhin beweist er auch, daß die Dissoziationskonstante der Kohlensäure sich mit der Temperatur fast entsprechend den Thomsonschen Berechnungen ändert. Die von Michaelis und seinen Schülern erzielten Resultate sind, wie bewiesen werden wird, unrichtig und vermutlich auf fehlerhafte Technik zurückzuführen.

Beachten wir, was früher als Eigenartiges erschien, daß, während sich die Dissoziation der Kohlensäure durch die Temperatur nicht verändert, sich  $p_H$  des Blutes verändert; nach den Hasselbalchschen Resultaten ist nun gerade das Gegenteil der Fall; denn es ändert sich die Kohlensäuredissoziation, während der  $p_H$  des Blutes gleich bleibt.

Versuchen wir den Unterschied zwischen den von Mac Clendon und Magoon und Hasselbalch bei  $18^\circ$  im Blut gefundenen, und den früher von Michaelis und Davidoff, Hasselbalch und mir selbst konstatierten Daten, zu erklären.

<sup>1)</sup> Mac Clendon und Magoon, Journ. of Biolog. Chem. 25, 669. 1916.

<sup>2)</sup> Hasselbalch, diese Zeitschr. 78, 112. 1916.

Hasselbalch findet seine anfangs erzielten Resultate mangelhaft, da er eine zu große Elektrode angewandt hatte; dasselbe könnte man von meinen Versuchen sagen, da ich bei meinen Messungen eine gleichartige Elektrode benutzt habe. Ebenfalls sollen die Angaben von Michaelis infolge unvollkommener Technik fehlerhaft sein, aber Hasselbalch erklärt nicht mit Bestimmtheit<sup>1)</sup>, worin diese Mangelhaftigkeit besteht. Wäre es wirklich der Fall, so würden die von mir sowie Michaelis erzielten Resultate hinfällig sein.

Nun war die Übereinstimmung der Zahlen von Michaelis und Davidoff mit den meinigen so groß und die Bestimmung schien so genau ausgeführt zu sein, daß man nach meinem Dafürhalten unmöglich von einem Zufall sprechen kann. Es ist ebenfalls nicht angängig, unsere Resultate zufälligen technischen Abweichungen zuzuschreiben. Wenn die Bestimmungen von Hasselbalch richtig sind, woran nicht zu zweifeln ist, so waren unsere Versuche mit einem Fehler behaftet, und es ist nötig, diesen zu ergründen. Untersuchen wir also genauer den Tatbestand unter der Voraussetzung, daß sowohl die Versuche von Hasselbalch, als die von Michaelis und die meinigen ganz genau ausgeführt worden sind. Hasselbalch nimmt in seinen Versuchen das Blut, um  $p_H$  zu messen, ohne Rücksicht auf seinen  $CO_2$ -Gehalt. Dann mischt er das Blut bis zum Gleichgewicht mit  $CO_2$ -haltiger Luft bei einem  $CO_2$ -Druck von 40 mm Hg. Die Mischung bereitet er bei  $18^\circ$  oder bei  $38^\circ$ , je nachdem er  $p_H$  bei  $18^\circ$  oder  $38^\circ$  bestimmen will. Michaelis und Davidoff und ich selbst dagegen, ziehen das Blut direkt von den Venen ab, vermeiden dabei jeden Kontakt mit der Luft und erhalten somit Venenblut mit natürlichem  $CO_2$ -Druck von durchschnittlich 40 mm — jedoch bei  $38^\circ$  ausgeglichen. Wenn wir die Reaktion dieses Blutes bei  $38^\circ$  messen, so haben wir den gleichen Fall, wie wenn Hasselbalch bei dieser Temperatur experimentiert. Ein Unterschied zwischen unseren

<sup>1)</sup> Hasselbalch deutet an, daß die Michaelis-Ronasche Technik denselben Fehler hat, über den er schon vorher in ihrer Arbeit über die geringere Stärke der Kohlensäure bei  $38^\circ$  in Vergleich zu  $18^\circ$  berichtet hat. Obgleich nun der Grund der Unzulänglichkeit gleichartig ist, nähme ich dennoch eine wesentliche Differenz zwischen den Fehlern der Technik dieser Arbeit und der bestehenden Mangelhaftigkeit an, die in der Feststellung der  $[H]$  des Blutes nach Michaelis vorhanden ist, wie klar aus folgendem hervorgeht.

und den Versuchen Hasselbalchs tritt jedoch ein, wenn wir  $p_H$  des Blutes bei 18° messen, da er mit  $\text{CO}_2$  bei 18° ausgleicht und  $p_H$  bei derselben Temperatur mißt. Wir dagegen messen bei 18° das bei 38° mit  $\text{CO}_2$  ausgeglichene Blut.

Hasselbalch stellt jetzt durch Versuche fest, daß das bei 38° mit  $\text{CO}_2$  ausgeglichene und gemessene Blut den gleichen  $p_H$  hat wie bei 18°. Und die erzielten Werte gleichen den unseren bei natürlichem, bei 38° ausgeglichenem und gemessenem Blut. Nach den Versuchen von Michaelis und Davidoff und den von mir gemachten, hat jedoch das bei 38° ausgeglichene und bei 18° gemessene Blut einen um 0,21 oder 0,23 höheren  $p_H$  als das bei 38° ausgeglichene und gemessene. Dieses sind alles richtige Beobachtungsdaten.

Wie bekannt, hängt die Acidität des Blutes von der Konzentration seiner freien Kohlensäure ab. Diese Konzentration ihrerseits hängt von dem Druck und der Temperatur ab, da sich der Absorptionskoeffizient der  $\text{CO}_2$ , je nach der Temperatur ändert.

Wenn wir das Blut bei 38° mit  $\text{CO}_2$  unter 40 mm ausgleichen, so löst sich weniger  $\text{CO}_2$  auf, als wenn wir es bei 18° mit  $\text{CO}_2$  bei gleichem Druck ausgleichen. Läßt man dagegen das bei 38° ausgeglichene Blut sich bis zu 18° abkühlen, ohne mit der Luft in Berührung zu kommen, so kann natürlich der  $\text{CO}_2$ -Gehalt nicht höher sein als bei 38°. Unter gleichen Bedingungen wird dieses Blut weniger freie Kohlensäure haben als das bei 18° ausgeglichene; und seine Acidität wird also geringer als die von letztem sein. Da nach Hasselbalch das bei 18° ausgeglichene und gemessene Blut den gleichen  $p_H$  als das bei 38° ausgeglichene und gemessene hat, ergibt sich, daß bei unseren Bestimmungen das Blut bei 18° weniger sauer als bei 38° sein muß. Hiermit stimmen die von Michaelis und Davidoff und mir selbst gefundenen Resultate überein, und es ergibt sich kein Widerspruch mit den von Hasselbalch gefundenen Resultaten. Versuchen wir nun zu ergründen, um wieviel saurer das Blut sein muß.

Hasselbalch hat in derselben Arbeit, von der ich spreche, eine Formel angegeben, die den  $p_H$  des Blutes zu berechnen ermöglicht, vorausgesetzt, daß der Druck des  $\text{CO}_2$  ( $p$ ), die Quantität des  $\text{CO}_2$  ( $s$ ) und die Temperatur bekannt sind:

$$p_H = p_{K'} + \log \frac{3,8 s}{p \alpha}$$

( $\alpha$  ist der Absorptionskoeffizient des Blutes für  $\text{CO}_2$  und  $p_{K'} = p_K + \lg \delta$ ).

Der Wert  $p_K$  ist (nach Bjerrum) der negative Logarithmus der ersten Dissoziationskonstante der Kohlensäure und  $\delta$  der entsprechende Dissoziationsgrad. Die mit dieser Formel berechneten Werte entsprechen nach Hasselbalch genau den elektrometrisch gefundenen.

Bei Anwendung der Formel und Einsetzung des entsprechenden Wertes für  $\alpha$  [nach Bohr<sup>1</sup>] wird also der  $p_H$  des Blutes ausgeglichen mit  $\text{CO}_2$  bei  $38^\circ$  und bei  $18^\circ$  gemessen:

$$p_{H \cdot M \cdot u. \cdot c}^{18^\circ} = p_K + \log \frac{3,8 s}{0,511 p}.$$

sein.

Der  $p_H$  des bei  $18^\circ$  gesättigten und bei derselben Temperatur gemessenen Blutes ( $p_H$  bei  $18^\circ$ , Hasselbalch) wäre

$$p_{H \cdot H}^{18^\circ} = p_K + \log \frac{3,8 s}{0,854 p}$$

Und da nach Hasselbalch der  $p_{H \cdot H}^{18^\circ}$  gleich dem  $p_H$  des bei  $38^\circ$  ausgeglichenen und gemessenen Blutes ( $p_H^{38^\circ}$ ) ist, und diese Werte gleich den von uns bei  $38^\circ$  erhaltenen sind, so werden wir haben:

$$\begin{aligned} p_{H \cdot M \cdot u. \cdot c}^{18^\circ} - p_H^{38^\circ} &= \left( p_K + \log \frac{3,8 s}{0,511 p} \right) - \left( p_K + \log \frac{3,8 s}{0,854 p} \right) \\ &= \log 0,854 - \log 0,511 = 0,223. \end{aligned}$$

Dieses Resultat entspricht vollkommen den von Michaelis und Davidoff (0,21) und von mir (0,23) experimentell erzielten Daten.

Das Blut verändert also nicht seinen  $p_H$  durch die Temperatur, unter der Voraussetzung, daß es bei der gleichen Temperatur, bei der es mit  $\text{CO}_2$  ausgeglichen, worden ist, gemessen wird. Falls bei  $38^\circ$  ausgeglichen und bei  $18^\circ$  gemessen wird, so ist der Wert des  $p_H$  um 0,22 höher als der des Blutes bei  $38^\circ$ , unabhängig des Wertes des  $\text{CO}_2$ -Drucks des Blutes. Es ist ferner festgestellt worden, daß um  $p_H$  des Blutes bei natürlichem Druck des  $\text{CO}_2$  — was nach meiner Ansicht von großem Wert ist — zu errechnen, es genügt, es bei  $18^\circ$ , bei Anwendung der von Michaelis oder von mir benutzten Technik zu messen, und dann 0,22 von den Resultaten abzuziehen. Auf diese Weise kann man Apparate und technische Komplikationen vermeiden, die

<sup>1</sup>) Nagels Handb. d. Physiol. d. Menschen 1, 63.

nötig sind, wenn wir den  $p_H$  direkt bei  $38^\circ$  messen wollten.

Die von mir erhaltenen Werte des  $p_H$  des Blutes sind also theoretisch bewiesen. Und gleichzeitig ist ein neuer Beweis der Richtigkeit der Hasselbalchschen Formel gegeben.

Soweit in bezug auf das Blut. Im Serum fanden Michaelis und Davidoff, daß der  $p_H$  bei  $38^\circ$  ebenfalls um 0,21 niedriger ist als bei  $18^\circ$ , wenn man das Serum bei seinem natürlichen  $\text{CO}_2$ -Druck mißt. Ich fand (l. c.) als Durchschnitt bei 5 Versuchen, bei Färsenserum mit natürlichem  $\text{CO}_2$ -Druck, bei  $18^\circ$   $p_H = 7,61$ . Dieser Wert kommt praktisch dem des Totalblutes bei dieser Temperatur gleich. Hasselbalch konstatierte früher, daß das Serum (bei  $38^\circ$  gemessen) alkalischer als das gesamte Blut ist. Darauf fand er jedoch, daß das bei  $18^\circ$  mit  $\text{CO}_2$  ausgeglichene und gemessene Serum einen um 0,10 kleineren  $p_H$  als das bei  $38^\circ$  ausgeglichene und gemessene hat. Es ist saurer bei  $18^\circ$  als bei  $38^\circ$  und es erscheint fast als eine reine Lösung von  $\text{NaHCO}_3$ . Er nimmt weiter an, daß das Serum alkalischer ist als das gesamte Blut, die Werte, die er angibt, sind jedoch weniger alkalisch als die früher von ihm beobachteten<sup>1)</sup>.

Ich kann theoretisch diese so verschiedenen Resultate nicht in Einklang bringen. Ich will nur noch auf die Mangelhaftigkeit der von Hasselbalch zum Abziehen des Serums angewandten Technik hinweisen — er zieht das Serum in Berührung mit Luft ab, und er gleicht es mit  $\text{CO}_2$  bei einem bestimmten Druck aus. — Hamburger hat<sup>2)</sup> in der Tat nachgewiesen, daß die Zusammensetzung des bei Berührung mit der Luft abgezogenen Serums sich von der des Plasmas unterscheidet; und zwar besteht einer der Unterscheidungsgründe in der Verminderung der Titrationsalkalescenz. Erhält man das Serum, ohne daß das Blut  $\text{CO}_2$  verliert, so würde das Serum im Gegenteil die gleiche Zusammen-

1) Bei 41,7 mm von  $\text{CO}_2$  und  $38^\circ$  hatte das Serum nach Hasselbalch und Lundsgaard (1912)  $p_H = 7,63$  und das Gesamtblut  $p_H = 7,31$ . Bei 30 mm und  $38^\circ$  würde das Serum  $p_H = 7,68$  und das Blut  $p_H = 7,42$  haben. Letztens (1916) fand Hasselbalch bei 40 mm und  $38^\circ$  resp. 7,37 und 7,27, und bei 30 mm und  $38^\circ$  7,49 und 7,35.

2) Hamburger, Arch. f. Physiol. 1893, S. 157 und Osmotischer Druck und Ionenlehre, Wiesbaden 1902, B. I.

setzung wie das Plasma haben, abgesehen natürlich von der Bildung von Fibrin.

Es ist möglich, daß die von Hasselbalch angewandte Technik der Grund dafür ist, daß er alkalischere Werte findet als ich. Auch Mac Clendon und Magoon<sup>1)</sup> sagen aus, daß das Serum und das defibrinierte Blut die gleiche Reaktion besitzen, wenn man jeden Verlust an CO<sub>2</sub> vermeidet, und bestätigen somit meine Resultate. Parsons fand kürzlich ebenfalls<sup>2)</sup>, daß bei gleichem CO<sub>2</sub>-Druck das reduzierte Gesamtblut die gleiche aktuelle Reaktion hat als das Plasma. Andererseits stellten Mac Clendon und Magoon<sup>3)</sup> fest, daß das Serum mit alveolarer Luft bei 20° ausgeglichen und bei gleicher Temperatur gemessen, ungefähr ein um 0,15 geringeren  $p_H$  hat als das arterielle Blut.

Die Reaktion des Serums und der Einfluß, den hierauf die Temperatur ausübt, verlangt also weitere experimentelle Studien.

---

<sup>1)</sup> Mac Clendon und Magoon (l. c.).

<sup>2)</sup> Parsons, Journ. of Physiol. **51**, 440. 1917.

<sup>3)</sup> Mac Clendon und Magoon, Journ. of Biolog. Chem. **31**, 519. 1917.

# Über die Rolle der Säure im Kohlenhydratstoffwechsel.

## IV. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Die Beziehungen von Säure und Alkali zur Adrenalinglykosurie.

Von

H. Elias und U. Sammartino.

[Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik in Wien<sup>2)</sup>.]

(Eingegangen am 6. Februar 1921.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

Schon seit langem hatten sich Physiologen, Pathologen und Kliniker für die Wirkung der Piqure auf die Leber interessiert, und zwar nicht nur für die chemischen Veränderungen, wie z. B. besonders für die Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels, sondern auch für die physikalischen Veränderungen, die an der Leber und ihren Gefäßen zu beobachten waren.

Seit Claude Bernard<sup>3)</sup> (1858), Schiff<sup>4)</sup> (1859) und Falta und Priestley<sup>5)</sup> (1911) wissen wir, daß der Zuckerstich, und seit Falta und Priestley<sup>6)</sup>, daß auch die Adrenalinglykosurie mit einer Blutüberfüllung der Leber einhergeht. E. Freund<sup>6)</sup> erklärte bereits 1902 die erfolglose Piqure nach Splanchnicusdurchschneidung so, „daß die Lähmung der Darmvasoconstrictoren die Glykosurie dadurch vereitelt, daß die Leber zu wenig Blut erhält“ und spricht sich direkt für die Annahme einer Lebergefäß-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 48, H. 1 u. 2, S. 120; 52, H. 5 u. 6, S. 331; 90, H. 3 u. 4, S. 229.

<sup>2)</sup> Diese Versuche waren bereits vor dem Krieg, als noch Prof. v. Noorden Vorstand der Ersten Medizinischen Klinik war, begonnen worden, mußten aber, da fast alle Aufzeichnungen verloren gegangen waren, nach dem Kriege unter der klinischen Leitung von Prof. K. F. Wenckebach wiederholt werden.

<sup>3)</sup> Claude Bernard, Physiologie et Pathologie du système nerveux, Bd. I, S. 476 u. 483 u. ff.

<sup>4)</sup> Schiff, Würzburg 1859; zitiert nach Lepine, Le diabète sucré.

<sup>5)</sup> Falta und Priestley, Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 47. S. 2104.

<sup>6)</sup> E. Freund, Wiener klin. Wochenschr. 15, 466. 1902.

erweiterung als Ursache verschiedener Glykosurien aus. F. Hofmeister<sup>1)</sup> beschreibt 1912 an histologischen Präparaten das anatomische Bild der gestauten Leber nach Adrenalininjektion. Später, 1913, wurde von Neubauer<sup>2)</sup> durch plethysmographische Methoden festgestellt, daß die Piqûre, ebenso wie die Adrenalin-, Bariumchlorid-, Strophantinglykosurie, und auch die Glykosurie nach Injektion von Pituitrinum infundibulare, von Coffeinum natrium benzoicum und von Theobrominum natriosalycilium, nach faradischer Reizung des zentralen Stumpfes des N. vagus, sowie des linken N. splanchnicus, nach Asphyxie zu einer Blutdrucksteigerung [vgl. Trendelenburg und Fleischhauer<sup>3)</sup>] und zu einer Volumvergrößerung der Leber durch Hyperämie führt. Auf Grund dieser Feststellungen wie auf Grund der beobachteten vertieften oder stark beschleunigten Atmung, und auf Grund von Milchsäurebestimmungen im Harn [bis über 0,3 g Zinklactat<sup>4)</sup>] spricht sich Neubauer für die Zugehörigkeit der Zuckerstichglykosurie zur Gruppe der durch Asphyxie veranlaßten Glykosurien aus, die nach Starckenstein<sup>5)</sup> auf eine zentrale Sympathicusreizung zurückzuführen sind.

E. Neubauer kam weiterhin zu dem Resultat, daß die beobachtete Blutdrucksteigerung und Lebensvolumvergrößerung bei diesen zur Hyperglykämie und Glykosurie führenden Eingriffen kein zufälliger Nebenumstand, sondern ein notwendiges Glied in der Kette der Ereignisse ist. Denn wenn das Zustandekommen der Blutdrucksteigerung und damit der Leberanschoppung durch das antiglykosurisch wirkende Chloralhydrat [vgl. F. Eckhardt<sup>6)</sup> und Starckenstein] oder durch Alkohol in großen Mengen, oder Ergotoxin hintangehalten wurde, konnte auch die Hyperglykämie oder Glykosurie nicht zustande kommen. Ebenso wenig konnte Michaud<sup>7)</sup> an 5 von 6 Hunden nach Anlegung einer Eckischen Fistel, die eine Blutanschoppung im Portalkreislauf unmöglich macht, eine Adrenalinhyperglykämie erzielen (vgl. aber Fürth und Schwarz!). Da einerseits, wie Neubauer zeigt, die Wirkung der Piqûre und des Adrenalins auf das

<sup>1)</sup> F. Hofmeister, Das Glykogen. Nothnagelvortrag.

<sup>2)</sup> E. Neubauer, diese Zeitschr. **43**, 335. 1912; **52**, 118. 1913. —

<sup>3)</sup> Paul Trendelenburg und K. Fleischhauer, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **1**, 369. 1913.

<sup>4)</sup> Neuerdings hat auch W. von Moraczewsky und E. Lindner (Dtsch. Arch. f. klin. Med. **121**, H. 4—6, S. 431—462. 1917) am Menschen am Tage der Adrenalininjektion eine vermehrte Milchsäureausscheidung nachgewiesen.

<sup>5)</sup> Starckenstein, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **10**, Nr. 4. S. 78. Im Widerspruch dazu käme nach den bisher nur im Referat gelesenen Mitteilungen von Stewart und Rogoff (Amer. Journ. of Physiol. **51**, Nr. 2) die Erstickungshyperglykämie ohne Beteiligung der Nebennieren zustande.

<sup>6)</sup> F. Eckhart, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **12**, 276. 1880.

<sup>7)</sup> Michaud, Verhandl. d. deutschen Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1911, S. 561.



Lebervolumen ausbleibt, wenn die Portalgefäße abgeklemmt sind, mußte es sich um eine passive Hyperämie handeln, um eine Leberstauung durch größeren Zufluß aus der Vena portae. Andererseits führte aber eine kurz dauernde Abklemmung der Venae hepaticae nach ihrer Lösung auch zu einer intensiven Hyperglykämie und Glykosurie. Daher nimmt Neubauer an, daß jede stärkere Blutdrucksteigerung eine größere Blutmenge in die Gefäßgebiete mit geringerem Tonus, wie die Leber eines darstellt, hineinschiebt, und daß die so entstandene Leberstauung unter sonst günstigen Verhältnissen (gefüllte Glykogendepots, rechtzeitige Aufhebung der Leberanschoppung und ausreichende Durchspülung der eben noch gestauten Leber usw.), durch Mobilisierung des Leberglykogens eine Hyperglykämie und Glykosurie setzt<sup>1)</sup>.

„Es wäre sehr wohl denkbar, daß eine maximale Anämie und Asphyxie der Leber, wie sie etwa das auf das Splanchnicusgebiet so eminent vasoconstrictorisch wirkende Adrenalin bedingen könnte, Verhältnisse schafft, wie sie post mortem zum Zerfall des Glykogens zu Zucker führen.“ [Vgl. dagegen die bemerkenswerten Befunde von I. Bang und Thor Tenström<sup>2)</sup>.]

Ebenso hält es Masing<sup>3)</sup> für naheliegend anzunehmen, daß diese zuckertreibende Wirkung weiter nichts ist, als das Resultat der durch Adrenalin bedingten Hemmung der O<sub>2</sub>-Versorgung. Denn auch er hatte gefunden, daß Hemmung der O-Zufuhr bei der Durchblutung der überlebenden Kaninchenleber zuckertreibend wirkt, ferner, daß nach Nachlassen der Gefäßwirkung des Adrenalins und nach dem Wiederanstieg der Zirkulationsgeschwindigkeit der O-Verbrauch seine ursprüngliche Höhe erreicht und das Zuckertreiben aufhört. Doch macht Masing zwei gewichtige Gründe gegen diese Vorstellung geltend. Erstens wirkt Adrenalin nach vorausgegangener Vergiftung mit HCN oder Formalin nicht merklich auf Zirkulation und Oxydation — er bestimmt jedesmal aus der Differenz des O-Gehaltes im zu- und abfließenden Blut den O-Verbrauch der Leber —

<sup>1)</sup> Neuestens wurde Neubauers plethysmographische Feststellung der Leberanschoppung nach Adrenalininjektion von Bainbridge F. A. und I. V. Trevan (Journ. of physiol. 51, H. 6, S. 460, Dez. 1917), bestätigt. Bainbridge und Trevan nehmen im Gegensatz zu Neubauer eine Verengerung der Lebercapillaren durch Schwellung der Leberzellen an, wie auch schon früher J. Schmid (Beeinflussung von Druck und Stromvolum in der Pfortader durch die Atmung und durch experimentelle Eingriffe, Arch. f. d. ges. Physiol. 126, S. 173 1909) aus dem Anstieg des Pfortaderdrucks auf eine gefäßverengernde Wirkung des Adrenalins auf die Lebergefäße schloß, die über die Zeit der Arteriencontraction hinausdauert. Zu ähnlichen Resultaten kamen auch Burton-Opitz: The vascularity of the liver VIII. The inferenz of adrenalin upon the arterial inflow. Quart Journ. of experim. Physiol. 5, 309. 1912 und X. The influence of Adrenalin upon the venous inflow. Quarterly journ. of experim. Physiol. 5, 329. 1912.

<sup>2)</sup> I. Bang und T. Tenström, Diese Zeitschr. 50, 437. 1913.

<sup>3)</sup> Masing, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 69, 431. 1912.

reichert aber den Blutzucker an<sup>1)</sup>.“ Zweitens gibt es Substanzen wie  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{As}_2\text{O}_3$ , die den Gaswechsel der Leber hemmen, aber doch keinen Zucker mobilisieren.

Als endlich Fröhlich und Pollak<sup>2)</sup> an der Froschleber nachgewiesen hatten, daß die zuckermobilisierende Wirkung des Adrenalins hier regelmäßig zustande kommt, ohne von einer Veränderung der Gefäßweite begleitet zu sein, schien die Erklärung der Zuckermobilisierung durch Adrenalin auf Grund von Asphyxie, von O-Mangel allein, abgetan. Für den Kaltblüter konnte sie überhaupt keine Geltung haben.

Nun war aber bereits früher gezeigt worden, daß Säurezufuhr durch Glykogenmobilisierung aus der Leber zu Hyperglykämie und Glykosurie führt<sup>3)</sup>, und zwar ohne Beteiligung der Nebenniere, daß also der Angriffspunkt der Säureglykosurie in der Leber liegt; es stellte sich ferner heraus, daß minimale, an der Grenze des Physiologischen liegende Schwankungen in der Säurecapazität des Blutes, wie sie sich durch protrahierten Hunger erzielen lassen, eine Disposition zur Glykosurie und Hyperglykämie setzen, die durch Alkalizufuhr coupiert wird [Hungerdiabetes<sup>4)</sup>]. [Vgl. bestätigende ähnliche Erfahrungen von Macleod<sup>5)</sup> und die bereits früher festgestellte Wirkung von Alkali auf die Äther und Chloroformglykosurie sowie auf die Glykosurie nach Vagusreizung [Pavy und Godden<sup>6)</sup>, ferner den Einfluß von Soda auf die Glykosurie beim Pankreasdiabetes [Murlin und Krämer<sup>7)</sup>] und auf das Blutzuckerniveau des normalen Kaninchens [Underbill<sup>8)</sup>]. Im Anschluß daran wurde die Möglichkeit einer Regulation des Blutzuckerspiegels durch die bei Zuckermangel intermediär entstehenden Säuren diskutiert.

Unter diesen Umständen war es recht naheliegend [vgl. Elias<sup>9)</sup>], die Glykogenmobilisierung durch Säure einerseits und die durch Adrenalin als Repräsentanten der asphyktischen Glykosurie andererseits auf ihre Beziehungen zueinander zu studieren. Vor allem mußten, wenn diese beiden Vorgänge überhaupt etwas miteinander zu tun hatten, zwei Möglichkeiten erwogen werden. Die Säureglykogenmobilisierung konnte entweder mit ähnlichen Gefäßphänomenen, wie die asphyktische, einhergehen oder die asphyktische

<sup>1)</sup> Schwemmt nicht vielleicht HCN auf ganz andere Art, etwa durch Säurewirkung (Milchsäure) Zucker aus der Leber aus?

<sup>2)</sup> A. Fröhlich und L. Pollak, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. **77**, 265. 1914.

<sup>3)</sup> H. Elias, Diese Zeitschr. **48**, H. 1 u. 2, S. 120.

<sup>4)</sup> H. Elias und L. Kolb, Diese Zeitschr. **52**, H. 5 u. 6, S. 331.

<sup>5)</sup> Macleod und Fulk, Amer. Journ. of physiol. **42**, H. 2, S. 193 bis 213. — Macleod und Pearce, Amer. Journ. of physiol. **38**, 415, Okt. 1915.

<sup>6)</sup> Pavy und Godden, Journ. of physiol. **43**, 7. 1911—12.

<sup>7)</sup> Murlin und Krämer, Journ. Biol. Chem. **15**, 365. 1913.

<sup>8)</sup> Underbill, Journ. Biol. Chem. **25**, 471. 1916.

<sup>9)</sup> H. Elias, Berichte der Gesellsch. f. inn. Med. u. Kinderheilk. in Wien 1913, Sitzung v. 3. Juli. S. 154.

Glykogenmobilisierung konnte auf dem Wege des Säurediabetes durch anaerob entstandene organische Säure zustande kommen. Für beide Annahmen waren Anhaltspunkte in der Literatur zu finden.

### Geht der Säurediabetes mit ähnlichen Gefäßerscheinungen einher, wie die Adrenalinglykosurie?

Am Kaltblüter war schon lange durch Gaskell<sup>1)</sup> 1880 festgestellt worden, daß organische Säuren (Milchsäure und Essigsäure) in starken Verdünnungen zu Gefäßerweiterungen führen. Andere Autoren, Henderson und Loewi<sup>2)</sup>, Barkroft<sup>3)</sup>, Baylis<sup>4)</sup>, sind zum Teil nach Versuchen an Kaltblütern, zum Teil an Warmblütern zu dem Schluß gekommen, daß Stoffwechselprodukte der arbeitenden Zellen, Produkte wie CO<sub>2</sub> oder Milchsäure, die gleichen Gefäßveränderungen hervorrufen. Und während einige Autoren eine gefäßerweiternde Wirkung durch Säuren am Warmblüter nicht erzielen konnten, zeigten Roy und Sherrington<sup>5)</sup> einwandfrei, auch am Warmblüter, und zwar an den Hirngefäßen, die vasodilatorische Wirkung der Säure. Neuerdings wurde durch die Untersuchungen von Lemberger und Schwarz<sup>6)</sup> nachgewiesen, daß Säure wohl imstande ist, eine Gefäßerweiterung im Gebiete der Glandula submaxillaris und des Hirns am Kaninchen resp. Hund herbeizuführen. Und zwar handelt es sich bei der Erweiterung der Hirngefäße ebenso um eine passive Hyperämie wie bei der Anschoppung der Zuckerstichleber. Die Autoren vermuten, daß es in der arbeitenden Zelle zu einer relativen O-Armut kommt, die zu sauren Produkten und auf diese Weise zu einer CO<sub>2</sub>-Überladung führt, die schon von den früheren Autoren (Literatur bei Schwarz und Lemberger) als Ursache der Gefäßerweiterung angesehen worden war. Spiro<sup>7)</sup> konnte nach Säurevergiftung durch NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> im Kaninchen wie im Hund zunächst eine vorübergehende Blutdruckerhöhung, bald darauf aber eine stärkere Blutdrucksenkung beobachten, von der sich der Hund rascher erholt als das Kaninchen. Ebenso hat Mathison<sup>8)</sup> gezeigt, daß nach Injektion schwacher organischer Säuren eine Blutdrucksteigerung durch Reizung des Vasomotorenzentrums eintritt, die natürlich zu einer passiven Hyperämie der Leber führen könnte.

Jedenfalls ließ sich die oben aufgeworfene Frage nicht durch Heranziehung von Literatur, sondern nur durch Anstellung von Experimenten entscheiden.

<sup>1)</sup> W. H. Gaskell, Journ. of physiol. **3**, 48. 1880—1882.

<sup>2)</sup> Henderson und Loewi, Arch. f. experim. Pathol. **53**, 62. 1905.

<sup>3)</sup> Barkroft, Proc. of the Physiol. soc. 1907. Journ. of physiol. **35**, 29. 1906—1907; **36**, 53 1907—1908.

<sup>4)</sup> Baylis, Proc. of the Physiol. soc. Journ. of physiol. **26**, 33. 1900—1901.

<sup>5)</sup> Roy und Sherrington, Journ. of physiol. **11**, 85. 1890.

<sup>6)</sup> Fr. Lemberger und Schwarz, Arch. f. d. ges. Physiol. **141**, 149.

<sup>7)</sup> C. Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 273.

<sup>8)</sup> Mathison, Journ. of physiol. **41**, 416. 1910; **42**, 283. 1911.

Es kam die Methode der Leberplethysmographie zur Anwendung, wie sie Neubauer angegeben hat, der uns seine Apparatur zur Verfügung stellte und uns mit seiner Erfahrung bereit-

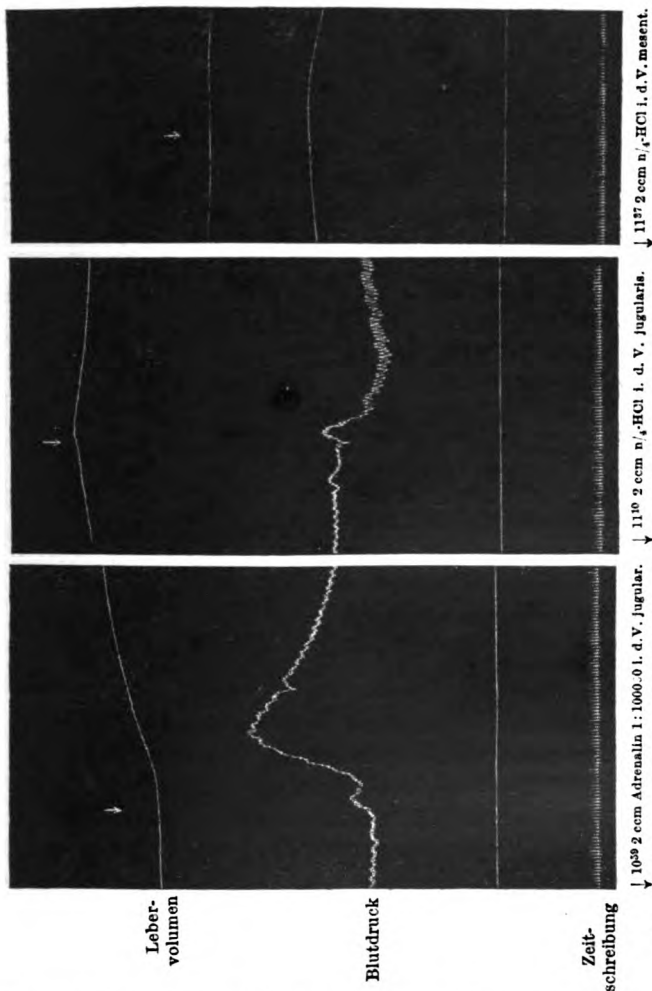


Abb. 1. Wirkung einer Säureinjektion in die Vena jugularis und in die Vena mesenterica auf Blutdruck und Lebervolumen. Zum Vergleich eine Adrenalininjektion. Kaninchen 21. 1900 g. 7. I. 1913. 10<sup>0</sup> 22 cem 10proz. Urethanlösung per os.

willig zur Seite stand. Die Versuche wurden durchwegs an Kaninchen angestellt, die mit Urethan narkotisiert waren. Ein Leberlappen wurde ins Onkometer gelegt und mit Luftübertragung das Lebervolumen gleichzeitig mit dem Blutdruck auf ein Kymographion geschrieben. Nun wurden Säuren, vor allem Salzsäure, in verschiedenen Konzentrationen in die Gefäße injiziert. Um sich von

der zuverlässigen Funktion der Apparatur und der Reaktionsfähigkeit der Leber zu überzeugen, wurde immer wieder zwischen den einzelnen Säureinjektionen eine Adrenalininjektion gemacht, die jedesmal zu der von Neubauer beschriebenen Veränderung in der Leber volumskurve führte. Aber diese Säureinjektionen brachten weder Blutdrucksteigerungen noch Leber volumsveränderungen zustande, gleichviel, in welches Gefäß sie gemacht wurden: in die Arteria carotis, in die Vena jugularis oder in die Mesenterialvene, die doch die Säure in relativ hoher Konzentration in die Leber leiten mußte, so daß man sich nach dem Versuch manchmal sogar makroskopisch von der Säurewirkung in der Leber überzeugen konnte. Im Harn war Zucker, manchmal auch Albumen in geringen Mengen nachzuweisen. Meistens konnte, wie nach der angeführten Literatur auch zu erwarten war, ein Absinken des Blutdruckes beobachtet werden. Von vielen zur Beantwortung dieser Frage angestellten Versuchen sei einer (zur Raumersparnis in kurzen Ausschnitten) hier angeführt (Abb. 1).

Die Säureglykosurie kommt also zum Unterschied von der Adrenalinglykosurie ohne Leberanschoppung zustande.

#### Geht die Adrenalinglykosurie mit einer Acidose<sup>1)</sup> einher?

Seit den Untersuchungen der Hoppe-Seilerschen Schule [Zillessen<sup>2)</sup>, Araki<sup>3)</sup> usw.] wissen wir, daß jede Sauerstoffverarmung des Organismus zu einer Acidose und zu einer Hyperglykämie führt. Wir wissen ferner durch die schönen Arbeiten von Weinland<sup>4)</sup> und Lesser<sup>5)</sup>, um nur einige Autoren zu nennen, daß Kohlenhydrate bei Sauerstoffmangel unter Säurebildung als Energiequellen dienen können.

<sup>1)</sup> Mit dem Wort Acidosis sei hier und in dem Folgenden nichts über die wahre H-Ionenkonzentration gesagt. Vgl. das seinerzeit über diesen Punkt Gesagte (Elias, Säure als Ursache für Nervenerregbarkeit, Ztschr. f. d. ges. exp. Medizin, Bd. VII, Heft 1/2, 1918, S. 3) und die Schlußbemerkung am Ende dieser Arbeit.

<sup>2)</sup> Zillessen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**, 387. Ältere Literatur über Säure und Kohlenhydratstoffwechsel siehe Elias, Säurediabetes I. c. S. 121.

<sup>3)</sup> Araki, Zeitschr. f. physiol. Chemie **15**, 335 u. 546; **19**, 422.

<sup>4)</sup> Weinland, Zeitschr. f. Biol. **42**, 55. 1901.

<sup>5)</sup> E. I. Lesser, Zeitschr. f. Biol. **51**, 487. 1908; **52**, 282, **53**, 533, 1910; Erg. d. Physiol. 1909, Bd. 8, S. 778; **54**, 1; 1910; **56**, 467. Med. Klin. 1912, Nr. 11, S. 445. Zeitschr. f. Biol. mit Grode **60**, 371. 1913; **60**, 388. 1913. Münch. med. Wochenschrift **60**, 341. 1913. Diese Zeitschr. mit Kerner **102**, 284, 1920; **102**, 304. 1920.

Lesser sieht ja geradezu den Sauerstoffdruck in der Zelle als eine Art „Regulator des Zuckerstoffwechsels“ an. Durch seine Untersuchungen kann es heute als feststehend gelten, daß in der Anoxybiose ein ungleich stärkerer Glykogenschwund (wohl zum großen Teil durch Acidose) stattfindet als bei O<sub>2</sub>-Zufuhr. Vgl. auch Edie<sup>1)</sup> und Zuntz<sup>2)</sup>, ferner Bang und Stenström<sup>3)</sup> und Forschbach und Schäfer<sup>4)</sup>.

Morawitz<sup>5)</sup> gibt in seinem Referat über innere Sekretion der Vermutung Ausdruck, daß die durch Muskularbeit entstehende Milchsäure zur Glykogenmobilisierung führt, und Elias<sup>6)</sup> diskutiert die Frage, wie weit die Glykogenmobilisierung durch Säuren überhaupt die physiologische Autoregulation des Blutzuckerniveaus darstellen kann, eine Vermutung, für die später auch Underhill<sup>7)</sup> Anhaltspunkte beigebracht hat.

Wenn demnach die Piqûre- oder Adrenalinglykosurie wirklich so, wie Neubauer angenommen hat, eine Erstickungsglykosurie ist, so konnte man hier auch füglich eine Erstickungacidose erwarten. Neubauer hatte ja selbst beschrieben, daß der sonst alkalische Harn von Kaninchen nach der Piqûre stark sauer reagiert, und hatte Milchsäure in größeren Mengen im Harn und einmal auch Milchsäure (0,75<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) in der Leber nachgewiesen.

Für die vorliegende Fragestellung, ob die Adrenalinglykosurie auf einer Säurewirkung beruhe oder wenigstens durch eine Säurewirkung in ihrer Entstehung unterstützt würde, schien uns zunächst die Menge der entstandenen Säure von Wichtigkeit zu sein. Um uns grob darüber zu informieren, bestimmten wir an urethanisierten Kaninchen nach Adrenalininjektion in verschiedenen Zeitabständen die Säurekapazität des Blutes nach Spiro und Pemsel<sup>8)</sup>. Zu dem Zweck wurde Blut aus der Arteria carotis, aus der Vena jugularis und aus der Vena hepatica entnommen. Die Wirksamkeit des Adrenalins wurde jedesmal durch den Nachweis der Hyperglykämie (Bestimmung des Blut-

<sup>1)</sup> Edie, Biochem. Journ. 1, 455. 1906, zitiert nach Zentralbl. f. Phys. 20. 1906.

<sup>2)</sup> Zuntz, Handb. d. Biochemie v. Oppenheimer 4, 842.

<sup>3)</sup> Bang I. und Th. Stenström, Biochem. Zeitschr. 50, 437. 1913.

<sup>4)</sup> Forschbach und Schäfer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 82, 360. 1918.

<sup>5)</sup> Morawitz, Verhandl. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte. Referat innere Sekretion S. 12.

<sup>6)</sup> H. Elias, l. c.

<sup>7)</sup> Underhill, Journ. of Biol. Chem. 25, 1916, S. 466.

<sup>8)</sup> C. Spiro und Pemsel, Zeitschr. f. physiol. Chemie 26, 233. 1898.

zuckers im Vollblut, Enteiweißung nach Schenk, Titration nach Bertrand) oder der Glykosurie, meistens durch beides, festgestellt.

Als Kontrollen dienten Tiere, die zwar auch Urethan unter den gleichen Verhältnissen erhalten hatten, an denen aber sonst kein Eingriff vorgenommen worden war.

Es sei später je ein Versuch und ein Kontrollversuch ausführlich als Beispiel angeführt, während die Gesamtheit der Versuche gekürzt am übersichtlichsten in zwei Tabellen zur Anschauung gebracht werden sollen.

Diese alte Titrationsmethode ist natürlich kaum imstande, Unterschiede in der Säurecapazität zwischen arteriellem und venösem Blut anzuzeigen. Die drei Titrationsresultate aus je einem Versuch wurden daher zu einem Mittelwert zusammengefaßt, obwohl das Blut an zwei bis drei verschiedenen Stellen entnommen worden war. Stab 6 in Tabelle I auf S. 23 und Stab 10 auf Tabelle II auf S. 24 geben die erhaltenen Werte wieder.

Die Zahlen zeigen deutlich an, daß bald nach der Adrenalininjektion ein Sinken der Säurecapazität des Blutes festzustellen ist und daß diese Herabsetzung des Säurebindungsvermögens des Blutes nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden noch in ziemlich ungeschwächter Intensität andauert.

Was die Intensität der im Blut nachgewiesenen Acidose betrifft (17,3 : 39 im Normaltier), so entspricht sie, soweit man sich überhaupt aus dieser Methode einen Schluß auf die Acidose gestatten darf, ungefähr der Verschiebung in der Säurecapazität wie sie Elias und Kolb nach einer längeren Hungerperiode am Hund gefunden hatten (52 : 112,8) und ist bedeutend höher als die, die nach Elias<sup>1)</sup> genügen, um die periphere Nerven-erregbarkeit zu erhöhen (71,65 : 87,7).

Nachdem wir diese Resultate durch eine zweite Versuchsreihe (s. Einleitung, Fußnote 2) festgestellt hatten und die Veröffentlichung der bereits niedergeschriebenen Arbeit noch unterblieben war, um die Untersuchungen durch eine zweite, bessere Methode, die Gasanalyse des Blutes, zu ergänzen, trafen die in der Kriegs- und Nachkriegszeit ausgebliebenen amerikanischen Journale ein. Aus ihnen war zu entnehmen, daß die Tatsache der Acidose nach Adrenalininjektion, die wir bereits im Jahre 1913

<sup>1)</sup> H. Elias, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 7, H. 1 u. 2 S. 1.

in der Gesellschaft für innere Medizin und Kinderheilkunde in Wien in der Sitzung vom 3. VII. 1913 und in demselben Jahr beim internationalen Ärztekongreß in London, physiologische Sektion, in der Diskussion mitgeteilt hatten, von John P. Peters und H. Racole Geyelin<sup>1)</sup> mittels der exakten Methode der Blutgasanalyse wahrscheinlich ohne Kenntnis unserer Versuche festgestellt worden war, so daß wir uns auch auf diese Versuchsreihe stützen können. Diese Autoren fanden nach Adrenalininjektion eine ausgesprochene Acidose, die ca. eine halbe Stunde nach der Injektion einsetzt, nach ca. 3 Stunden den Höhepunkt erreicht, um nach 6—8 Stunden abzuklingen.

Mit der Feststellung einer passageren Acidose nach der Adrenalininjektion ist auch eine einfache Erklärung für manche im respiratorischen Stoffwechsel gefundene Erscheinung nach Adrenalinzufuhr gegeben. Der Anstieg des respiratorischen Quotienten, den z. B. Hari<sup>2)</sup> Fuchs und Roth<sup>3)</sup> und Bernstein und Falta<sup>4)</sup> nach Adrenalininjektion gefunden hatten (in einzelnen Versuchen über 1!), darf nicht ohne weiteres als Beweis einer stärkeren Kohlenhydratverbrennung verwertet werden, vielmehr wird diese Steigerung des respiratorischen Quotienten zum größten Teile mindestens darauf zurückzuführen sein, daß durch die Acidose CO<sub>2</sub> in der Lunge in höherem Maße abgast werden muß. Die im Respirationsversuch nachgewiesenen größeren CO<sub>2</sub>-

<sup>1)</sup> John P. Peters und H. Racole Geyelin, Journ. of Biolog. Chem. **31**, 471, 1917.

<sup>2)</sup> Hari, diese Zeitschr. **38**, 23. 1911.

<sup>3)</sup> Fuchs und Roth, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **10**, 187. 1912.

<sup>4)</sup> Bernstein und Falta, deutsches Archiv f. Klin. Med. **125**, 233. Falta, Die Erkrankungen der Blutdrüsen 1913, S. 428. (Vgl. auch Bornsteins [diese Zeitschr. **114**, 157, 1921] Einwände gegen Falta's Deutung des respiratorischen Quotienten. Anmerkung während der Korrektur.) Übrigens können auch Bornsteins und Falta's Befunde, daß nach intravenöser Dextroseinfusion eine Steigerung des respiratorischen Quotienten zu beobachten ist, nach den Untersuchungen von I. I. P. Macleod und M. F. Fulk, Amer. Journ. of Physiol. **42**, H. 2, S. 193—213, eine andere Deutung erfahren. Macleod und Fulk haben gefunden, daß intravenöse Dextroseinfusionen die H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration erhöht. Nach diesem Befunde bedeutet auch hier die Steigerung der CO<sub>2</sub>-Ausfuhr vielleicht nur die Eliminierung der CO<sub>2</sub> zur Herstellung der Neutralität im Organismus und kann nicht eine gesteigerte Kohlenhydratverwertung beweisen.



Werte müssen nicht der Ausdruck eines anders geleiteten intermediären Stoffwechsels sein, sondern sind zumindest auch ebenso wie die dabei gleichzeitig beobachtete Überventilation der Ausdruck der H<sup>+</sup>-Ionenregulation im Organismus. Umgekehrt kann beim Sinken der Acidose wieder mehr CO<sub>2</sub> im Organismus Platz finden, und ein zu dieser Zeit angestellter Respirationsversuch würde dadurch, daß relativ weniger CO<sub>2</sub> abgegeben wird, ein Sinken des respiratorischen Quotienten feststellen. Würde man daraus auf die intermediäre Stoffverwertung schließen, so wäre das ebenso unberechtigt. Ein Schluß vom respiratorischen Quotienten auf Veränderung im intermediären Stoffwechsel nach Adrenalininjektion hat von nun an keine Berechtigung mehr (vgl. Elias, Diskussionsbemerkung zu Crämer und Falta, Internat. Ärztekongreß, London 1913, Physiologische Sektion).

#### Über die Natur der nach Adrenalininjektion gebildeten Säure.

Nachdem auf diese Weise die Veränderung der Säurecapazität des Blutes nach Adrenalininjektion im Sinne einer Acidose festgestellt worden war, wurde der Versuch gemacht, die Natur der entstandenen Säure nachzuweisen. Zu dem Zweck wurde an denselben Tieren, an denen die Säurekapazität bestimmt worden war, sofort nach der Blutentnahme die Leber entnommen, nach Schenk unter Sublimat und Salzsäure mit Quarzsand verrieben und dann ca. 6 mal mit dieser Lösung erschöpfend extrahiert. Es erwies sich als zweckmäßig, größere Volumina von Sublimat und Salzsäurelösungen — zusammen ca. 1—1½ l pro 50 g Leber — zu verwenden, weil sonst bei der Fällung des Quecksilbers durch Schwefelwasserstoff leicht kolloidale Niederschläge entstehen, die man dann erst durch neuerliches Hinzugeben von Sublimat und Salzsäure und eine zweite Schwefelwasserstoffdurchleitung entfernen mußte. Im Übrigen wurde nach dem Makroverfahren, wie es Otto Neubauer in dem Handbuch der chemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden beschrieben hat, vorgegangen. Nur benützen wir, als oxydierende Permanganatlösung statt einer  $\frac{n}{100}$ - eine  $\frac{n}{200}$ -Lösung, die uns in den Kontrollbestimmungen die besten Resultate gaben. Die Milchsäure wurde als Zinklactat zuerst dargestellt und gewogen, das Lactat war aber meistens nicht so rein, daß man auf eine Aldehydbestimmung nach Fürth und Charnas hätte verzichten können. Die Identifizierung des milchsauren

Salzes wurde in einzelnen Fällen durch Bestimmung des Wasser- und Zinkgehaltes durchgeführt. Ein Normalversuch und ein Adrenalinversuch seien als Beispiele ausführlich angeführt. Dann folgt eine kurze Zusammenstellung der Normal- und Adrenalinversuche in 2 Übersichtstabellen.

#### Versuch 7.

15. VI. 1920. Kaninchen, 1700 g schwer. 4<sup>h</sup> 30' nachm. 20 g Saccharose in Wasser gelöst, durch die Schlundsonde eingegossen.

16. VI. 2<sup>h</sup> 50' 20 ccm 10proz. Ursethanlösung per os. 5<sup>h</sup> wird das Tier vollkommen narkotisiert aufgebunden, und man entnimmt:

A. 9 ccm Blut aus der Vena jugularis mit einer 10 ccm-Spritze, in der 1 ccm 2proz. Natrium-Oxalatlösung vorgelegt war.

B. 9 ccm Blut aus der Arteria carotis mit denselben Vorsichtsmaßregeln.

C. Die Cava inferior wird mit zwei Peans einerseits vor der Einmündung der Venae hepaticae, andererseits vor der Mündung in den rechten Vorhof abgeklemmt. Nachdem auf diese Weise ein Zuströmen von Blut aus der Vena cava in die Venae hepaticae unmöglich gemacht worden war, wird aus diesen, so wie bei A, mit einer oxalathaltigen Spritze 8,25 ccm Blut entnommen.

D. Die Leber, einzelne Coccidienknoten enthaltend, wird sofort gewogen (63,19 g) und mit Quarzsand unter Sublimat und Salzsäure verrieben.

Aufarbeitung des Versuchs. A. Das gemessene Oxalatblut wird in einem Meßkolben zu 250 ccm überleert, darin mit 20 ccm Ätherwasser hämolysiert und mit gesättigter Ammonsulfatlösung auf 250 ccm aufgefüllt. Nachdem sich der Eiweißniederschlag abgesetzt, werden 200 ccm abfiltriert, die zur Neutralisierung 2,55 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> benötigen; 250 ccm Filtrat gleich 9 ccm Blut entsprechen 3,19  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, d. h. 100 ccm Blut entsprechen 35 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

B. In gleicher Weise verarbeitet, benötigt 2,8 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, d. h. 100 ccm Blut entsprechen 39 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

C. Ebenso verarbeitet. Bei der Titration werden 1,4 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> benötigt, d. h. 100 ccm Blut entsprechen 21 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

D. Die Leber wird erschöpfend unter Sublimat-Salzsäure mit Quarzsand extrahiert, die Extraktionsflüssigkeiten vereinigt betragen 370 ccm, sie werden filtriert, mit SH<sub>2</sub> gefällt, neuerdings filtriert und durch einen durchgeleiteten Luftstrom von dem zurückgebliebenen SH<sub>2</sub> befreit. Es bleiben 299 ccm einer klaren ungefärbten Flüssigkeit, die im Vakuum auf ca. 100 ccm eingengt und im Lindeschen Apparat nach Zusatz von 15 ccm 60proz. Orthophosphorsäure und von Ammonsulfat bis zur Übersättigung durch 40 Stunden mit Äther reinst (pro Narkosi) extrahiert werden. Der ätherische Extrakt wird mit destilliertem Wasser versetzt, dann vom Äther befreit, filtriert, quantitativ mit Aqua dest. auf 200 ccm gebracht, dann mit PbCO<sub>3</sub> durch Bildung der Bleisalze von den Phosphaten usw. gereinigt,

nach Filtration wird das gelöste Bleisalz mit Schwefelwasserstoff gefällt, abfiltriert, aus der Lösung wird der überschüssige Schwefelwasserstoff ausgeblasen und dann mit Zinkcarbonat das Zinksalz gebildet. Die Zinksalzlösung wird auf wenige Kubikzentimeter eingengt, und in den nicht evakuierten Exsiccator zur Krystallisation weggestellt. Das Material wird dann nach Fürth - Charnas in der Modifikation von Embden verarbeitet. Oxydation durch  $\frac{1}{200}$ -KMnO<sub>4</sub>-Lösung. In die eisgekühlte Vorlage 25 ccm Bisulfitlauge mit 200 ccm destilliertem Wasser vorgelegt. Die Titration der Kontrolle, die während des Versuches in demselben Eisgefäß gestanden war, ergibt:

Die Titration des Versuches	73,5 ccm $\frac{1}{10}$ -J-Lösung.
	68,7 ccm $\frac{1}{10}$ -J-Lösung
	<hr/> 4,8 ccm $\frac{1}{10}$ -Bisulfitlauge

wurden durch den Aldehyd verbraucht. Mit dem Faktor 0,0045 multipliziert, ergeben sich 21,6 Milchsäure in der oxydierten Flüssigkeit. Mit Berücksichtigung, daß nur 299 ccm von der ursprünglichen Flüssigkeit (370 ccm) nach Fürth - Charnas bestimmt wurden, ergibt sich ein Milchsäuregehalt von 26,64 mg der ganzen Leber, d. h. von 0,0421%.

#### Versuch 14.

4. V. 1920. Kaninchen, 1600 g schwer, erhält 5<sup>h</sup> 5' 25 g Saccharose per os.

5. V. 1920. 12<sup>h</sup> 24 ccm 10proz. Urethanlösung peroral und 1 mg Adrenalin (Richter) subcutan.

2<sup>h</sup> 30' wird das vollständig narkotisierte Tier aufgebunden. In gleicher Weise wie oben wird entnommen:

A. 9 ccm Blut aus der Vena jugularis.

B. 9 ccm Blut aus der Arteria carotis.

C. 8,6 ccm Blut aus der Vena hepatica.

D. 8,2 ccm Blut aus der Carotis zur Blutzuckerbestimmung.

E. Die Leber (geringe Coccidiose) 57,90 g schwer, wird sofort weiter verarbeitet.

F. 66 ccm Harn zur Harnzuckerbestimmung.

Ausarbeitung: A. Titration nach Spiro und Pemsel wie oben: 100 ccm Blut entsprechen 22,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

B. Titration nach Spiro und Pemsel wie oben: 100 ccm Blut entsprechen 23,5 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

C. Titration nach Spiro und Pemsel wie oben: 100 ccm Blut entsprechen 24,0 ccm  $\frac{1}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

D. Das Blut wird mit Sublimat-Salzsäure gefällt und so auf 150,2 ccm Volumen gebracht. Nach Filtration des Eiweißniederschlages, nach Fällung des Quecksilbers als HgS, nach durchgeführter Filtration und Entfernung des zurückgebliebenen Schwefelwasserstoffs bleiben 112 ccm einer klaren Flüssigkeit, die bei schwach saurer Reaktion eingengt und dann in ein 25 ccm-Kölbehen bis zur Marke aufgefüllt werden. Davon wird 20 ccm zur Bertrandschen Titration verwendet. In den 25 ccm dieser Flüssigkeit

Tabelle I.

Kontrollversuche: Junge Kaninchen, denen tags vorher 25 g Zucker durch Schlundsonde eingeführt worden war.

1 Versuchsnummer	2 Datum 1920	3 Körpergewicht g	4 Urethan 10 proz. Lösung peroral zugeführt ccm	5 Danach bis zur Blutentnahme Zeit verfloßen	6 Säurebindungsvermögen, 100 ccm Blut entsprechen:	7		8 Leber		10 Bemerkungen	
						Gewicht g	absolut in mg	Milchsäuregehalt (n. Fürth-Charinas) in Prozenten			
5	9. IV.	2050	25	1 Stunde	2 Bestimmungen (Carotis, V. hepatica) im Mittel <b>47,0 ccm</b> $\frac{v}{10}$ -NaOH	57,50	18,35		<b>0,032</b>		
6	12. IV.	2040	25	über 2 Stunden	1 Bestimmung (Carotis) im Mittel <b>47,0 ccm</b> $\frac{v}{10}$ -NaOH	71,5	14,52		<b>0,020</b>		
7	15. IV.	1700	20	2 Std. 10 Min.	3 Bestimmungen (Carot., Jugular., V. hepatica) im Mittel <b>32,0 ccm</b> $\frac{v}{10}$ -NaOH	63,2	26,64		<b>0,042</b>	Nur 20 g Zucker per os. In der Leber reichlich Coccidien. Während der Destillation Temperatur einmal auf 58° gestiegen.	
8	19. IV.	2100	25	1 Std. 10 Min.	3 Bestimmungen (Carot., Jugular., V. hepatica) im Mittel <b>30,9 ccm</b> $\frac{v}{10}$ -NaOH	63,0	26,40		<b>0,042</b>		
17	22. II.	2300	27	3 Stunden	3 Bestimmungen (Carot., Jugular., V. hepatica) im Mittel <b>32,0 ccm</b> $\frac{v}{10}$ -NaOH	94,0	51,40		<b>0,054</b>		
Im Durchschnitt:										<b>0,038</b>	

Tabelle II

Adrenalinversuche: Junge Kaninchen, denen tags vorher 25 g Zucker durch Schlundsonde eingeführt worden war.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11	12		13	14	15	16	
									Harn			Blut						Leber
Datum	Körpergewicht	Urethan 10 proz. Lösung peroral zugeführt	Adrenalin subc. (Marke Richter)	Danach bis zur Blutentnahme Zeit verfließen	Menge	Zucker	Stärkebindungsvermögen 100 ccm Blut entsprechen:	Blut-zucker	Gewicht	Milchsäuregeh. (nach Fürth-Charnas)	In Gewichtswichtsprozent	Coccidlose in geringem Maße. Während der Destillation Temperatur vorübergehend auf 62° gesunken. Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Keine Blutentnahme vor dem Versuch.	
1920	g	ccm	mg		ccm	%	g	%	g	g	mg		g	mg				
9	22. IV. 2000	25	1	8 Stunden	80	2,48	1,94	0,28	111,5	116,1	0,108	Coccidlose in geringem Maße. Während der Destillation Temperatur vorübergehend auf 62° gesunken. Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
11	23. IV. 1700	28	1	8 Std. 30 Min.	100	0,65	0,65	0,458	87,5	47,9	0,065	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
13	23. IV. 1800	28	1	2 " 30 "	80	?	?	0,21	82,5	63,5	0,077	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
14	4. V. 1600	24	1	2 " 30 "	66	1,57	1,086	0,51	57,9	51,8	0,090	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
1	5. III. 1900	22	1	8 " 30 "	11	4,5	0,523	—	53,0	186,5	0,300	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
2	10. III. 2000	23	1	8 " 35 "	74	3,16	2,386	—	34,0	59,08	0,063	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.		
16	22. XII. 1900	22	1	55 "	5	1,5	0,076	—	30,0	100,6	0,112	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Coccidlose in geringem Ausmaße.	Keine Blutentnahme vor dem Versuch.	
												Durchschnit:		0,100				

waren 31,31 mg Zucker enthalten, daher in 8,2 ccm Blut 42,1 mg Zucker. Das ist ein Zuckergehalt von 0,51%.

E. Die Extraktionsflüssigkeit erreicht ein Volumen von 1000 ccm, von denen nach der Entfernung des Hg 869 ccm verbleiben, die in der oben angegebenen Weise weiter verarbeitet werden. Nach Umrechnung auf das Volumen ergibt sich eine Milchsäuremenge von 0,0518 g Milchsäure, d. h. 0,090% auf das Lebergewicht berechnet.

Aus diesen Versuchen ergibt sich deutlich, daß nach Adrenalininjektion der Milchsäuregehalt der Leber im Mittel auf das Dreifache, in einzelnen Fällen über das Vierfache des Normalen steigt. Der erhöhte Milchsäuregehalt ist bereits in der ersten Stunde nachzuweisen und dauert mindestens 3 $\frac{1}{2}$  Stunden an. Der Einwand, daß die Blutentnahme durch den Blutverlust zu einer Sauerstoffverarmung der Gewebe und damit zu einer Milchsäureproduktion geführt hatte, besteht nicht zu Recht, da die gleichen Milchsäurewerte dann auch in den Kontrollversuchen hätten erscheinen müssen. Vor allem auch darum, weil in Versuchen, denen keine Blutentnahme vorausgegangen war (vgl. Versuch 16), Milchsäurewerte von gleicher Höhe festgestellt werden konnten.

Der erhöhte Milchsäuregehalt der Leber bei der Adrenalin-glykosurie war damit festgestellt. Vergleichende Milchsäurebestimmungen in dem der Leber zufließenden und aus der Leber abfließenden Blut werden nun erweisen müssen:

1. woher die Milchsäure stammt, ob sie in der Leber entsteht usw.;

2. ob die entstandenen Milchsäuremengen genügen, um die auf andere Weise nachgewiesene Acidose des Blutes zu erklären.

Über die sich ergebenden Resultate wird noch berichtet werden.

### **Der Einfluß von Alkalien auf die Adrenalinwirkung in der Kaltblüterleber.**

Im Vorhergehenden wurde dargelegt, daß die Adrenalin-glykosurie am Kaninchen mit einer Acidose einhergeht<sup>1)</sup>, und daß diese Acidose mindestens zu einem Teil auf die Produktion von Milchsäure zurückzuführen ist. Nun ergab sich von selbst die Frage: Ist diese beim Kaninchen nachgewiesene Acidose ein gleichgültiger Nebenumstand, eine Folge der überhasteten

<sup>1)</sup> Denselben Befund haben wir auch in einem Versuch am Hund erhoben, sowie an mehreren Kaninchen nach Piqûre.

Glykogenmobilisierung, die mit der Entstehung der Glykosurie gar nichts zu tun hat, oder greift sie irgendwie ursächlich in den Entstehungsmechanismus der Glykogenmobilisierung durch Adrenalin ein, ist sie etwa mit der Glykogenmobilisierung durch Adrenalin ebenso ursächlich verknüpft wie die künstliche Acidose beim Säurediabetes mit dem Austritt des Glykogens aus der Leber?<sup>1)</sup> Handelt es sich vielleicht um eine Steigerung der Sympathicuserregbarkeit durch die Acidose, wie sie Chiari und Fröhlich<sup>2)</sup> nach künstlicher Säuerung nachgewiesen haben? Vgl. Kahn (l. c.).

Jedenfalls finden sich für die Annahme einer unterstützenden Wirkung der Säure auf den Adrenalinmechanismus Anhaltspunkte in der Literatur, von denen einige hier angeführt seien.

Kretschmer<sup>3)</sup> konnte durch intravenöse Säureinfusion die Dauer der drucksteigernden Wirkung des Adrenalins beim Kaninchen auf das 5—6fache verlängern und führte diese Wirkung auf die Zurückdrängung der OH-Ionenwirkung durch Zufuhr von sauren Ionen zurück und so auf Hemmung der Adrenalinzerstörung in Blut und Gewebe. Gröer und Matula<sup>4)</sup> haben die vasoconstrictorische Wirkung des Adrenalins in alkalischeren Medien wachsen und bei O<sub>2</sub> Zutritt im weiteren Verlauf des Versuches sinken gesehen und haben die Abnahme der Wirkung auf eine Oxydationsbeschleunigung durch die OH-Ionen zurückgeführt.

Ähnliche Erfahrungen wurden aber auch in bezug auf die glykosurische Wirkung des Adrenalins gemacht. C. Frugoni<sup>5)</sup> konnte durch große Mengen von Alkali das Zustandekommen der Adrenalinglykosurie verhindern und Kleissel<sup>6)</sup> hat gezeigt, daß vor allem solche Menschen auf Adrenalin mit Gly-

<sup>1)</sup> Für eine solche Annahme könnte vielleicht der Umstand sprechen, daß sowohl die Adrenalinhyperglykämie (Falta und Priestley l. c.), wie die Säurehyperglykämie (Elias und Schubert, diese Zeitschr. 90, Heft 3 u. 4, S. 229) auf Kosten des Leberglykogens und allem Anschein nach gar nicht auf Kosten des Muskelglykogens entsteht.

<sup>2)</sup> R. Chiari und A. Fröhlich, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. 64, 214. 1911.

<sup>3)</sup> Kretschmer, Arch. f. experim. Pathol. u. Ther. 57, 438. 1907.

<sup>4)</sup> Gröer und Matula, diese Zeitschr. 102, 13. 1920.

<sup>5)</sup> C. Frugoni, Berl. klin. Wochenschr. 45, 1606. 1908.

<sup>6)</sup> Kleissel, Wien. med. Wochenschr. 1912, Nr. 7, S. 455.

kosurie reagieren, die eine geringere, titrierbare Alkalinität im Blute aufweisen. Underhill<sup>1)</sup> konnte die Adrenalinhyperglykämie durch Alkali hemmen. Fröhlich und Pollak<sup>2)</sup> teilen in einer langen und reichhaltigen Versuchsreihe „Über die Zuckermobilisierung in der überlebenden Kaltblüterleber“ zwei Durchspülungsversuche mit saurer Adrenalin-Ringerlösung und einen mit alkalisierter Adrenalin-Ringerlösung mit. Säure hat die zuckertreibende Wirkung des Adrenalins gesteigert, Alkali zwar nicht aufgehoben, aber gehemmt.

Nach diesen Angaben schien es also ziemlich sicher, daß die glykogenmobilisierende Wirkung des Adrenalins bei Warm- und Kaltblütern durch Alkali gehemmt, durch Säure gefördert wird. Die beim Warmblüter durch die Adrenalininjektion selbst hervorgerufene Acidose müßte danach ein wesentlich unterstützender Faktor bei der Entstehung der Adrenalinhyperglykämie sein<sup>3)</sup>. Beim Kaltblüter wäre erst durch eigens dazu angestellte Versuche festzustellen, ob das Adrenalin hier nicht auch ohne Gefäßwirkung zu einer Milchsäureproduktion und zu einer Acidose führt.

Diesen Fragen nach den Beziehungen zwischen Säure resp. Alkali und der glykogenmobilisierenden Wirkung des Adrenalins suchten wir durch einige weitere Versuche näher zu kommen. Wir untersuchten diese Verhältnisse an der Kaltblüterleber, die auf Adrenalin keine Volumschwankungen zeigt. Die aus solchen Beobachtungen abgeleiteten Regeln würden wohl auch für den Warmblüter Geltung haben, während Schlüsse vom Warmblüter auf den Kaltblüter mit Rücksicht auf die Verschiedenheit ihrer Lebergefäßreaktion auf Adrenalin kaum berechtigt wären.

Pollak und Fröhlich hatten gezeigt, daß bei der Durchspülung von Froschlebern mit Kaltblüter-Ringerlösung zuerst in der Durchspülungsflüssigkeit Zucker erscheint, daß dieser Zucker aber dann bei Fortsetzung der Durchspülung wieder abnimmt und schließlich aus der Durchspülungsflüssigkeit vollkommen verschwindet. Setzt man aber dann zuckertreibende

---

<sup>1)</sup> Underhill, Journ. of Biolog. Chem. 1917; **25**, 463. 1916.

<sup>2)</sup> Pollak und Fröhlich, Zentralbl. f. Physiol. **26**, Nr. 26. 1913; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **77**, 265. 1914.

<sup>3)</sup> Ob diese Acidose genügt, um die Glykogenmobilisierung durch Säuerung allein zu erklären, müßten erst vergleichende quantitative Untersuchungen im Blut lehren.



Agentien, wie etwa Adrenalin, der Ringerlösung zu, so erscheint neuerdings Zucker in der abfließenden Flüssigkeit. In ähnlicher Weise hat Masing<sup>1)</sup> mutatis mutandis in der Warmblüterleber den Kohlenhydratstoffwechsel studiert<sup>2)</sup>.

Wir haben als Versuchstiere nicht Frösche, sondern Schildkröten gewählt, deren Lebern nach der oft verwendeten, zuerst von Grube angegebenen Methode durchspült wurden. Die Vorteile der Leberdurchspülung am Kaltblüter wurde bereits durch Grube, zuletzt von Pollak und Fröhlich genügend gewürdigt. Bei unserer Versuchsanordnung schien uns besonders der Umstand vorteilhaft, daß wir von der Schildkrötenleber größere Zuckermengen in der Zeiteinheit erwarten konnten, als bei der Froschleber, so daß wir Mikromethoden vermeiden konnten.

Die durch die Leber durchgeflossene Ringerlösung<sup>3)</sup> wurde, nachdem sie erst einmal klar durchgelaufen war, aufgefangen, in Abständen von einigen Minuten zu je einer Portion vereinigt, gemessen, und sofort nach Beendigung des Versuches einer jodometrischen Zuckeranalyse (Lehmann - Maquenne) unterzogen. Diese Lösungen waren meist spiegelblank und konnten direkt zur Titration verwendet werden. Waren durch irgendeine Bewegung doch wieder Blutkörperchen aus der verschobenen Schildkrötenleber ausgeschwemmt worden, so genügte ein kurzes Zentrifugieren, um wieder eine wasserhelle Flüssigkeit zu erhalten, die keine Eiweißreaktion mehr gab.

In manchen Versuchen erwies es sich als nötig, zum Schluß eine Glykogenbestimmung in der durchspülten Leber durchzuführen, um sich zu überzeugen, daß man den Versuch nicht an

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

<sup>2)</sup> Durchspülungen der überlebenden Leber sind schon in großer Zahl durchgeführt worden, wahrscheinlich die erste von Luxinger: Experimentelle und kritische Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Glykogens. Inaug.-Diss. Zürich 1875. Zitiert nach Barrenscheen. Von den übrigen Autoren seien nur einige genannt: F. Kraus, Arch. f. d. ges. Physiol. **98**, 452. — Grube, Journ. of Physiol. **29**, 276. — Pflügers Arch. **126**, 585; **139**, 428. Zahlreiche Arbeiten von Embden und seiner Schule, z. B. „Über Zuckerbildung bei künstlicher Durchblutung der praktisch glykogenfreien Leber“. Hofmeisters Beiträge **6**, 44. 1905, H. Barrenscheen, diese Zeitschr. **58**, 277. 1914. Dasselbe Literatur.

<sup>3)</sup> Ringerlösung hielten wir als „konzentrierte Ringerlösung“ derart vorrätig, daß 900 ccm dieser Lösung nach Zusatz von 100 ccm aqu. dest. 1 l gebrauchsfertige Kaltblüter-Ringerlösung darstellt.

einer glykogenfreien Leber, also an einem untauglichen Objekt angesetzt habe. Das Glykogen wurde zunächst nach Pflüger quantitativ dargestellt, dann durch Hydrolyse verzuckert, und der Zucker nach Lehmann oder nach Bertrand bestimmt.

### Kontrollversuche<sup>1)</sup>.

Zunächst mußte man sich in Normalversuchen von dem zeitlichen Ablauf einer solchen Zuckerausschwemmungskurve, wie sie sich bei der Durchspülung einer Schildkrötenleber mit Ringerlösung ergibt, ein Bild machen. Es seien einige solche Normalversuche mit ihren graphischen Darstellungen hier angeführt (Versuch 1 u. 3).

#### Versuch 1. Normaldurchspülung.

Schildkröte (385 g), Leber 137 g (Glykogen = 0,92%).

27. XI. 1913.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker	
	Dauer Min.	Art der Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Minute ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg
4 <sup>h</sup> 35'—4 <sup>h</sup> 45'	10	A	88	8,8	6,42	0,047
4 <sup>h</sup> 45'—5 <sup>h</sup>	15	A	121	8,0	18,09	0,078
5 <sup>h</sup> —5 <sup>h</sup> 10'	10	A	81	8,1	7,53	0,054
5 <sup>h</sup> 10'—5 <sup>h</sup> 25'	15	A	112	7,4	10,74	0,052
5 <sup>h</sup> 25'—5 <sup>h</sup> 35'	10	A	76	7,6	0,00?	0,00?
5 <sup>h</sup> 35'—5 <sup>h</sup> 45'	10	A	72	7,2	2,28	0,016
5 <sup>h</sup> 45'—5 <sup>h</sup> 55'	10	A	75	7,5	3,92	0,029
5 <sup>h</sup> 55'—6 <sup>h</sup> 05'	10	A	76	7,6	2,89	0,021
6 <sup>h</sup> 05'—6 <sup>h</sup> 15'	10	A	77	7,7	3,85	0,028
6 <sup>h</sup> 15'—6 <sup>h</sup> 25'	10	A	73	7,3	2,70	0,019
6 <sup>h</sup> 25'—6 <sup>h</sup> 35'	10	A	70	7,0	1,29	0,009

Durchspülungsflüssigkeit A = 2700 <sup>10</sup>‰, Kaltblüter-Ringerlösung, 200 Aqua destillata, 100 phys. NaCl-Lösung.

Aus diesen beiden Normalversuchen ist zu entnehmen, daß die ausgeschwemmten Zuckermengen pro Minute und Gramm Leber berechnet im allgemeinen im Laufe des Versuches abnehmen, und nur am Anfang einen kleinen Anstieg zeigen. Man kann annehmen, daß dieser Anstieg, der wohl auf die glykogenverzuckernde Wirkung der Manipulationen während der

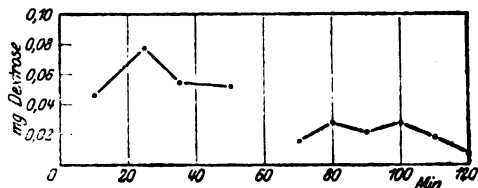


Abb. 2. Graphische Darstellung: Versuch 1. Normaldurchspülung.

<sup>1)</sup> Bei der Durchführung dieser Versuche waren uns die Herren Dr. Weigel und Dr. Glaß behilflich, denen an dieser Stelle zu danken, uns eine angenehme Pflicht ist.

## Versuch 3. Normaldurchspülung.

Schildkröte (330 g), Leber 8 g (Glykogen = 0,343%).

16. XII. 1913.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker	
	Dauer Min.	Art d. Durch- spülungs- flüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg
9 <sup>h</sup> 35'— 9 <sup>h</sup> 45'	10	A	68	6,8	1,2	0,015
9 <sup>h</sup> 45'— 9 <sup>h</sup> 55'	10	A	64,5	6,45	1,04	0,024
9 <sup>h</sup> 55'—10 <sup>h</sup> 05'	10	A	62	6,2	1,61	0,02
10 <sup>h</sup> 05'—10 <sup>h</sup> 15'	10	A	52	5,2	1,31	0,016
10 <sup>h</sup> 15'—10 <sup>h</sup> 25'	10	A	53	5,3	1,17	0,015
10 <sup>h</sup> 25'—10 <sup>h</sup> 35'	10	A	52	5,2	1,04	0,013
10 <sup>h</sup> 35'—10 <sup>h</sup> 45'	10	A	49	4,9	nicht bestimmbar	0
10 <sup>h</sup> 45'—10 <sup>h</sup> 55'	10	A	46	4,6	" "	0
10 <sup>h</sup> 55'—11 <sup>h</sup> 05'	10	A	44	4,4	" "	0
11 <sup>h</sup> 05'—11 <sup>h</sup> 15'	10	A	44	4,4	" "	0
11 <sup>h</sup> 15'—11 <sup>h</sup> 25'	10	A	43,5	4,35	" "	0
11 <sup>h</sup> 25'— 1 <sup>h</sup>	95	A	344,0	3,6	5,424	0,007

Durchspülungsflüssigkeit A = s. Versuch 1.

Entnahme des Organs und des Einbindens der Kanülen zurückzuführen ist, nach dem Ablauf der ersten halben Stunde bereits den Höhepunkt überschritten hat, weil um diese Zeit alles, was an Glykogen verzuckert worden war, bereits ausgeschwemmt ist, und daß von diesem Zeitpunkt an von kleineren Schwankungen abgesehen, die Zuckerkurve gleichmäßig absinkt. In den späteren Versuchen haben wir daher immer nach dem Einbinden der Kanülen mindestens eine halbe Stunde verfließen lassen, bevor der eigentliche Versuch begann, und die durchgeleitete Flüssigkeit zur Analyse aufgefangen wurde. Abgesehen davon, daß nach

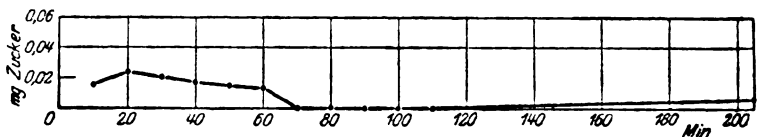


Abb. 3. Graphische Darstellung: Versuch 3. Normaldurchspülung.

dieser Zeit die aufgefangene Durchspülungsflüssigkeit stets klar war, konnte man dann auf dem absteigenden Ast der Zuckerausschwemmungskurve mit Sicherheit jeden Anstieg derselben für den Ausdruck eines zuckertreibenden Faktors ansehen.

Denn auf zuckerfreie Abflüssigkeiten, wie sie Fröhlich und Pollak am Frosch gefunden hatten, konnten wir uns, wie sich sehr bald zeigte, bei Schildkröten keine Hoffnung machen. Versuch 3 zeigt zwar einen solchen Normalversuch, bei dem in einigen Perioden (10 Uhr 35 bis 11 Uhr 25) keine bestimmbar

Zuckermengen auf die oben angegebene Art nachweisbar waren. Als wir aber dann die letzte Periode besonders lang ausdehnten, und die in dieser Zeit erhaltene große Quantität von Durchspülungsflüssigkeit schwach angesäuert einengten, ließen sich doch kleine Zuckermengen nachweisen<sup>1)</sup>. Sonst waren aber die Ablaufflüssigkeiten immer deutlich zuckerhaltig, und zwar, wie zu erwarten war, um so zuckerhaltiger, je größer der Glykogengehalt der Leber war. Vergleiche die hohen Zuckerwerte bei Versuch 1, bei denen die Leber fast 3 mal soviel Glykogen aufwies, wie in Versuch 3.

Nachdem wir uns über den Ablauf der Zuckerausschwemmung aus der Schildkrötenleber bei der Durchspülung mit Ringerlösung informiert hatten, erschien es notwendig, einige Kontrollversuche mit Adrenalinzusatz zur Durchspülungsflüssigkeit zu machen, erstens, um die geeignete Dosierung des Adrenalins für die Versuche kennen zu lernen, und zweitens, um einen Vergleich für die späteren Versuche zu haben. Es sei gleich der erste dieser Adrenalinversuche und im Anschluß daran seine graphische Darstellung hier angeführt.

## Versuch 2.

Durchspülung mit steigenden Adrenalinmengen.  
Schildkröte (255 g), Leber 7 g (Glykogen = 0,936%). 3. XII. 1913.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer Min.	Art d. Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg	Durchschnittswert in mg
5 <sup>h</sup> 30'—5 <sup>h</sup> 45'	15	A	18	1,2	0,034	0,019	} 0,68
5 <sup>h</sup> 45'—6 <sup>h</sup>	15	A	11	0,73	12,24	0,116	
6 <sup>h</sup> —6 <sup>h</sup> 15'	15	B	4,5	0,3	5,59	0,053	} 0,0467
6 <sup>h</sup> 15'—6 <sup>h</sup> 30'	15	B	4,5	0,3	5,14	0,049	
6 <sup>h</sup> 30'—6 <sup>h</sup> 50'	20	B	5,5	0,27	5,63	0,040	} 0,176
6 <sup>h</sup> 50'—7 <sup>h</sup> 10'	20	B'	121,5	6,1	31,20	0,222	
7 <sup>h</sup> 10'—7 <sup>h</sup> 20'	10	B'	58,5	5,85	7,54	0,107	} 0,0814
7 <sup>h</sup> 20'—7 <sup>h</sup> 25'	5	B'	33,0	6,6	4,38	0,125	
7 <sup>h</sup> 25'—7 <sup>h</sup> 35'	10	A	53,0	5,3	2,17	0,031	} 0,0814
7 <sup>h</sup> 35'—7 <sup>h</sup> 45'	10	A	59,0	5,9	6,08	0,087	
7 <sup>h</sup> 45'—7 <sup>h</sup> 55'	10	A	52,0	5,2	1,92	0,027	
7 <sup>h</sup> 55'—8 <sup>h</sup> 05'	10	A	60,0	6,0	2,28	0,032	

Durchspülungsflüssigkeit A = Ringerlösung (s. Versuch 1); B = 900 ccm conc. Ringerlösung + 100 H<sub>2</sub>O + 1 ccm Adrenalin; B' = idem, nur 3 ccm Adrenalin statt 1 ccm Adrenalin.

Versuch 2 zeigt uns, daß eine Adrenalin-Ringerlösung von 1 : 1 000 000 nicht imstande ist, den nach einer halben Stunde

<sup>1)</sup> Ähnliche Erfahrungen hat übrigens auch Lesser an der Froschleber gemacht. Diese Zeitschr. 102, 303. 1920.

eingetretenen Abstieg der aus der Leber ausgeschwemmten Zuckermengen zu hemmen, oder gar in einen Anstieg umzuwandeln, während eine Adrenalin-Konzentration von 3 : 1 000 000 den Mittelwert des ausgeschwemmten Zuckers auf mehr als das 4fache ansteigen läßt. In der Nachperiode, in der, so wie in der Vorperiode einfache Ringerlösung durchgeleitet worden war, sinkt im Mittel die ausgeschiedene Zuckermenge unter den niedrigsten in diesem Versuch erhaltenen Wert. Gleichzeitig zeigt dieser, wie alle später angestellten analogen Versuche, daß an der Schildkrötenleber, in gleicher Weise wie es Fröhlich und Pollak für die Froschleber

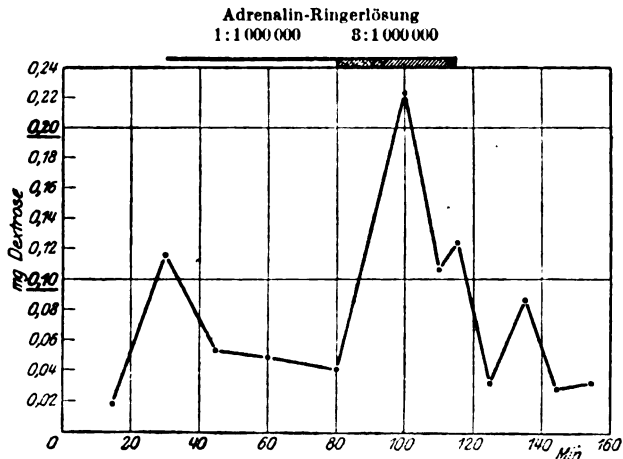


Abb. 4. Graphische Darstellung: Versuch 2. Durchspülung mit steigenden Adrenalinmengen. Ausgespülte Dextrose pro Minute und g Leber in mg.

nachgewiesen haben, auch relativ starke Adrenalinlösungen keine Konstriktion der Portalgefäße hervorrufen. Die Durchflußmengen pro Minute nehmen nicht ab, im Gegenteil, meistens hat man den Eindruck (s. auch Versuch 4), als ob die Adrenalinlösung zu einer besseren Durchströmung führt (vgl. Bauer und Fröhlich<sup>1</sup>).

Auch in späteren Versuchen konnten wir stets mit einer Adrenalin-Ringerlösung von 3 : 1 000 000 einen gleichen Effekt erzielen, ein frisches Adrenalinpräparat vorausgesetzt. Es seien noch 2 andere Versuche gleicher Art mit ihren graphischen Darstellungen angeführt (Versuch 4 und 6). In beiden Versuchen ist die stärkere Zuckerausschwemmung auf die Adrenalinzucker-

<sup>1</sup>) Bauer und Fröhlich, Arch. f. experim. Pharmakol. u. Pathol. 84, 33. 1918.

lösung deutlich ersichtlich. Wenn in Versuch 6 die Zuckeraus- schwemmung nur relativ kurze Zeit dauert, die graphische Dar- stellung nur eine schmale Zacke zeigt, so dürfte das auf die Gly- kogenarmut der Leber zurückzuführen sein. Leider ist gerade die Glykogenbestimmung in dieser Leber mißlungen.

Wir können aus diesen Versuchen entnehmen, daß die Durch- leitung einer Adrenalin-Ringerlösung von der Konzentration von

**Versuch 4. Durchspülung mit Adrenalin.**

Schildkröte (370 g), Leber 7 g (Glykogen = 2,18%). 20. XII. 1913.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer Min.	Art d. Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg	Durchschnittswert in mg
3h 40'—3h 50'	10	A	30	3,0	4,32	0,062	} 0,056
3h 50'—4h	10	A	28	2,8	1,12	0,016	
4h —4h 10'	10	A	26	2,6	5,0	0,071	
4h 10'—4h 20'	10	A	24	2,4	4,08	0,058	
4h 20'—4h 50'	30	A	74	2,5	13,24	0,063	} 0,17
4h 52'—5h 02'	10	B	69	6,9	9,97	0,142	
5h 02'—5h 12'	10	B	68	6,8	12,2	0,174	
5h 12'—5h 22'	10	B	62	6,2	14,6	0,209	
5h 22'—5h 32'	10	B	62	6,2	12,77	0,182	} 0,054
5h 32'—5h 42'	10	B	60	6,0	12,0	0,171	
5h 42'—5h 52'	10	A	30	3,0	5,5	0,079	
5h 52'—6h 02'	10	A	28	2,8	2,9	0,041	
6h 02'—6h 12'	10	A	28	2,8	3,9	0,056	} 0,054
5h 12'—6h 22'	10	A	26	2,6	4,0	0,057	
6h 22'—6h 42'	20	A	30	1,5	6,0	0,043	
6h 42'—6h 57'	15	A	26	1,73	6,0	0,057	

Durchspülungsflüssigkeit A = s. Versuch 1, B, = s. Versuch 2.

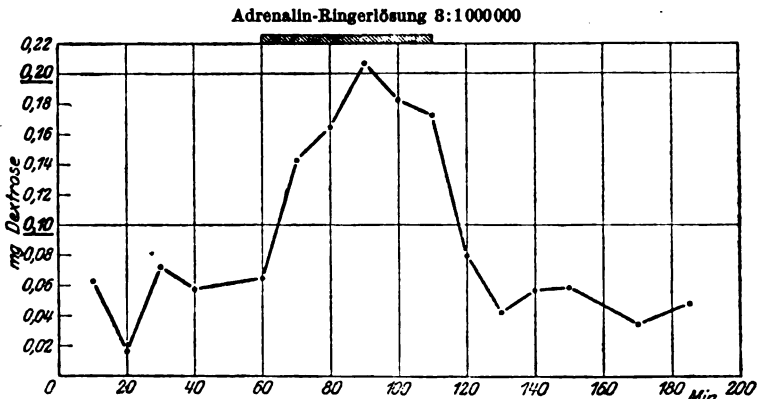


Abb. 5. Graphische Darstellung: Versuch 4. Durchspülung mit Adrenalin. Pro Minute und g Leber ausgespülte Dextrose in mg.

## Versuch 6. Adrenalindurchspülung.

Schilddrüse (300 g), Leber 7,2 g.

31. I. 1914.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer	Art d. Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg	Durchschnittswert in mg
	Min.						
9 <sup>h</sup> 10'—9 <sup>h</sup> 20'	10	A	60	6,0	1,95	0,027	} 0,049
9 <sup>h</sup> 20'—9 <sup>h</sup> 30'	10	A	30	3,0	2,46	0,034	
9 <sup>h</sup> 30'—9 <sup>h</sup> 40'	10	A	24	2,4	5,95	0,083	
9 <sup>h</sup> 40'—9 <sup>h</sup> 50'	10	A	19	1,9	3,61	0,050	
9 <sup>h</sup> 51'—10 <sup>h</sup> 01'	10	B	81	8,1	13,66	0,176	} 0,089
10 <sup>h</sup> 01'—10 <sup>h</sup> 11'	10	B	83	8,3	5,16	0,072	
10 <sup>h</sup> 11'—10 <sup>h</sup> 21'	10	B	73	7,3	5,00	0,069	
10 <sup>h</sup> 21'—10 <sup>h</sup> 31'	10	B	68	6,8	4,56	0,063	
10 <sup>h</sup> 31'—10 <sup>h</sup> 42'	11	B	57	5,7	4,16	0,053	} 0,05
10 <sup>h</sup> 44'—10 <sup>h</sup> 54'	10	A	24	2,4	6,79	0,094	
10 <sup>h</sup> 54'—11 <sup>h</sup> 04'	10	A	33	3,3	3,75	0,052	
11 <sup>h</sup> 04'—11 <sup>h</sup> 24'	20	A	63	3,15	4,9	0,034	

Durchspülungsflüssigkeit A = s. Versuch 1. B, = s. Versuch 2 + 3 ccm Adrenalin.

Adrenalin-Ringerlösung 8:1000000

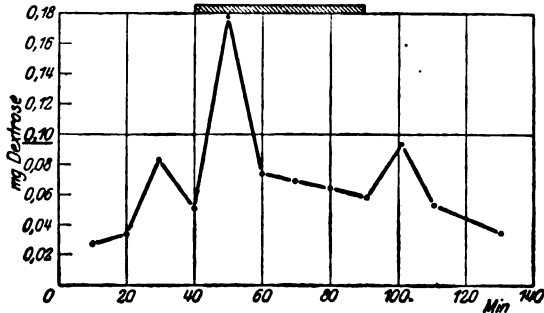


Abb. 6. Graphische Darstellung: Versuch 6. Durchspülung mit Adrenalin. Pro Minute und g Leber ausgespülte Dextrose in mg.

3:1000000 durch eine früher mit Ringerlösung durchspülte Schilddrüsenleber die Zuckerausschwemmung im Mittel auf das zwei- bis dreifache, in einzelnen Perioden auf das fünf- und mehrfache des früheren Wertes steigert. Diese Steigerung kann verschieden lange dauern, überdauert aber die Periode der Adrenalindurchleitung nur um ein wenig.

#### Adrenalindurchspülungen der Schilddrüsenleber bei Alkalizusatz.

Vor Beginn dieser Versuche waren wir uns schon darüber klar, daß das von uns erwartete Resultat, die Herabsetzung der zuckertreibenden Wirkung des Adrenalins durch Alkali, vor allem die Deutung erfahren könnte, daß das alkaliempfindliche Adrenalin im alkalischen Medium

vollständig oder zum Teil zerstört worden wäre, obwohl Embden und Fürth nach der Durchblutung einer Hundeleber eine Zerstörung der durchgeleiteten Adrenalins nicht nachweisen konnten. (Vgl. dagegen Athanasiu und Longlois.) So hat z. B. auch Kleissel die geringere Adrenalinempfindlichkeit mancher Menschen mit einer höheren Säurecapazität des Blutes erklärt. Über die Zerstörung des Adrenalins vgl. Athanasiu und Langlois<sup>3)</sup>, Embden und v. Fürth<sup>1)</sup>, Kretschmer<sup>4)</sup>, Ritzmann<sup>5)</sup> und Trendelenburg<sup>2)</sup>. Um die Berechtigung dieses Einwandes zu prüfen, fingen wir die alkalisierte, aus der Leber eben abgelaufene Adrenalin-Ringerlösung in einer Säurelösung bekannter Konzentration unter Schütteln so auf, daß der gesammelten Lösung gerade etwas weniger Säure als früher Alkali zugefügt war. Nachdem wir von dieser also eher etwas alkalischen Abflüssigkeit genug gesammelt hatten, wurde ein Teil zur Analyse verwendet, das übrige nochmals durch die Leber durchgeleitet. Ein besonders großer Adrenalinverlust war ja durch die erste Leberdurchspülung wohl nicht zu erwarten, nachdem Falta und Priestley (l. c.) nachgewiesen hatten, daß Lebergewebe besonders wenig Adrenalin zurückhält. Nach der zweiten Durchleitung wurde ebenfalls der Zuckergehalt der Flüssigkeit bestimmt, die Differenz zwischen den beiden Analysen ergab durch eine einfache Rechnung, die während der zweiten Durchspülung ausgeschwemmte Zuckermenge. War diese größer als bei der Durchspülung mit der alkalischen Adrenalinlösung, so war damit der Beweis erbracht, daß nicht das Adrenalin zerstört, sondern nur in seiner Wirksamkeit durch das Alkali gehemmt sein konnte, da es nach Neutralisation des Alkalis an derselben Leber noch seine zuckertreibende Wirkung bewiesen hatte.

Zur Alkalisierung wurden 25 ccm einer  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{6}$ - oder  $\frac{1}{4}$ -NaOH auf 1000 ccm mit Ringerlösung aufgefüllt (entspricht einer  $\frac{1}{160}$ - resp.  $\frac{1}{240}$ - resp.  $\frac{1}{400}$ -NaOH-Lösung).

Bei dem guten Puffergemisch, wie es die Ringerlösung darstellt, war durch die gewöhnlichen Farbenindikatoren eine Änderung der Reaktion nicht nachzuweisen. Freilich sei gleich hier vorausgeschickt, daß die alkalische Adrenalin-Ringerlösung beim Stehen einen deutlich rötlichen Stich zeigte, der sich nach der Durchleitung durch die Leber noch verstärkte. Es seien mehrere solcher Versuche hier angeführt.

<sup>1)</sup> G. Embden und O. v. Fürth, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 425. 1904. Ausführliche Literatur über diesen Gegenstand siehe Biedl, 3. Aufl. Bd. II, S. 23. 1916.

<sup>2)</sup> Trendelenburg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **63**, 161. 1910.

<sup>3)</sup> Athanasiu et Longlois, Compt. rend. **49**, 575. 1897.

<sup>4)</sup> Kretschmer, Arch. f. experim. Pathol. u. Ther. **57**, 438. 1907.

<sup>5)</sup> H. Ritzmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **61**, 231. 1909.



### Versuch 5. Durchspülung mit Adrenalin in alkalischer und neutralisierter Lösung.

Schildkröte (300 g), Leber 14 g (Glycogen = 0,813%).

5. I. 1914.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer Min.	Art d. Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg	Durchschnittswert in mg
4 <sup>h</sup> 15'—4 <sup>h</sup> 45'	30	A	124	4,13	22,28	0,053	0,053
4 <sup>h</sup> 46'—4 <sup>h</sup> 52'	6	C NB.	36	6,00	10,98	0,13	
4 <sup>h</sup> 52'—5 <sup>h</sup> 12'	20	C NB.	100	5,00	28,30	0,053	0,064
5 <sup>h</sup> 12'—5 <sup>h</sup> 30'	18	C NB. neutralisiert	100	5,5			
5 <sup>h</sup> 30'—5 <sup>h</sup> 32'	2	D	69	34,5	14,94	0,53	0,34
5 <sup>h</sup> 32'—5 <sup>h</sup> 40'	8	D	35	4,4	32,76	0,29	

Durchspülungsflüssigkeit A = Ringerlösung (s. Versuch 1). C = 900 ccm conc. Ringerlösung + 6 ccm Adrenalin + 25 ccm  $\frac{1}{4}$ -NaOH ad 1000 ccm. NB. aufgefangen in  $\frac{1}{4}$ -HCl. — Bei Durchführung der Durchspülungsflüssigkeit C setzt ein mächtiger Anstieg der Abflußmenge und eine starke Hämoglobinisierung ein. D = C, durch berechnete  $\frac{1}{6}$ -HCl neutralisiert. 5<sup>h</sup> 40' sistiert der Abfluß von selbst.

Diese Versuche zeigen alle in gleicher Weise und in Übereinstimmung mit dem einen von Pollak und Fröhlich angestellten

Adrenalin-Ringerlösung 6:1000000  
alkalisiert neutral

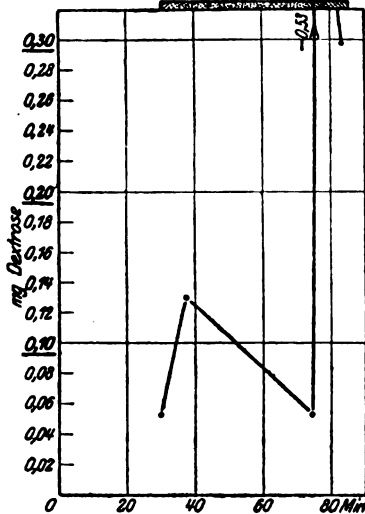


Abb. 7. Graphische Darstellung: Versuch 5. Durchspülung mit Adrenalin in alkalischer und neutralisierter Ringerlösung. Pro Minute und g Leber ausgespülte Dextrose in mg.

Versuch, daß die angewendete Menge von Alkali (Fröhlich und Pollak verwendeten  $\frac{1}{1000}$ -Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) genügt, um die Adrenalinwirkung zu hemmen. Bei Zusatz der angegebenen Menge von  $\frac{1}{4}$ -NaOH zur Ringerlösung ist von einer Adrenalinwirkung sogar überhaupt nichts zu bemerken. Nach Zusatz von  $\frac{1}{6}$ -NaOH ist zwar ein kleiner Anstieg zu verzeichnen, der aber durch den Anstieg nach der zweiten Durchleitung, also nach Neutralisierung des Alkalis um das Vielfache übertroffen wird. Bei Versuch 8 hat sogar der Zusatz von  $\frac{1}{10}$ -NaOH genügt, um die Adrenalinwirkung vollkommen zu unterdrücken.

### Versuch 7. Durchspülung mit Adrenalin in alkalischer und neutralisierter Lösung.

Schildkröte (300 g), Leber 9 g.

4. II. 1914.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer Min.	Art d. Durchspülungsflüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. pro g Leber mg	Durchschnittswert in mg
4 <sup>h</sup> 50'—5 <sup>h</sup>	10	A	64	6,4	4,4	0,049	} 0,029
5 <sup>h</sup> —5 <sup>h</sup> 10'	10	A	61	6,1	3,2	0,036	
5 <sup>h</sup> 10'—5 <sup>h</sup> 20'	10	A	58	5,8	0,45	0,005	
5 <sup>h</sup> 20'—5 <sup>h</sup> 31'	11	A	60	5,45	2,52	0,025	
5 <sup>h</sup> 32'—5 <sup>h</sup> 50'	18	C	100	5,5	5,0	0,031	} 0,027
5 <sup>h</sup> 50'—6 <sup>h</sup> 12'	22	C	110	5,0	1,8	0,009	
6 <sup>h</sup> 12'—6 <sup>h</sup> 40'	28	C	100	3,6	9,5	0,038	
6 <sup>h</sup> 45'—6 <sup>h</sup> 50'	5	neutralisiert. D	20	4,0	5,3	0,118	

Durchspülungsflüssigkeit A = Ringerlösung (s. Versuch 1). C = 900 ccm conc. Ringerlösung + 6 ccm Adrenalin + 25 ccm  $\frac{1}{6}\%$  NaOH ad 1000 ccm. D = C, durch die berechnete Menge  $\frac{1}{6}\%$  HCl neutralisiert. 5<sup>h</sup> 32'—5<sup>h</sup> 50', 5<sup>h</sup> 50'—6<sup>h</sup> 12', 6<sup>h</sup> 12'—6<sup>h</sup> 40' in  $\frac{1}{6}\%$  HCl aufgefangen. Der Abfluß der neutralisierten Lösung sistiert nach 5 Minuten.

Es kann also als sicher gelten, daß eine minimale Menge Alkali genügt, um die zuckertreibende Wirkung des Adrenalins an der Schildkrötenleber zu hemmen, ohne daß das Adrenalin entsprechend zerstört worden wäre.

Freilich könnte man sich diesen Vorgang auch so vorstellen, daß das Alkali das Glykogen vielleicht nicht vor der Mobilisierung sondern bloß vor dem Zerfall geschützt hätte, und daß das in der Alkaliperiode

zwar mobilisierte, aber nicht zerfallene Glykogen [vgl. Lesser<sup>1)</sup>] das Minus an Zucker während dieser Versuchsperiode und durch Zerfall während der darauffolgenden Periode das Plus an Zucker der neutralisierten Flüssigkeit erklären könnte. Um die Berechtigung einer solchen Anschauung zu beweisen, müßte man in der alkali-

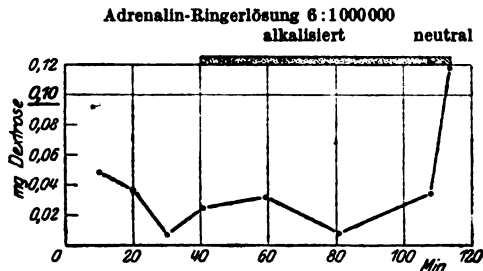


Abb. 8. Graphische Darstellung: Versuch 7. Durchspülung mit Adrenalin in alkalischer und dann neutralisierter Ringerlösung. Pro Minute und g Leber, ausgespülte Dextrose in mg.

<sup>1)</sup> E. I. Lesser, diese Zeitschr. 102, 304. 1920.

### Versuch 8. Durchspülung mit Adrenalin in alkalischer und wieder neutralisierter Lösung.

Schildkröte (330 g), Leber 14,7 g.

10. II. 1914.

Zeit	Durchspülung		Abfluß		Zucker		
	Dauer Min.	Art d. Durch- spülungs- flüssigkeit	absolute Menge ccm	pro Min. ccm	absolute Menge mg	pro Min. u. prog Leber mg	Durch- schnitts- wert in mg
3 <sup>h</sup> 20'—3 <sup>h</sup> 30'	10	A	84	8,4	6,552	0,045	} 0,049
3 <sup>h</sup> 30'—3 <sup>h</sup> 40'	10	A	74	7,4	8,74	0,059	
3 <sup>h</sup> 40'—3 <sup>h</sup> 50'	10	A	66	6,6	6,2	0,042	
3 <sup>h</sup> 55'—4 <sup>h</sup> 02'	7	C	103	14,7	3,19	0,031	} 0,023
4 <sup>h</sup> 02'—4 <sup>h</sup> 11'	9	C	100	11,1	3,1	0,024	
4 <sup>h</sup> 11'—4 <sup>h</sup> 32'	21	C	122	5,8	6,2	0,021	
4 <sup>h</sup> 32'—4 <sup>h</sup> 37'	5	D	50	10,0	5,18	0,071	} 0,09
4 <sup>h</sup> 37'—4 <sup>h</sup> 42'	5	D	47	9,4	8,33	0,11	

Durchspülungsflüssigkeit A = Ringerlösung (s. Versuch 1), C = 900 ccm konz. Ringerlösung + 6 ccm Adrenalin + 25 ccm  $\frac{1}{10}$ -NaOH a. d. 1000 ccm, D = C, durch die berechnete  $\frac{1}{10}$ -HCl neutralisiert.

nisierten Flüssigkeit soviel Glykogen nachweisen können, als dem Zucker in der darauffolgenden Periode in der Durchspülungsflüssigkeit entspricht. Durch Fällung haben wir uns von der Anwesenheit von Glykogen in der alkalischen Durchspülungsflüssigkeit niemals

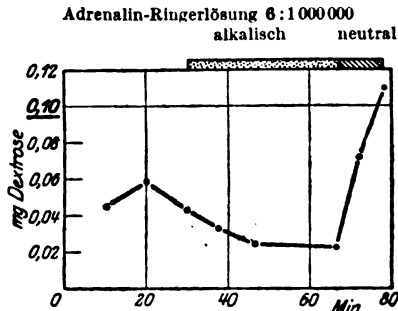


Abb. 9. Graphische Darstellung: Versuch 8. Durchspülung mit Adrenalin in alkalisierter und dann neutralisierter Ringerlösung. Pro Minute und g Leber ausgespülte Dextrose in mg.

überzeugen können. Quantitative Untersuchungen sind freilich nicht gemacht worden. Sie sollen, sobald Schildkröten wieder erhältlich sind, nachgeholt werden. Jedenfalls ist aber diese Entscheidung für die Feststellung der hemmenden Wirkung von Alkali auf die Zuckerproduktion durch Adrenalin belanglos. Daß Adrenalin, im Körper kreisend, seine Wirksamkeit verloren hat, ohne vollkommen zerstört worden zu sein, wurde zwar schon öfters mitgeteilt. Es sei z. B. auf die Versuche von Weiss und Harris<sup>1)</sup> hingewiesen, die an einer Schwimmhaut des Frosches die vasoconstrictorische Wirkung des Adrenalins abklingen ließen, erst

<sup>1)</sup> O. Weiss und I. Harris, Arch. f. d. ges. Physiol. **103**, 510. 1904.

dann die Klemme an der Arteria iliaca der anderen Seite lüfteten, und jetzt an der Schwimnhaut dieses bisher nicht durchbluteten (acidotischen?) Beines eine deutliche Vasokonstriktion beobachten konnten. Auch Ehrmann<sup>1)</sup> und Kahn<sup>2)</sup> hat zu einer Zeit, zu der der nach Adrenalininjektion gesteigerte Blutdruck auf die Norm abgesunken war, eine Adrenalinvermehrung im Blut nachgewiesen. Hingegen kommen I. de Vos und M. Kochmann<sup>3)</sup> und Jackson<sup>4)</sup> auf Grund ihrer Untersuchungen, und später Trendelenburg<sup>5)</sup> auf Grund von einwandfreien Versuchen am Loewen'schen Froschpräparat zum entgegengesetzten Schluß. Straub erklärt sich die kurze Dauer der Adrenalinwirkung so, daß das Adrenalin nur in dem Augenblick seines Zelleintrittes seine Wirksamkeit entwickelt, während das Adrenalin außerhalb der Zelle oder das bereits in die Zelle eingetretene Adrenalin unwirksam bleibt. Es wäre vielleicht nicht unmöglich, sich vorzustellen, daß die Alkalinisierung des Mediums den Zelleintritt des Adrenalins hemmt<sup>6)</sup> und die Säuerung ihn beschleunigt.

#### Zusammenfassung.

1. Die Säureglykosurie geht, im Gegensatz zur Piqure- oder Adrenalin-Glykosurie, am Kaninchen ohne Leberanschoppung einher.

2. Am Kaninchen führt die subcutane Adrenalininjektion zu einer mächtigen Acidose (neuerdings auch von Peters und Geyelin festgestellt).

3. Von vermehrt auftretenden Säuren ist bisher die Milchsäure nachgewiesen: nach Adrenalininjektion ist der Milchsäuregehalt der Kaninchenleber im Mittel etwa auf das Dreifache gesteigert.

<sup>1)</sup> Ehrmann, R., Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **53**, 97. 1905.

<sup>2)</sup> Kahn, Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 396. 1912.

<sup>3)</sup> I. de Vos und M. Kochmann, Arch. internat. de Pharmacodyn. **14**, 81. 1905.

<sup>4)</sup> I. Jackson, Americ. Journ. of Physiol. **23**, 226. 1908.

<sup>5)</sup> Trendelenburg. l. c.

<sup>6)</sup> Das bezieht sich natürlich bloß auf die glykogenmobilisierende Wirkung des Adrenalins, die von der toxischen Wirkung, die O. Löw (diese Zeitschr. **85**, 295. 1918) z. B. an Spirogyren studierte, auseinander zu halten ist.

4. Acidose und Steigerung der Milchsäureproduktion nach Adrenalininjektion beginnen jedenfalls noch in der ersten Stunde und dauern mindestens über  $3\frac{1}{2}$  Stunden an.

5. An der durchspülten Kaltblüterleber wird durch Alkali die zuckerausschwemmende Wirkung des Adrenalins gehemmt. Die so unwirksam gemachte Adrenalin-Ringerlösung erweist sich aber noch an derselben Leber als wirksam, sobald das zugeführte Alkali durch Säurezusatz neutralisiert ist.

6. Die auf Adrenalininjektion im Warmblüter entstehende Säure dürfte ein wichtiger, unterstützender Faktor bei der Entstehung der Adrenalinglykosurie sein.

Nachtrag bei der 2. Korrektur: Zur Zeit der Abfassung dieser Mitteilung waren die neueren englischen und amerikanischen Arbeiten über das Thema der Acidose hier noch nicht zugänglich. Da sich durch diese Feststellungen unsere Ansichten über die Wirkung des  $O_2$ -Mangels und der Erstickung ändern müssen und sich dadurch auch gezeigt hat, daß bisher unter dem Ausdruck Acidose ganz verschiedene, zum Teil entgegengesetzte Zustände zusammengefaßt wurden, wird es notwendig sein, durch noch anzustellende Versuche zu zeigen, in welche Gruppe von Zuständen die Adrenalin-Acidose einzureihen ist. Es wäre möglich, daß auf Grund dieser neuen Versuche die Deutung der hier beschriebenen Tatsachen in dem einen oder anderen Punkt noch eine Änderung erfährt.

---

# Über einen aus normalem Menschenharn durch Behandlung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugten, rein dargestellten roten Farbstoff.

Von

**Paul Hári.**

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.)

*(Eingegangen am 11. Februar 1921.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

Es ist schon mehrfach versucht worden, den roten Farbstoff zu isolieren, der der Ehrlichschen Aldehydreaktion zugrunde liegt. Auch ich machte den Versuch, bin jedoch, wie hier gleich vorausgeschickt werden soll, zu einem von meinem ursprünglichen abweichenden Ziele gekommen. Es gelang mir nämlich, einen roten Farbstoff rein darzustellen, der aus jedem, auch normalem Harn, durch Behandlung mit dem Ehrlichschen Reagens gewonnen werden kann, der jedoch nicht identisch ist mit dem Farbstoff, der in gewissen pathologischen Harnen der starken roten Aldehydreaktion zugrunde liegt.

Den Ausgangspunkt meiner Untersuchungen bildete die bereits von früheren Autoren her bekannte Tatsache, daß in Harnen, die zimmerwarm die Aldehydreaktion nicht geben, dieselbe im vorher erwärmten Harn mehr oder minder stark positiv ausfällt.

Zur Darstellung meines Farbstoffes hat sich folgendes nach und nach ausgebildete Verfahren am besten bewährt.

Darstellung: 10—15 l frischen Harns vom normalen Menschen, der keine Arzneien (Abführmittel) zu sich genommen hat, werden am Wasserbad auf ungefähr  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$  Volumen eingedampft, von allenfalls abgeschiedenen Salzen abgossen und mit einer 20 proz. Lösung von Bleizucker gefällt. Die Bleilösung wird portionsweise hinzugefügt, und zwar so lange, bis in einer kleinen herausgenommenen Probe (3—4 ccm) des Harns auf Zusatz von konz.  $\text{NH}_3$  eine starke wolkige Trübung oder höchstens ein

geringer Niederschlag erzeugt wird (also weder eine bloß geringe Trübung, noch ein massiger Niederschlag). Nun wird filtriert, das blaßgelbe Filtrat in einem Becherglas am Drahtnetz bis zum beginnenden Sieden erhitzt, dann vom Drahtnetz genommen und sofort mit einer 2 $\frac{1}{2}$ proz. Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 25proz. Salzsäure unter ständigem Umrühren versetzt. Hierbei färbt sich der Harn mehr oder minder dunkel gelbrot und man fügt von dem Reagens solange zu, bis der Harn nicht mehr dunkler wird. (Ein während des Erhitzens am Drahtnetz sich ausscheidender Bleiniederschlag geht bei Zugabe des Säurereagens meist glatt in Lösung.) Die noch heiße Flüssigkeit wird nun sofort in einen großen Rundkolben aus Jenenser Glas gefüllt und durch strömendes Wasser, noch besser durch Umschwenken in einem großen Behälter (Eimer), dem ständig kaltes Wasser zufließt, auf 16—20° C abgekühlt, was innerhalb 5—10 Minuten erreicht werden kann. Während der Abkühlung scheiden sich oft Bleisalze in großer Menge in Form eines schweren Bodensatzes aus; von diesen wird die darüberstehende Flüssigkeit klar abgegossen und der weiteren Behandlung zugeführt. Diese besteht in folgendem: Die klare dunkelgelbrote Flüssigkeit wird mit anfangs größeren, später abnehmenden Mengen von konz. NH<sub>3</sub> versetzt und jedesmal sofort energisch umgeschwenkt. Zuweilen bemerkt man bereits beim ersten Zusatz — meistens jedoch erst bei den späteren —, daß die Farbe der Flüssigkeit immer mehr in Weinrot umschlägt. Gleichzeitig sieht man auch, daß durch die späteren NH<sub>3</sub>-Zusätze in den oberen Schichten der Flüssigkeit eine Trübung entsteht, die beim Umschwenken zunächst noch rasch, später jedoch immer langsamer verschwindet. Zu dieser Zeit muß an Stelle des konz. NH<sub>3</sub>, wenn man das Präparat nicht gefährden will, stark verdünntes NH<sub>3</sub> genommen werden. Auch kann die scharfe Endreaktion, auf die es wesentlich ankommt, in der nunmehr bereits sehr dunklen, diffus getrübbten Flüssigkeit nicht mehr wahrgenommen werden. Man füllt daher ein Reagensglas mit der Flüssigkeit etwa zur Hälfte an, und fügt einige Tropfen des verdünnten NH<sub>3</sub> hinzu, worauf man ganz genau wahrnehmen kann, daß durch den einfallenden Tropfen eine Trübung entsteht, die sich beim Umschwenken löst, wobei aber die Flüssigkeit jedesmal noch um eine Nuance dunkler weinrot wird. Hält man das Reagensglas schief und betrachtet die obere dünne Flüssigkeits-

schicht mit der Lupe, so sieht man zu dieser Zeit entweder gar keine suspendierten Teilchen oder aber einen spärlichen, ganz feinkörnigen Niederschlag von farblosen Bleisalzen, zuweilen aber auch bereits einige intensiv rotgefärbte Flöckchen. Der Inhalt des Reagensglases wird nun zur Hauptmenge zurückgegossen, wenig  $\text{NH}_3$  hinzugefügt, umgeschwenkt, wieder in ein Reagensglas abgegossen, mit  $\text{NH}_3$  versetzt usw.; insolange, als bei diesem Reagensglasversuch die nach  $\text{NH}_3$ -Zusatz eintretende Trübung nicht mehr verschwindet. Mit der Lupe betrachtet, erweist sich jetzt die Flüssigkeit von feinen Flocken durchsetzt, und fügt man nun noch 1—2 Tropfen hinzu, so sieht man deutlich, daß in der ganz klaren, beinahe farblos gewordenen Flüssigkeit ein dichter, flockiger, rotbrauner Niederschlag entstanden ist, der sich alsbald zu Boden setzt. Auch diese Flüssigkeit wird wieder zur Hauptmenge zurückgegossen und diese nun sehr vorsichtig tropfenweise mit  $\text{NH}_3$  solange versetzt, bis die dünne Flüssigkeitsschicht im schief gehaltenen Kolben, mit der Lupe betrachtet, den oben erwähnten flockigen Niederschlag aufweist. Zu dieser Zeit ist die Reaktion der Flüssigkeit mit Lackmuspapier geprüft, neutral oder schwach alkalisch. Hat man zuviel  $\text{NH}_3$  hinzugefügt, so entsteht wohl ein weit massigerer, heller gefärbter Niederschlag, das Präparat ist jedoch verdorben! Nach kurzer Zeit hat sich der Niederschlag am Boden des Kolbens in Form einer rost- bis schwarzbraunen Schicht zusammengeballt; ist dies nicht der Fall, so war der  $\text{NH}_3$ -Zusatz noch nicht genügend. Nun wird die ganze Flüssigkeit aufgeführt, auf ein Nutschenfilter aufgegossen, abgesaugt, und der Niederschlag am Filter mit destilliertem Wasser gewaschen.

Der noch feuchte Niederschlag wird, sobald er während des Absaugens rissig zu werden beginnt, mitsamt dem Filter, oder wenn möglich, nachdem er in Form einer zusammenhängenden Lage vom Filter abgezogen wurde, in einer Schale mit wenig zimmerwarmem 96proz. Alkohol übergossen, in dem sich der Farbstoff sofort mit einer schönen roten Farbe löst. Der erste Auszug wird in ein Reagensglas gegossen, zum Niederschlag noch ein zweites Mal — jedoch nicht öfter — wenig frischer Alkohol hinzugefügt und dieser zweite Auszug mit dem ersten vereint.

Es bleibt nun eine noch immer stark gefärbte, bleihaltige Masse zurück, die noch reichlich, wenn auch weniger gut löslichen,



Farbstoff an den Alkohol abgibt; doch ist dieser von mehr bräunlichem Stich und ist mit dem darzustellenden nicht identisch; dieses Extrakt ist also nicht mehr zu verwenden.

Der den schönen roten Farbstoff enthaltende alkoholische Auszug darf aus später zu erwähnenden Gründen dem direkten Sonnenlicht auch nicht für eine Sekunde ausgesetzt werden und soll auch vor grellerem diffusen Licht geschützt werden.

Der Auszug wird im Reagensglase mit so viel Wasser versetzt, daß eine im auffallenden Licht sichtbare Trübung entsteht; dann wird die ganze Flüssigkeit in eine Krystallisationschale ausgegossen und nun an einem finsternen Ort stengelassen. Eine richtige Konzentration des alkoholischen Auszuges, die allerdings schwer näher zu definieren ist, gilt als Vorbedingung für den richtigen Verlauf des nun folgenden Krystallisationsprozesses. Denn war die Lösung zu konzentriert, so wird der Farbstoff mitsamt allen Verunreinigungen auf einmal, und zwar großen Teiles in amorphem Zustande gefällt; war der Auszug zu verdünnt, so bleibt eine Fällung oder Krystallisation überhaupt aus. War aber die Konzentration wenigstens annähernd richtig getroffen, was bei einiger Übung durchaus nicht schwer zu erreichen ist, so wird die Flüssigkeit — die, wie erwähnt im Reagensglas bloß in auffallendem Lichte, nicht aber auch in durchfallendem Lichte getrübt erscheinen darf — in der Schale im Verlaufe von einigen Minuten bis Stunden intensiv trübe. Man sieht knapp unter der Oberfläche der Flüssigkeit kleinere und größere rotbraune Knäuel sich bilden, die sich im weiteren Verlaufe immer mehr verdichten. Wird ein Tropfen der Flüssigkeit unter ein Deckglas gebracht, so sieht man zu dieser Zeit bereits die dem reinen Farbstoff angehörende Krystallbildung. Das mikroskopische Bild ist verschieden, je nachdem die Krystallisation rasch (in einigen Minuten) oder langsam (in einigen Stunden) erfolgt war. Im ersten Fall sieht man Formen, die Haarknäueln oder dem bekannten Anthraxkolonien täuschend ähnlich sind: ein Konvolut von feineren oder derberen Fäden, die, wenn sie dünn oder nur in einer Lage gelegen sind, blaß gelbrot, wenn sie dicker oder übereinander gelagert sind, prachtvoll granatrot erscheinen (namentlich bei künstlicher Beleuchtung).

Hat die Krystallbildung längere Zeit beansprucht, so kommt es zur Bildung von kürzeren lanzen- oder schwertähnlichen Ge-

bilden, die bald einzeln vorkommen, bald büschelförmig gruppiert sind. Zuweilen sieht man auch größere Gebilde, über- und übersät mit kleinen und kleinsten sekundären nadel- und spießförmigen Auflagerungen. Bei dieser ersten Krystallisation sieht man unter dem Deckglas sehr häufig und in wechselnder Anzahl feinste Kügelchen oder amorphe Schollen eines roten Farbstoffes, weiterhin hellgelbe Nadeln, die offenbar dem freien, unveränderten Aldehyd angehören.

Nachdem eine weitere Bildung von Krystallen nicht mehr erfolgt, d. i. längstens nach 24—48 Stunden, wird durch ein kleines Filter gegossen, und der Niederschlag dort gründlich gewaschen. Dabei ist es zweckmäßig, die lockere Krystallmasse jedesmal, nachdem das Waschwasser abgelaufen ist, mit einem möglichst dünnen Strahl aus der Spritzflasche vom oberen Rand und von den Seiten des Filters allmählich seiner Gänze nach gegen die tiefste Stelle des Filters zu drängen. Wenn nachher das Filter bei Zimmertemperatur trocken geworden ist, läßt sich der so behandelte Farbstoff in Form eines konisch geformten Klumpens entfernen, während er sonst in dünner Lage dem Papier angetrocknet, schwer davon loszulösen ist.

Der auf diese Weise erhaltene Farbstoff, der noch Verunreinigungen der oben beschriebenen Art enthält, wird behufs Umkrystallisierung in 96 proz. Alkohol gelöst und auf die oben beschriebene Weise wieder zum Krystallisieren gebracht.

Man hat es übrigens dadurch ziemlich leicht, zu reinsten Präparaten zu gelangen, weil sich der Farbstoff in seiner Alkohol-löslichkeit von den unerwünschten Beimengungen genug wesentlich unterscheidet. Unser frisch gefällter bzw. krystallisierter Farbstoff ist nämlich, — frisch abgesaugt eine recht lockere Masse —, in Alkohol geradezu spielend leicht, jene Begleitsubstanzen sind hingegen weniger gut löslich. Hat man es also mit einem, wenn auch stark verunreinigten Präparate zu tun, so braucht man nur die Masse mit Alkohol zu übergießen, einige Male umzuschwenken und zu filtrieren; aus dem Filtrat krystallisiert längstens beim zweiten Umkrystallisieren reiner Farbstoff heraus.

Auch fällt es nicht schwer, von einem Farbstoffklumpen, der aus dem trocken gewordenen Filter in einem Stück herausfällt, zu beurteilen, ob der Farbstoff in annähernd reinem Zustande sich befindet oder noch stark verunreinigt ist: im ersten

Falle haben wir es mit einer blätterigen Masse von schön dunkel kupferroter Farbe und eigentümlichem Glanz zu tun, der teils an Fett-, teils an Seidenglanz erinnert, im letzteren aber mit einer dunkel- bis schwarzbraunen Masse von mehr körnigem Gefüge.

**Ausbeute.** Die Ausbeute ist bei diesem Verfahren, das offenbar noch sehr verbesserungsfähig ist, eine recht geringe. Aus 10 l frischen Harns sind nicht mehr als 2—6 cg zu erhalten, von denen noch ein ansehnlicher Teil beim Umkrystallisieren verlorengeht, so, daß durchschnittlich bloß 1—3 cg einer äußerst voluminösen und lockeren Krystallmasse erhalten werden.

Ich habe außer dem oben beschriebenen noch mehrere Wege eingeschlagen, um den Farbstoff aus dem durch  $\text{NH}_3$ -Zusatz erzeugten Niederschlage, wo ich ihn mit Recht stark angereichert vermutete, zu isolieren. Wird z. B. der Niederschlag in Wasser suspendiert, dann reichlich Äther zugefügt, und nun energisch geschüttelt, so erhält man einen citronen- bis orange gelben Auszug; wird dieser erst am Wasserbade eingeeengt, dann in einem nicht vollkommen verschlossenen Wägegläschen, aus dem der Äther nur ganz allmählich verdampfen kann, stehengelassen, so bilden sich am Boden des Gläschens bis zu mehrere Millimeter lange spießähnliche, schwarzrote bis -braune Krystalle. Störend wirkt dabei, daß bei dem bekannten Hinaufkriechen der ätherischen Lösung längs der Innenwand des Gefäßes der Farbstoff und verschiedene Verunreinigungen nebeneinander zur Ausscheidung kommen.

Auch habe ich versucht, den ersten alkoholischen Auszug direkt zur Krystallisation zu bringen, hatte aber ähnliche Schwierigkeiten wie an der ätherischen Lösung.

**Krystallform.** Hierüber wird am Schluß ausführlich berichtet.

**Löslichkeit.** Der Farbstoff ist in Äthylalkohol, besonders in frisch gefällttem Zustande, leicht löslich; verdünnte Lösungen sind hell-rosenrot, mehr konzentrierte matt-gelbrot, noch konzentriertere dunkel-weinrot.

Auf Zusatz von Salzsäure schlägt diese Farbe sofort in Gelb um, während Ammoniak keine sichtbare Veränderung erzeugt.

Mit Äthyläther und Chloroform erhält man je nach der Konzentration citronen- bis orangerote Lösungen, in Benzol solche von mehr sattgelber Farbe. Amylalkoholische Lösungen sind rötlichgelb. In Wasser ist der Farbstoff unlöslich.

**Tinktionsfähigkeit.** Die Tinktionsfähigkeit des Farbstoffes ist eine geradezu enorme: durch kleinste Mengen, die einem

Glasgefäße kaum mehr sichtbar als Verunreinigung anhaften, wird Alkohol, in einer Menge von 50—100 ccm hinzugefügt, noch recht intensiv rot gefärbt.

**Schmelzpunkt.** Der umkrystallisierte Farbstoff schmilzt augenscheinlich ohne Zersetzung unscharf zwischen 215 und 225° C. Zunächst erfolgt im Schmelzröhrchen erst an den Randpartien eine Verflüssigung, die sich erst bei einer höheren Temperatur gegen die mehr zentral gelegenen Teile erstreckt. In Tabelle I ist das Ergebnis der an 12 Präparaten je 2 mal vorgenommenen Bestimmungen eingetragen.

**Lichtabsorption.** A. In alkoholischer Lösung. Bereits eine sehr stark verdünnte alkoholische Lösung des Farbstoffes weist bei der einfachen spektroskopischen Prüfung ein einziges, sehr dunkles, charakteristisches Absorptionsband in Grün auf, das sich, an Intensität allmählich abnehmend, tief in Blau hinein erstreckt. Zunächst habe ich die Stelle der maximalen Absorption mittels des von Martens und Grünbaum verbesserten neuen Königschen Spektrophotometers, das ich in meinen früheren Untersuchungen<sup>1)</sup> an verschiedenen Blutfarbstoffen verwendet habe, festgestellt: sie befand sich im Spektralausschnitt 511,1—504,0  $\mu\mu$ , also an der Stelle 507,5  $\mu\mu$ . An dieser Spektralstelle habe ich dann an allen weiteren von mir dargestellten und umkrystallisierten Präparaten den spezifischen Extinktionskoeffizienten bestimmt.

Auch diese Daten sind in Tabelle I eingetragen.

Tabelle I.

Präparat	Spezif. Ext.-Koeff. bei 511,1 bis 504,6 $\mu\mu$	Schmelzpunkt °C	Präparat	Spezif. Ext.-Koeff. bei 511,1 bis 504,6 $\mu\mu$	Schmelzpunkt °C
„Hu“ II	113	215—210 210—222	XLII B	116	215—219 216—219
„Hu“ III	116	212—218 212—215	XLIII	114	212—218 212—215
XXXVII a/b	112	212—216 212—217	XLV	118	217—220 216—218
XXXIX	99	213—218 212—219	XLVI	114	217—224 212—230(?)
XLI B	114	216—218 215—217	Alc. I	119	220—224 215—225
XLI A/C	110	217—219 218—223	Alc. II	118	218—225 212—222

Aus den Werten in Tabelle I konnte auch das Absorptionsverhältnis für die Spektralstelle 511,1—504,6  $\mu\mu$  berechnet werden; es beträgt im Mittel aller dort mitgeteilten Versuche **0,00000880**. Es entspricht dies einer geradezu enormen Lichtabsorption, wenn man bedenkt, daß das Absorp-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 95 und 103.

tionsverhältnis des Oxyhämoglobins auf der Höhe des zweiten in Grün gelegenen Streifens 0,001168 beträgt, also etwa das 120fache!

B. In ätherischer Lösung. An einem meiner Präparate habe ich die Stelle des Maximums der Lichtabsorption auch in der ätherischen Lösung des rein dargestellten Farbstoffes bestimmt: sie befand sich viel tiefer in Blau, und zwar etwa bei 486  $\mu\mu$ .

Graphische Darstellung der Lichtabsorption der alkoholischen Lösung. An einigen Präparaten habe ich die Lichtabsorption nicht nur an der Stelle des Maximums, sondern auch an zahlreichen anderen Stellen des sichtbaren Spektrums festgestellt und die spezifischen Extink-

Tabelle II.

Spezifische Extinktions-Koeffizienten des reinen Farbstoffes					der (amorphen) Verunreinigungen
Spektral- ausschnitt $\mu\mu$	Präparat „Alc. I“*)	Präparat 48**)	Präparat 87 a/b***)	Mittel- werte	
653,9—638,5	—	0,0517	—	0,0517	0,582
632,5—618,5	—	0,0698	—	0,0698	0,780
613,2—600,7	—	0,115	—	0,115	1,04
595,9—584,7	—	0,277	—	0,277	1,32
588,2—577,5	0,743	—	—	0,743	—
580,3—570,5	—	1,33	—	1,33	1,73
573,5—563,5	1,80	—	—	1,80	—
566,5—557,0	—	5,86	—	5,86	2,98
553,4—544,9	—	—	—	—	6,10
547,3—539,0	34,4	—	—	34,4	—
541,4—533,7	—	49,5	—	49,5	12,0
535,9—528,4	65,9	—	61,7	63,8	—
530,7—523,3	—	78,4	—	78,4	18,1
525,4—518,3	93,0	—	89,8	91,4	—
520,0—513,6	—	103	—	103	23,2
515,5—509,0	115	110	108	111	—
511,1—504,6	119	114	112	115	25,1
506,8—500,5	118	112	111	114	—
502,3—496,4	112	—	—	112	24,6
498,0—592,1	—	106	101	108	—
494,0—488,3	103	—	—	103	23,0
490,0—484,7	—	93,2	89,3	91,2	—
486,3—481,1	90,8	—	—	80,8	20,7
482,7—477,6	—	85,3	81,5	82,4	—
475,6—470,2	—	—	70,0	70,0	—

\*) Konz. = 0,001008%. \*\*) Konz. = 0,000996%. \*\*\*) Konz. = 0,00188%.

tionskoeffizienten berechnet (Tabelle II). Diese Werte habe ich dann als Ordinaten in ein Koordinatensystem eingetragen, wo die Wellenlängen der betreffenden Spektralstellen als Abszissen figurieren (Abb. 1). Des Vergleiches halber habe ich in dasselbe Koordinatensystem den Extinktionskoeffizienten des Oxyhämoglobins auf der Höhe des 2. Streifens (in Grün) eingetragen; dieselben erscheinen in Form einer kleinen Kuppe nahe zum Fuße der Abbildung und zeigen deutlich, wie ungleich geringer die Lichtabsorption des Blutfarbstoffes ist.

**Lichtempfindlichkeit.** Wird eine ganz verdünnte, hellrosenrote alkoholische Lösung in einem Reagensglas dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt, so schlägt ihre Farbe bereits nach einer Expositionszeit von 2—3 Sekunden in ein dunkleres Rot um, gleichzeitig nimmt die Lichtabsorption an der Stelle des bereits erwähnten Maximums stark ab. Um von dem Grad dieser Abnahme eine Vorstellung zu bekommen, habe ich an mehreren meiner Farbstofflösungen den Extinktionskoeffizienten festgestellt, einerseits bevor, andererseits nachdem sie (verschieden lang) dem

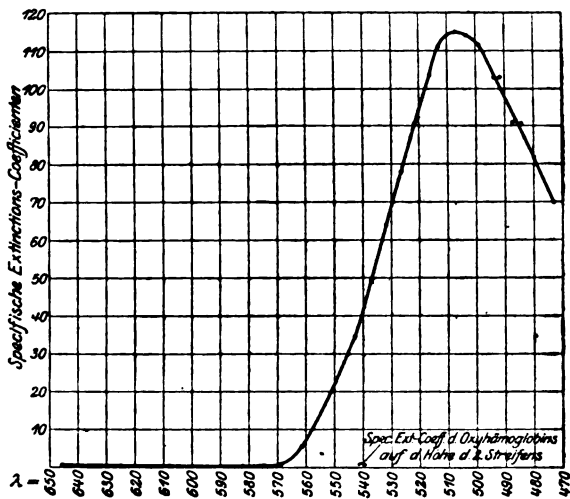


Abb. 1.

direkten Sonnenlicht ausgesetzt waren. Der Extinktionskoeffizient betrug:

	Präp. 33	Präp. 37/b	Präp. 38
unbelichtet . . . . .	1,00	0,724	1,30
belichtet/. . . . .	0,493	0,509	0,519
weiter belichtet . . . . .	—	—	0,369

**Wärmebeständigkeit.** Man muß sich wohl hüten, eine alkoholische Lösung, die zu verdünnt erscheint, um durch Zusatz von Wasser zur Krystallisation gebracht zu werden, bei höherer Temperatur einzuengen, denn bereits im nicht zu heißen Wasserbade erfolgt eine mehr oder minder starke Bräunung der ursprünglich schön roten Lösung. Hingegen bleiben die trockenen Krystalle, beliebig lang im Vakuum-Trockenschrank bei 60—80 °C verwahrt, vollkommen unverändert.

**Einheitlichkeit der Farbstoffpräparate.** Es ergab sich die Aufgabe, sicherzustellen, ob ich es in dem Farbstoffe auch wirklich mit einer einheitlichen chemischen Verbindung zu tun habe, oder nicht? Würde sich der Farbstoff leicht in hinreichender Menge herstellen lassen, so hätten ja 3—4 Präparate genügt, um an diesen den gewöhnlichen Identitätsnachweis zu führen; nun war aber hieran bei den bekannten Schwierigkeiten (Beschaffung der entsprechenden Mengen von essigsauerm Blei, von Aldehyd) nicht zu denken, und es konnten nur Präparate in einer Menge von bloß je einigen Zentigramm hergestellt werden. Eine erschöpfende Analyse konnte an diesen geringen Mengen selbstverständlich nicht ausgeführt werden; durch Vereinigung mehrerer Präparate hätten sich allerdings hierzu hinreichende Mengen ergeben, doch wäre aus diesen Analysen nicht auf die Einheitlichkeit der zu verschiedenen Malen dargestellten Präparate zu folgern gewesen.

Es mußte also der Ausweg gefunden werden, solche Untersuchungen auszuführen, die einerseits auch an geringen Mengen leicht möglich sind, andererseits sich auf eindeutig charakteristische Eigenschaften des Stoffes beziehen. Als solch Methoden eignete sich neben der selbstverständlichen Schmelzpunktbestimmung insbesondere die spektrophotometrische Prüfung.

War die Einheitlichkeit der verschiedenen Präparate auf diese Weise gewährleistet, so konnte dann wohl an den zu einer Masse vereinigten Präparaten eine erschöpfende Analyse (wenigstens nach den neueren Mikromethoden) vorgenommen und aus diesen Ergebnissen dann weitere gutfundierte Schlüsse gezogen werden.

Bei der spektrophotometrischen Prüfung der zu allererst erhaltenen Präparate ergab sich, daß die an den verschiedenen Präparaten erhaltenen spezifischen Extinktionskoeffizienten an der erwähnten Spektralstelle 511,1—504,6  $\mu\mu$  durchaus verschieden waren. Ich konnte also schon aus diesem Grunde annehmen, daß die Präparate nicht rein waren. Jedoch bereits nach dem ersten Umkrystallisieren, zuweilen aber auch erst beim zweiten, erhielt ich sehr befriedigend übereinstimmende Werte, die im Vereine mit der an denselben Präparaten vorgenommenen Schmelzpunktbestimmung eine sichere Gewähr dafür abgaben, daß der umkrystallisierte Körper auch wirklich rein war.

Hierfür bringe ich einige Beispiele. Es betrug der spezifische Extinktionskoeffizient im Spektralausschnitt 511,1—504,6  $\mu\mu$ .

	Präp. „Alc. I“	Präp. „Alc. II“	Präp. „Hu II“	Präp. „Hu III“
Erste Kryst.	91,9	82,1	91,9	62,1
Umkryst. . .	118	119	119	116

Oder aber:

	Präp. 42 b	Präp. 43
Erste Krystallisation . . . .	49,9	56,6
Erste Umkrystallisation . . .	114	76,8
Zweite Umkrystallisation . .	116	114

Andererseits fanden sich auch Präparate, die gleich beim ersten Male ganz rein krystallisierten, so z. B.

	Präp. 41 b
Erste Krystallisation	114
UmkrySTALLISATION	114

Ermöglicht war die außerordentliche Schärfe der spektrophotometrischen Reinheitsprüfung durch den Umstand, daß der Körper oder die Körper, die meinen Farbstoff beim ersten Auskrystallisieren verunreinigen, an der genannten Spektralstelle einen weit geringeren Extinktionskoeffizienten haben, der kaum den vierten Teil des Wertes hat, wie mein Farbstoff an derselben Stelle. Es ist also natürlich, daß an dem noch unreinen Farbstoff, wie es in obigen Beispielen klar ersichtlich ist, zunächst ein geringerer Wert gefunden wird, der dann einem weit höheren und nunmehr konstanten Wert Platz macht, sobald der Farbstoff ganz rein erhalten wird.

Ebenso günstig für den Nachweis der Reinheit ist auch das Verhalten des Schmelzpunktes, der am reinen Präparat recht hoch, etwa um 220° C herum gelegen ist; während die den Farbstoff begleitenden Verunreinigungen, die ich für diesen Zweck einmal eigens isoliert habe, bereits bei 140° C schmelzen. Es ist also begreiflich, daß z. B. Präparat 26/27, das einen Schmelzpunkt von etwa 150—170° C hatte, an der genannten Spektralstelle einen Extinktionskoeffizienten von bloß 55,5 aufwies; ebenso begreiflich ist auch das Verhalten von Präparat „Alc. II“:

	spez. Ext.-Koeff.	Schm.-P., C°
Erste Krystallisation . . . .	82,1	135—160
UmkrySTALLISATION . . . . .	118	218—225

In voranstehender Tabelle I sind die Daten für den spezifischen Extinktionskoeffizienten und den Schmelzpunkt bloß der-



jenigen unter allen meiner sehr zahlreichen Präparaten eingetragen, wo das Material zu einem — evtl. noch wiederholten — Umkrystallisieren hinreichte.

Man sieht, daß mit Ausnahme des Präparates Nr. XXXIX, dessen Extinktionskoeffizient stark aus der Reihe der übrigen springt, alle übrigen teils recht gut, teils aber vorzüglich übereinstimmende Werte aufweisen. Auch unter den Schmelzpunkten kommt bloß bei Präparat XLVI ein fraglicher Wert vor.

Es kann also auf Grund der obigen, von der üblichen Art abweichenden Prüfungen als sichergestellt betrachtet werden, daß der von mir aus normalem Harn zu sehr verschiedenen Malen dargestellte Farbstoff rein und von einheitlicher Natur ist. (Siehe hierüber indessen das Ergebnis der kristallographischen Prüfung am Schlusse.)

Chemische Eigenschaften. Die von mir dargestellten Mengen des reinen Farbstoffes waren viel zu gering, als daß ich an denselben mit der mir zur Verfügung stehenden Apparatur und mit den von mir beherrschten Methoden auch nur die notwendigsten chemischen Bestimmungen hätte ausführen können. Über die Ergebnisse solcher mit geeigneter Methodik ausgeführter Untersuchungen wird Herr Dr. Hans Lieb, Assistent am medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz, berichten.

Durch frühere Autoren dargestellte Farbstoffe ähnlicher oder vielleicht identischer Natur. Pröscher<sup>1)</sup> hat aus dem Harn von Menschen, die an Typhus, Dysenterie, chronischen Enteritiden erkrankt waren, mit dem Aldehyd ein rotgefärbtes Kondensationsprodukt erhalten, das, wie meines, in Alkohol und Chloroform löslich war, sich jedoch von meinem durch Unlöslichkeit in Benzol und Äther unterscheidet. Eine frisch bereitete Lösung des Pröscherschen Farbstoffes weist, spektroskopisch geprüft, 3 Maxima der Lichtabsorption auf, weicht also von dem meinigen wesentlich ab; ließ aber Formanek, der diese Untersuchungen an dem Pröscherschen Stoffe vornahm, die Lösung stehen, so veränderte sich das Spektrum zusehends noch während der spektroskopischen Prüfung, indem von den 3 Maximis die bei 559 bzw. 510 bzw. 492  $\mu\mu$  gelegen waren, das erst- und das letztgenannte bald verschwanden, während das mittlere bei 510  $\mu\mu$  gelegene verstärkt hervortrat. Dieses letztere stimmt mit dem von mir gefundenen ziemlich gut überein. Fischer und Meyer-Beetz<sup>2)</sup> haben

<sup>1)</sup> Pröscher, Zur Kenntnis der Ehrlichschen Dimethylaminobenzaldehydreaktion. Zeitschr. f. physiol. Chemie **31**, 520. 1900.

<sup>2)</sup> Hans Fischer und Friedr. Meyer-Beetz, Zur Kenntnis der Gallenfarbstoffe; II. Mitteilung. Über das Verhalten des Urins und das Wesen der Ehrlichschen Aldehydreaktion. Zeitschr. f. physiol. Chemie **75**, 232. 1911.

einen roten Dipyrrolyphenylmethanfarbstoff von sehr großer Tinktionsfähigkeit — allerdings nicht aus Harn — dargestellt, von dem sie annehmen, daß er der Ehrlichschen Aldehydreaktion zugrunde liegt.

Das von Charnas<sup>1)</sup> bloß in ätherischer Lösung dargestellte Kondensationsprodukt des Urobilinogens mit dem Aldehyd weist einen Absorptionsstreifen auf, dessen dunkelster Teil bei 550—570  $\mu\mu$ , also weit rotwärts von dem Absorptionsmaximum meines Farbstoffes gelegen ist. Trotzdem ist es ganz gut möglich, daß beide identisch sind, denn die ganz abweichende Lichtabsorption kann durch die Verschiedenheit des Lösungsmittels bedingt sein: bei mir reiner Alkohol, bei Charnas Äther + Alkohol + Salzsäure.

Der rote Farbstoff der Ehrlichschen Reaktionen in pathologischen Harnen. Manche Autoren meinen, daß die mehr oder minder starke Rotfärbung, die man auch an normalen Harnen erhält, wenn dieser in warmem Zustande mit dem Ehrlichschen Aldehydreagens versetzt wird, identisch sei mit der roten Reaktion, die manche pathologische Harnen im kalten Zustande geben und die eben als die den Kliniker interessierende positive Ehrlichsche Aldehydreaktion bezeichnet wird. Auch ich war dieser Meinung, und zwar auch noch zur Zeit, als meine oben beschriebene Methode zur Reindarstellung des Farbstoffes bereits vollkommen ausgearbeitet war. Als ich aber Gelegenheit hatte, drei Harnen mit positiver Ehrlichscher Reaktion zu prüfen, wurde ich eines besseren belehrt, und kam zur Überzeugung, daß die beiden Kondensationsprodukte nicht identisch sind. Das Filtrat eines mit essigsaurem Blei gefällten Harnes, der eine typische, starke Rotfärbung in der Kälte gibt, färbt sich nämlich in der Kälte mit dem Reagens nicht mehr rot, oder nur noch ganz schwach rot. Aus diesem Filtrat kann der von mir oben beschriebene Farbstoff (durch Behandeln in der Wärme) erhalten werden, jedoch keineswegs in größerer Ausbeute, als aus jedem normalen Harn. Der die pathologische Reaktion verursachende Körper ist im Bleiniederschlag enthalten und bleibt auf dem Filter.

---

Anhang. Herr Privatdozent Dr. Z. v. Toborffy hatte die Güte, einige mikroskopische Präparate des frisch umkrystallisierten Farbstoffes zu untersuchen und wie folgt zu beschreiben. Es sei mir gestattet, ihm für seine freundliche Bemühung an dieser Stelle wärmstens zu danken.

„Die allgemeine Form der Krystalle ist — offenbar infolge abweichender Bildungsverhältnisse — verschiedenartig. In der Mehrzahl der von mir

<sup>1)</sup> D. Charnas, Über die Darstellung, das Verhalten und die quantitative Bestimmung usw. Diese Zeitschr. 20, 427. 1909.

durchgesehenen mikroskopischen Präparate bilden sie Trichite oder wellig gebogene, an beiden Enden zugespitzte Spindeln, die sich zu Garben oder zu unregelmäßig verfilzten Gebilden gruppieren. Eines der Präparate enthält winzige, jedoch regelmäßig entwickelte flach ziegelförmige Kryställchen, ein anderes zeigt größere und auch verhältnismäßig längere, jedoch hohle Skelettkrystalle, in ihrem Inneren mit X-artig gekreuzten stärkeren Balken.

Die stets gerade Extinktion, die rektangulären Durchschnitte der besseren Krystalle und der scharf ausgeprägte Dichroismus gestatten die Annahme einer tetragonalen oder hexagonalen (bzw. trigonalen) Symmetrie, die nähere Prüfung der Skelette deutet jedoch höchstwahrscheinlich auf die tetragonale Form der Krystalle hin.

Die Farbe des Stoffes ist je nach der Schichtdicke lebhaft zinnberrot bis tief blutrot. Bei Anwendung polarisierten Lichtes fällt der sehr beträchtliche Dichroismus ins Auge, indem die dünneren Krystalle das ihrer Länge nach schwingende weiße Licht fast unverändert, senkrecht darauf schwingendes Licht hingegen in zinnberroter Farbe durchlassen. Die dickeren Krystalle sind unter analogen Verhältnissen rötlich-schiefergrau bzw. tief carminrot gefärbt.

Die Lichtbrechung ist mittelmäßig, die bedeutende Doppelbrechung negativ.

In zwei Präparaten fanden sich neben den soeben besprochenen auch solche Krystall-Leistchen, die in ihrer äußeren Form wie auch in ihrer geometrischen und optischen Symmetrie den übrigen Gebilden vollkommen gleichen, andererseits aber von ihnen gänzlich verschieden sind. Auffallend ist erstens ihre ziemlich gute Spaltbarkeit nach der Querrichtung, nebst einer etwas geringeren Spaltbarkeit in der Längsrichtung, der Prismen. Weiterhin bemerkt man, daß ihre Farbe zwar ebenfalls rot ist, jedoch einen mehr gelblichen Ton besitzt. Auch der bedeutende Dichroismus ist vorhanden, während jedoch an den oben beschriebenen Krystallen die der Länge nach schwingenden Strahlen es sind, die am meisten absorbiert werden, verhalten sich die jetzt besprochenen umgekehrt: in der Längsrichtung sind sie feuerrot, senkrecht dazu bedeutend heller, etwa blaß-lachsrot gefärbt. Die Lichtbrechung scheint etwas stärker zu sein und die Doppelbrechung ist positiv.

Alles zusammengefaßt handelt es sich hier höchstwahrscheinlich um eine fremde Substanz, etwa um eine Verunreinigung der Grundsubstanz und nicht um abweichend entwickelte Krystalle der letzteren.“

# Die Bekämpfung der Cocainvergiftung im Tierversuch.

Von

Agda Hofvendahl (Stockholm).

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 12. Februar 1921.)

Mein Interesse für die Cocainvergiftung ist in einer Stockholmer Poliklinik durch eine interessante Beobachtung bei einem 10jährigen Kinde geweckt worden, zu dem man mich wegen einer akuten Cocainvergiftung berief.

Das Kind wurde im Zustand höchster motorischer Erregung mit Pupillendilatation, Pulsbeschleunigung und Benommenheit eingeliefert. Es war eine Viertelstunde vorher mit 10 proz. Cocainlösung zweimal in der Nase behandelt worden. (Die 2. Anästhesierung erfolgte auf die nach Saugbehandlung blutende Schleimhaut; ob Adrenalin auch angewandt wurde, ist mir leider nicht bekannt, es ist aber an der dortigen Poliklinik gebräuchlich.) Die in den Handbüchern angegebenen Stimulantia erschienen bei dem erregten Zustande der Patientin nicht angezeigt, andere Mittel, z. B. Amylium nitrosum, waren nicht zur Hand.

Ich beschäftigte mich damals gerade mit den pharmakologischen Eigenschaften des Pilocarpins und entschloß mich, eine Pilocarpininjektion von 0,01 g bei dem Kinde zu versuchen. Ich hoffte dadurch einerseits die erst eingetretene sympathicuserregende Wirkung des Cocains durch das parasymphatisch wirkende Pilocarpin kompensieren zu können und andererseits durch die rasche diaphoretische und diuretische Wirkung desselben eine beschleunigte Ausscheidung des Giftes zu erreichen. Die Wirkung der Injektion war eine erstaunlich rasche. In wenigen Minuten war die Diaphoresis und einige Minuten später die Diurese im Gang. Die Patientin wurde zusehends ruhiger, und das Bewußtsein kehrte schon nach ca. 10 Minuten zurück, worauf sie, abgesehen von einer gewissen Mattigkeit als symptomfrei zu betrachten war. Ermuntert durch diesen günstigen Erfolg stellte ich später Parallelversuche an Hunden an. Es zeigte sich aber hier, daß das Pilo-

carpin als Gegenmittel bei tödlichen Dosen von Cocain an Hunden vollkommen versagte. Hierbei sei jedoch erwähnt, daß die Verhältnisse bei Hunden nicht ganz analog sind denjenigen beim Menschen, z. B. fällt die ganze Schweißabsonderung mit darauffolgender Temperaturherabsetzung bei jenen aus Mangel an funktionstüchtigen Schweißdrüsen fort, beides bedeutsame Faktoren, da besonders die starke Diaphorese eine schnelle Ausscheidung des Giftes bedingt. Es wurde sogar eine Temperatursteigerung bei den Hunden nach diesem Mittel allein beobachtet. Ebenso zeigten andere gefäßerweiternde oder diuretische Mittel, z. B. Amylium nitrosum und physiologische Kochsalzlösung bei schon eingetretenen Vergiftungssymptomen negative Resultate.

An diesen erfolglosen Fällen hatte ich Gelegenheit, die Symptome bei letal verlaufenden Cocainvergiftungen nach subcutaner Injektion des Giftes zu studieren. In sämtlichen 22 Fällen von Cocainvergiftung sind die Hunde an Krämpfen eingegangen. Die Krämpfe waren erst tonisch, dann klonisch, zuletzt tetanisch und traten in immer kürzeren Intervallen auf, bis schließlich der Tod in einem längeren ca. 20 Sekunden dauernden tetanischen Krampf erfolgte. — Die dyspnoische Atmung und die Cyanose der Schleimhäute schienen mir u. a. darauf hinzuweisen, daß die unmittelbare Todesursache auf Erstickung beruhe, verursacht durch Behinderung der Atmung infolge der Krämpfe. Ich überlegte weiter, ob nicht die plötzliche Kohlensäureanreicherung des Blutes während des Krampfstadiums ihrerseits durch Reizung der Großhirnrinde zu einer Verstärkung der Krämpfe und somit zu einem unlösbaren Circulus vitiosus führen könnte. — Denselben Verlauf beobachtete ich bei Katzen, weniger deutlich bei Kaninchen und Meerschweinchen, welche auch während des Krampfstadiums zugrunde gingen, aber nicht immer im Anschluß an einen längeren Krampf. In der Literatur finden sich Angaben, wonach bei Versuchstieren der Tod in einem nach Krämpfen eingetretenen komatösen Stadium erfolgt. Auch ich besitze unter 31 tödlich verlaufenen Hundeversuchen 3 Fälle, wo die Tiere am Morgen verendet aufgefunden wurden — also die Frage des vorausgegangenen komatösen Stadiums offengelassen werden muß. Eine Katze ist im komatösen Stadium am 6. Tage nach der Cocaininjektion eingegangen. (Die letztgenannten Fälle sind mit Gegenmitteln behandelt worden, daher keine reinen Fälle.) Ich fragte

mich nun, ob nicht die Folgen der bedrohlichen Vergiftungssymptome hintangehalten werden könnten, bis das Gift allmählich teils zerstört, teils ausgeschieden worden wäre. Dies konnte dadurch erreicht werden, daß man versuchte, durch Unterdrückung der Krämpfe einerseits den Erstickungstod zu vermeiden und andererseits das evtl. den Krämpfen folgende Erschöpfungsstadium bzw. das komatöse Stadium zu mildern. Daß die Krämpfe durch Reizung der Großhirnrinde hervorgerufen werden, ist bereits experimentell festgestellt worden [Feinberg und Blumenthal<sup>1)</sup>, Morita<sup>2)</sup>]. Sie bleiben aus nach Entfernung des Großhirns sowie bei denjenigen neugeborenen Tieren, deren Großhirnrinde bei der Geburt noch nicht reizbar ist. Um denselben Erfolg durch weniger eingreifende Methoden zu erreichen, versuchte ich es, die Reizbarkeit der Großhirnrinde durch Schlafmittel herabzusetzen. Dieser Gedankengang führte zu den vorliegenden Versuchen mit Chloralum hydratum, Natrium diäthylbarbituricum und Scopolaminum hydrobromicum.

Die genannten Mittel haben den Vorzug, daß sie außer der Herabsetzung der Reizbarkeit der Großhirnrinde auch Gefäßerschaffung und dadurch Regulierung des frequenten Pulses samt Temperatursenkung herbeiführen, wodurch diese Mittel die reizende Wirkung des Cocains auf das sympathische System kompensieren. Die Atmung wird durch diese Mittel auch beruhigt.

Für die ersten Versuche verwendete ich Morphium und Chloralhydrat. Folgendes Experiment hat nun gezeigt, daß Morphium nicht das beste Mittel der Wahl ist. Einem Hunde von 10,7 kg, dem ich eine Cocaindosis von 0,03 g pro kg verabreicht hatte, injizierte ich eine Dosis von Chloralhydrat (2,25 g) und Morphium (0,04 g) mit dem entmutigenden Erfolge, daß der einsetzende Atemstillstand erst nach einstündiger künstlicher Atmung wieder behoben werden konnte. 12 Tage später wurde der Versuch mit derselben Dosis Chloralhydrat und Cocainum hydrochloricum aber ohne Morphium wiederholt, worauf kein Atemstillstand eintrat. Der 3. Versuch mit demselben Hunde im symptomfreien Stadium und nur mit derselben Dosis Cocai-

<sup>1)</sup> Feinberg und Blumenthal, Berl. klin. Wochenschr. S. 166. 1887.

<sup>2)</sup> Morita, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 78, 208. 1915.

num hydrochloricum pro kg (das Tier nahm während der 3 Versuchsperioden übrigens an Gewicht nicht ab) ergab ein kräftiges Krampfstadium mit nachfolgender Erschöpfung ohne komatöses Stadium und ohne Atemstillstand, ein schlagender Beweis dafür, daß der Atemstillstand im ersten Versuch auf Morphinum zurückgeführt werden muß. Morphinum ist also in derartigen Fällen meiner Ansicht nach zu verwerfen (siehe auch Versuch, Tabelle II).

Ich möchte hier bemerken, daß auch die ersten Versuche zur Ermittlung der geeigneten Dosierung der Gegenmittel in den Tabellen mit aufgenommen sind.

### Versuche an Hunden.

I. Versuche an Hunden zur Feststellung der tödlichen Cocaindosis. Sämtliche 22 Versuche zeigen, daß die tödliche Dosis bei 0,03 g pro kg liegt, wenn dieselbe subcutan mit 10proz. Cocainlösung eingeführt wird. Das Tier geht nach ca. 20 Minuten zugrunde. Als Beispiel dienen folgende Protokolle:

Versuchsnummer	Tag 1920	Gewicht des Tieres kg	Cocain. hydrochlor. 10proz. Lösung pro kg	Bemerkungen
1	7. V.	11,4	8,42 ccm = 0,08 g pro kg	4 <sup>h</sup> 10' Cocaininjektion; nach Aufregung 4 <sup>h</sup> 15' t. + kl. Kr. 4 <sup>h</sup> 20' Exitus in tet. Kr. Atemtod. Temperatur vor Beginn 39° C.
15 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 8, IV.	19. VIII.	12,6	8,8 ccm = 0,08 g pro kg	3 <sup>h</sup> Cocaininjektion; 3 <sup>h</sup> 06' nach mot. Erregung t. + kl. Kr. in tet. Kr. übergehend mit immer kürzeren Pausen bis 3 <sup>h</sup> 21'. Atemtod nach einem 20 Sek. langem tet. Kr. 3 <sup>h</sup> 20'. Temperat. 43° C.

### II. Positive Resultate mit Chloralum hydratum.

In den 9 Versuchen sind bei Nr. 1 0,02 g pro kg, Nr. 2—7 0,03 g pro kg und Nr. 8 und Nr. 9 0,04 g Cocainum hydrochloricum pro kg Tier gegeben. Nr. 1, Nr. 3—7 sind mit ca. 2 g Chloralhydrat (50proz. Lösung) 2—6 Minuten nach der Cocaininjektion behandelt worden. Nr. 2 und Nr. 8 haben Chloral ca. 10 Minuten vor der Cocaininjektion erhalten. Bei Nr. 9 wurde intravenös Chloral (0,1 g pro kg) nach der Cocaininjektion gegeben. Ein Tier, Nr. 1, 2, 4 im Prot., ist 3 mal mit ca. 12tägigen Zwischenräumen edesmal mit derselben Menge Chloral (das erstemal erhielt es freilich nur 0,02 g pro kg Cocain) behandelt worden. Es zeigte während der Intervalle keine Vergiftungssymptome und nahm auch an Gewicht nicht ab. Der im 2. Versuch eingetretene Atemstillstand ist mit Wahrscheinlichkeit auf Morphinum zurückzuführen. (Bei dem 10 kg wiegenden Hund trat der — nach einigen Minuten künstlicher Atmung behobene — Atemstillstand nämlich ein,

nachdem er 0,025 g Mo. und nur 1 g Chloral erhalten hatte.) Daß bei der vierten Wiederholung des Versuches das Leben nicht gerettet werden konnte, ist möglicherweise auf eine gesteigerte Empfindlichkeit dem Gifte gegenüber zu beziehen, weil die Cocainwirkung schneller eingetreten ist.

Als Beispiel dienen folgende 3 Versuche:

Versuchsnummer	Tag 1920	Gewicht des Tieres kg	Cocain. hydrochlor., 10 proz. Lösung	Chlor. hydr., 50 proz. Lösung g der Lösung	Bemerkungen
5 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 4., I.	8. VII.	10,8	3,1 ccm = 0,08 g pro kg	2	4 <sup>h</sup> 30' Cocaininjektion; 4 <sup>h</sup> 36' bis 4 <sup>h</sup> 38' Chloralhydratinjektion (vorher Steifigkeit in Hinterbeinen u. Unruhe); 4 <sup>h</sup> 45' Stlg. t. Kr., 4 <sup>h</sup> 48' schw. kl. Kr., 4 <sup>h</sup> 55' keine Kr., 5 <sup>h</sup> 20' wild, 5 <sup>h</sup> 25' erfolgloser Versuch auf die Beine zu kommen (Balancedstörung), 5 <sup>h</sup> 30' läuft mit Schwanken. 9. VII. 1920 anscheinend gesund.
3 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 1, IV und Nr. 5., I.	30. VI.	7,5	2,25 ccm = 0,08 g pro kg	2,25 = 0,8 g pro kg	4 <sup>h</sup> 10' Cocaininjektion, nach Erregung 4 <sup>h</sup> 15' subc. Injektion von Chloralhydrat (1,5 g); Steifigkeit in den Hinterbeinen. Sofort nach der letzten Injekt. 4 <sup>h</sup> 50' schläft, Tier 5 <sup>h</sup> 30' Atemstillstand, künstliche Atmung, nach einigen Minuten natürliche Atmung, 5 <sup>h</sup> 40' schw. t. + kl. Kr. 6 <sup>h</sup> Chloralhydrat (0,25 g subc.), 6 <sup>h</sup> 15' schw. Kr. Chloralhydrat (0,5 g sub.). 6 <sup>h</sup> 55' ruhig. 7 <sup>h</sup> 40' wirft sich umher. 8 <sup>h</sup> 40' läuft mit Balancedstörung. 10 <sup>h</sup> trinkt.
9 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 20., I.	12. VIII.	9,7	8,8 ccm = 0,04 g pro kg	1 (5 proz. Lösung intra- venös)	4 <sup>h</sup> 58' Cocaininjektion; 4 <sup>h</sup> 59' Erregung, Steifigkeit in den Hinterbeinen; 5 <sup>h</sup> 02' Chloralhydratinjektion (Ohrvene lauwarmer Lösung); nachher keine Unruhe, keine Krämpfe. Sitzt auf derselben Stelle bis 7 <sup>h</sup> 30', steht dann auf, schlapp, geht mit Schwanken. 13. VIII. 1920 frist, trinkt, symptomfrei.

Sämtliche Versuchstiere sind nach ca. 12 Tagen in symptomfreiem Zustand mit 0,03 g pro kg Cocainum hydrochloricum getötet worden.

Die 9 positiven Versuche beweisen, daß man mit 0,04 g Cocain pro kg vergiftete Hunde durch 0,1 g pro kg Chloralhydrat intravenös oder mit 0,03 g Cocain pro kg vergiftete Tiere durch ca. 0,2 g pro kg Chloralhydrat subcutan retten kann.

### III. Negative Resultate mit Chloralum hydratum.

In sämtlichen 5 Versuchen sind 0,03 g pro kg Cocain gegeben, mit Ausnahme von Nr. 5: 0,05 g pro kg. Versuch Nr. 1 ist mit 0,49 g pro kg Chloralhydrat behandelt mit dem Erfolg, daß der Tod nach 20 Stunden eingetreten ist, wahrscheinlich durch die zu hohe Chloraldosis verursacht. (Dies war mein erster Versuch.) Das 3. Tier hat wahrscheinlich einen Teil des Cocains intramuskulär oder vielleicht intravenös erhalten, weil nach Herausziehen



der Spritze eine Blutung eingetreten ist. Nr. 4 ist ein Schäferhund, der auf den 1. Versuch mit Scopolamin nur mit tonischen Krämpfen reagierte, bei einem Versuch mit Choralhydrat aber an einer früh eintretenden Cocainwirkung zugrunde gegangen ist. Bei Nr. 5 ist die Todesursache schwer festzustellen, da das Tier nach anfänglichen bedrohlichen Vergiftungserscheinungen sich beruhigte, am nächsten Morgen aber tot aufgefunden wurde. Es bleibt dahingestellt, ob vielleicht das Chloralhydrat trotz der hohen Dosis (1,25 g intravenös, 1,5 g subcutan) nicht genügend kräftig wirkt bei einer so hohen letalen Dosis Cocain (0,05 g pro kg) oder ob beide Mittel zusammen in hohen Dosen eine Atemlähmung herbeiführen.

#### IV. Positive Resultate mit Natrium diäthylbarbituricum.

In sämtlichen 13 Versuchen sind Nr. 1—4, Nr. 6 und 7 mit 0,03 g, Nr. 5, Nr. 8, 9 und 10 mit 0,04 g, Nr. 11 und 12 mit 0,05 g und Nr. 13 mit 0,06 g Cocain. hydrochlor. pro kg subcutan injiziert worden. Nr. 1 ist um so bemerkenswerter, als das Tier 9 Tage früher mit Chloralhydrat als Gegenmittel gegen Cocain behandelt worden ist (siehe Versuch Nr. 3), und damals außer vorübergehendem Atemstillstand wohl schwache, aber doch deutlich sowohl tonische als klonische Krämpfe aufgewiesen hat; in beiden Fällen war die Injektion gleich lange Zeit, 5 Minuten, nach der Cocaininjektion vorgenommen worden. Eine entsprechend höhere Dosierung des an und für sich wirksameren Veronalnatriums konnte hierbei vielleicht mitgewirkt haben, andererseits muß aber mit der bei Wiederholung der Versuche manchmal nachweisbaren gesteigerten Empfindlichkeit für Cocain gerechnet werden.

Als Beispiel diene folgendes Protokoll aus Tabelle IV (S. 61).

Sämtliche Tiere sind in symptomfreiem Zustand ca. 12 Tage nachher mit Cocainum hydrochloricum, 0,03 g pro kg, getötet worden.

Die Versuche mit 0,03 g pro kg Cocainum hydrochloricum glückten alle und die geeignetste subcutane Dosis von Veronalnatrium scheint mir die bei Nr. 6 gegebene zu sein, wo der Hund nach 0,12 g pro kg eine Stunde später munter herum lief, trotzdem die Injektion von Natrium diäthylbarbituricum 8 Minuten nach der Cocaininjektion vorgenommen wurde, und Steifigkeit in den Hinterbeinen schon eingetreten war. In dem Fall mit 0,04 g pro kg Cocainum hydrochloricum dürften 0,18 g pro kg Natrium diäthylbarbituricum subcutan die geeignetste Dosis sein. In Fall 5 mit 0,38 g pro kg scheint die Dosis zu groß gewesen zu sein, weil sie einen Schlaf von über 24 Stunden hervorgerufen hat; die am nächsten Tag während des Schlafes aufgetretenen schwachen Krämpfe könnte man vielleicht auf eine späte Wirkung des ungewöhnlich langsam aus dem Organismus ausscheidenden Cocains zurückführen. Diese Verlangsamung könnte eine Folge der hohen Veronalnatriumdosis sein, welche einerseits die Diurese stark vermindert, andererseits durch den tiefen Schlaf die Nahrungsaufnahme ausfallen läßt, sowie den ganzen Stoffwechsel herabsetzt. Die späteren Kontrolluntersuchungen mit Natrium diäthylbarbituricum allein bis 0,4 g pro kg sprechen auch dafür, daß eine direkte toxische Wirkung des Natrium diäthylbarbituricum nicht auszuschließen ist. Nr. 9 und 10 zeigen einen besonders günstigen Verlauf, trotz 0,04 g Cocain pro kg. Be-

Versuchsnummer	Tag 1920	Gewicht des Tieres kg	Cocain. hydro- chlor. 10 Proz. Lösung	Die injizierte Menge von Natr. diäthyl- barb. (16,6%)	Bemerkungen
1 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 5, I u. Nr. 8, II.	9. VII.	6,9	2,07 ccm = 0,08 g pro kg	2,2 g	Temperatur vor Beginn 38,9° C. 10 <sup>h</sup> 50' Cocaininjektion; 10 <sup>h</sup> 55' bis 10 <sup>h</sup> 59' Natrium-diäthylbarb. Injektion; während der letzten Injektion Unruhe u. t. Kr.; 11 <sup>h</sup> 10' Pulsfrequenz normal; Pendel- bewegung mit dem Kopfe; Stlg.; 11 <sup>h</sup> 25' ruhig, langsame Atmung; 11 <sup>h</sup> 30' schläft; 11 <sup>h</sup> 45' Tempe- ratur 38,4° C; Puls fortwährend regelmäßig, Frequenz ca. 140. 10. VII. 1920 schläft dauernd bis 1 <sup>h</sup> 45'; während d. Temperatur- messung geweckt, Temperatur 38,4° C. Puls regelmäßig, Fre- quenz ca. 160. Pendelbewegung mit dem Kopf und Kratzen einige Minuten. Schläft nach- her weiter. 8 <sup>h</sup> nachm. schläft. 11. VII. 1920 morgens wach, schlapp, frisst (mehr als 28 Stun- den geschlafen).
8 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 15, I.	10. VIII.	12,7	5 ccm = 0,04 g pro kg	2,8 g	Temperatur vor Beginn 38,5° C. 4 <sup>h</sup> 12' Natrium diäthylbarb. (1,5 g subc.). 4 <sup>h</sup> 27' Cocaininje- ktion; 4 <sup>h</sup> 30' Natrium diäthylbarb. (0,8 g subc.); 4 <sup>h</sup> 35' Steifigkeit in den Hinterbeinen, taumelt umher; 5 <sup>h</sup> schläft, Atmung er- schwert, 5 <sup>h</sup> 05' Temperatur 40,5° C; 5 <sup>h</sup> 15' etwas unregel- mäßige Atmung, 11. VIII. 1920 symptomfrei.
18 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 22, I.	20. X.	6,45	8,87 ccm = 0,06 g pro kg	0,75 g (intravenös 5proz. Lö- sung)	2 <sup>h</sup> 40' Cocaininjekt.; 2 <sup>h</sup> 46' t. + kl. Kr. 2 <sup>h</sup> 48' Natrium diäthylbarb. (Ohrvene lauwarmer Lösung); 3 <sup>h</sup> t. Kr.; 3 <sup>h</sup> 30' sitzt; 4 <sup>h</sup> 10' trinkt mit unnatürlichem Eifer (etwas benommen); seit 3 <sup>h</sup> 15' keine Kr. Puls und Atmung seit Na- trium diäthylbarb. Injektion regelmäßig; 8 <sup>h</sup> frisst. 21. X. 1920 schlapp, sonst symptomfrei.
12 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 19, I.	13. VIII.	6,95	8,5 ccm = 0,06 g pro kg	2 g (1,5 g Intra- venös 5proz. Lösung)	5 <sup>h</sup> 15' Cocaininjektion; 5 <sup>h</sup> 18' Na- trium diäthylbarb. (Ohrvene, lauwarmer Lösung); 5 <sup>h</sup> 30' das- selbe (0,5 g subc.); 5 <sup>h</sup> 32'—5 <sup>h</sup> 40' unregelmäßige Atmung t. Kr.; 5 <sup>h</sup> 45' schläft; 10 <sup>h</sup> äußerst schw. t. Kr.; 10 <sup>h</sup> 30' schläft, keine Kr. 14. VIII. 1920 symptomfrei.

sonders Nr. 9, wo die ganze Dosis Veronalnatrium intravenös injiziert wurde, obgleich Krampfschüden schon beim Einsetzen der Klammern an die Hauptwunde begonnen hatten. Das Tier läuft schon nach 1 Stunde herum und frisst nach 5 Stunden. In Nr. 11 und 12 gelingt, trotz 0,05 g Cocainum hydrochloricum pro kg, die Rettung durch intravenöse Injektion des Schlafmittels in einer Menge, die wahrscheinlich zwischen der doppelten

und dreifachen subcutanen Dosis liegt (eigene empirische Schätzung). Nr. 13 ist ein Fall, wo eine doppelt tödliche Dosis (0,06 g pro kg) gegeben worden ist, mit Rettung durch intravenöse Injektion von Natrium diäthylbarbituricum während eines Krampfstadiums. Daß die anderen Dosen Veronalnatrium unnötig hoch gewesen sind, zeigt auch dieser Versuch, in dem für 0,06 g Cocainum hydrochloricum pro kg als Gegenmittel 0,11 g pro kg Veronalnatrium intravenös injiziert, genügt haben, um gute Resultate zu erzielen. Es sind nämlich nur tonische Krämpfe nach der Injektion zu sehen. Der Hund trinkt schon nach 1 $\frac{1}{2}$  Stunden und frißt nach 5 $\frac{1}{2}$  Stunden. Mit Ausnahme von Mattigkeit ist er am nächsten Tage symptomfrei und bleibt es bis zum 15. Tage. An diesem Tage geht er nach der Hälfte der Cocaindosis (0,03 g pro kg) allein schon nach 12 Minuten zugrunde. Dieser Fall, nebst einem Fall, der später erwähnt wird — das ermutigende Ergebnis, Rettung durch intravenöse Injektion während einer Krampfpause — geben uns die Hoffnung, daß fast jeder ähnliche Fall von Cocainvergiftung auf diesem Wege zu retten wäre.

#### V. Negative Resultate mit Natrium diäthylbarbituricum.

Die Versuche mit Natrium diäthylbarbituricum bei der Vergiftung mit 0,04 g pro kg Cocainum hydrochloricum gaben anfangs negative Resultate

(2 Versuche). In Nr. 1 kann die Dosis 0,34 g pro kg kaum tödlich gewesen sein, wenn man sie mit Nr. 5 (IV) (0,38 g pro kg) vergleicht. Eher wurde die Injektion zu spät gemacht, denn klonische Krämpfe begannen gleichzeitig mit der Injektion. Ebenso haben wie vorher erwähnt meine späteren Experimente erwiesen, daß subcutane Injektionen von 0,4 g Veronalnatrium pro kg allein beim Hunde noch nicht tödlich wirken. Doch ist zu bemerken, daß diese Dosis toxische Symptome wie Erregung, einzelne Muskelzuckungen, Gleichgewichtsstörungen und Steifigkeit der Hinterbeine erzeugt. Fall 2 ist ebensowenig diskutabel wie Nr. 5, III, da der Verlauf nicht verfolgt werden konnte, nachdem das Tier morgens tot aufgefunden wurde. Es wäre möglich, daß die gegebene Dosis von 0,42 g pro kg zu groß war, wenn man mit individuellen Verschiedenheiten der Tiere rechnet; doch muß man die Frage der Todesursache offen lassen.

Die Ergebnisse mit Natrium diäthylbarbituricum sprechen ebenso wie die mit Chloralum hydratum dafür, daß das Resultat um so besser ist, je früher die Dosis gegeben wird und daß, sobald Krämpfe eintreten, die intravenöse Injektion am sichersten ist. Außerdem mußte bei Cocaindosen über 0,03 g pro kg entweder subcutan vorher oder intravenös nachher das Gegenmittel injiziert werden.

Daß alle Versuche mit 0,03 g pro kg Cocain glückten und auch 4 Versuche mit 0,04 g pro kg, 2 mit 0,05 g und 1 mit 0,06 g pro kg günstig verliefen, dürfte dafür sprechen, daß dieses Mittel dem Chloralum hydratum vorzuziehen ist. Die Tabellen weisen ja auch darauf hin, daß unter 15 Cocainfällen, welche mit Veronalnatrium behandelt wurden, nur zwei negative, unter 14 Cocainfällen mit Chloralum hydratum behandelt, 5 negative Fälle sind, obgleich die Dosis in sämtlichen chloralbehandelten Fällen nur einmal 0,05 g pro kg, zweimal 0,04 g pro kg, in den übrigen Fällen 0,03 g pro kg Cocain war. Es scheint eine größere therapeutische Wirkungs-

breite zu besitzen, da in keinem der mit teilweise zu hohen Dosen von *Natrum diäthylbarbituricum* behandelten Fällen ein Atemstillstand oder andere dem Mittel zuzuschreibende Vergiftungssymptome zu beobachten waren. (Siehe meine Ausführungen bei Fall 5, IV.)

Während die tödliche Dosis des *Veronalnatriums* subcutan eingeführt über 0,4 g pro kg liegt, liegt die toxische Dosis subcutan eingeführt über 0,2 g pro kg (mit Ausnahme von Balancestörung) und intravenös eingeführt über 0,1 g pro kg (mit Ausnahme von Balancestörung und einzelnen Muskelzuckungen). Es genügen 0,1 g pro kg subcutan, um eine letale Cocaindosis (0,03 g pro kg) aufzuheben.

VI. Die wenigen (5) Versuche mit *Scopolaminum hydrobromicum* zeigen denselben Verlauf und zwar: je früher die Injektion um so besser das Ergebnis. Bei den beiden negativen Versuchen zeigt Versuch 1 mit 0,04 g Cocain pro kg, daß diese Dosis entweder eine vorübergehende subcutane oder eine nachfolgende intramuskuläre bzw. intravenöse Injektion erfordert. Nr. 2 zeigt, daß eine vorübergehende Aufregung von großer Bedeutung ist, und daß, wenn Krämpfe gleichzeitig mit der subcutanen Injektion eintreten, der letale Ausgang zu erwarten ist, wenn nicht, wie in Fall 3 der positiven Tabelle mit 0,06 g Cocain pro kg eine intravenöse *Veronalnatrium*injektion die Situation rettet, daß die vorübergehende *Scopolamin*injektion nicht der ausschlaggebende Faktor ist, dafür spricht ein Fall, wo der letale Ausgang nach einer beinahe gleich starken *Scopolamin*injektion nicht verhindert werden konnte, trotzdem diese 3 Minuten früher ausgeführt wurden und die Cocaindosis geringer war (0,04 g pro kg gegen 0,06 g pro kg). Dem Tier, welchem 0,06 g pro kg Cocain gegeben wurden, wurde 9 Tage später zur Ermittlung der tödlichen Dosis 0,03 g Cocain pro kg eingespritzt. Es ging hierauf nach einer langen Krampfperiode zugrunde, die an und für sich letalen Ausgang erwarten ließ; die letzte Todesursache beruhte aber anscheinend auf Erstickung infolge Aspiration erbrochener Speisereste. Folgende Beschreibung aus dem Protokoll dürfte den Fall beleuchten.

Versuchsnummer	Tag 1920	Gewicht des Tieres kg	Cocain. hydrochlor. 10 proz. Lösung	Scopol. hydrobr. 10% Lösung	Bemerkungen
8 Dasselbe Tier wie in Versuch Nr. 18, Tab. I.	18. VIII.	5,8	8,86 ccm = 0,06 g pro kg	0,1 g (+ 0,25 g <i>Natrium diäthylbarb.</i> intrav. 5% Lösung)	6 <sup>h</sup> 30' Cocaininjektion; 6 <sup>h</sup> 36' beginnt Kr.; während des Kr. Versuch mit intrav. Injektion (Ohrvene) von <i>Scopol. hydrobr.</i> mißlungen, deshalb <i>Scopol. hydrobr. subcutan.</i> 6 <sup>h</sup> 45' tet. Kr.; während d. Pausen <i>Natrium diäthylbarb.</i> -Injektion (0,25 g <i>Vena saphena</i> ). 6 10 <sup>h</sup> dauernd Winseln. Ab 7 <sup>h</sup> Kratzen, Stlg., nach 10 <sup>h</sup> Schlaf. 14. VIII. 1920 schläft, frist. 15. VIII. 1920 symptomfrei mit Ausnahme v. Pupillendilatation.

### Versuche an Katzen.

Die wenigen Versuche an Katzen (es waren nur 3 erhältlich, alle mit Natrium diäthylbarbituricum behandelt) sprechen gleichfalls für die günstigen Eigenschaften dieses Mittels. Ein Tier wurde zweimal gerettet, das erstemal durch subcutane Injektion von Natrium diäthylbarbituricum 10 Minuten vor der Cocaininjektion, wobei unbedeutende Krämpfe zu sehen waren. Das zweitemal durch intravenöse Injektion von Natrium diäthylbarbituricum 1 Minute vor der Cocaininjektion. Ein anderes Tier wurde einmal ebenso behandelt wie das zuletzt beschriebene. Bei einem wiederholten Versuch der Lebensrettung eine Woche später sei bemerkt, daß bei der Injektion, die nach der Cocaininjektion vorgenommen wurde, nur ein Teil, 0,2 g intravenös gegeben werden konnte, der Rest wurde subcutan einverleibt, so daß die Gesamtmenge nach der vorerwähnten Berechnungsweise etwas mehr als 0,24 g pro kg betrug, während das andere Tier beim 2. Versuch etwas mehr als 0,17 g pro kg erhielt. Die ersten Tage war das Tier symptomfrei und zeigte erst am 5. Tage Krankheitserscheinungen, bestehend in Nahrungsverweigerung und abnormer Ruhe; am 6. Tage komatöser Zustand, Steifigkeit, verlangsamte Atmung; bei Hautreizen sehr schwache klonische Krämpfe. Bei Injektion von 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung keine Veränderung. Das Tier geht in Koma an Atemlähmung zugrunde. Die Herztätigkeit hörte erst 5 Minuten später als die Atmung auf. Erwähnt sei ein Enophthalmus mit ziemlich kleinen Pupillen am 5. Tage, der auf einer Funktionsherabsetzung der das Auge versorgenden Sympathicusfasern beruht, welche im Ganglion cerv. sup. ihr trophisches Zentrum haben. Eine Lähmung des betreffenden Sympathicus wäre zu vermuten, ist aber nicht mit Sicherheit anzunehmen. In einem anderen Versuch ist das Tier zweimal mit Natrium diäthylbarbituricum behandelt worden, und zwar im zweiten Versuch mit 0,21 g Veronalnatrium per kg, um den vorerwähnten Versuch zu wiederholen und um zu sehen, ob der komatöse Zustand zu erreichen wäre. Das war jedoch nicht der Fall. Das Tier ist sogar 10 Tage nachher symptomfrei geblieben, obgleich es während der Zeit eine Veronalnatriumdosis von 0,15 g pro kg allein bekommen hat. Das Koma dürfte daher in obengenanntem Falle wahrscheinlich nicht auf eine direkte toxische Veronalnatriumwirkung, sondern eher auf Cocainretention eines Tieres mit konstitutionellen Eigentümlichkeiten zurückzuführen sein.

Die Versuche mit Veronalnatrium allein haben gezeigt, daß die tödliche subcutane Dosis erst bei 0,3 g pro kg liegt. Zur Aufhebung der tödlichen Dosis Cocain (0,03 g pro kg) braucht man bei subcutaner Anwendung nur 0,11 g Veronalnatrium pro kg Tier.

### Versuche an Kaninchen.

Im Verlauf der tödlichen Vergiftungserscheinungen bei Kaninchen und Meerschweinchen tritt der Gedanke an Erstickungstod weniger in den Vordergrund, obwohl die Kohlensäureanhäufung mit Sicherheit den Tod beschleunigt. Eher wäre eine mit Schlafmitteln hervorgerufene Dämpfung

des Cocainreizes anzunehmen und in den günstigen Fällen daraus zu schließen, daß eine Atemlähmung einen vorhergehenden starken Cocainreiz erfordert. (Diese Frage will ich in einer späteren Arbeit noch eingehender erörtern.)

Die Kaninchenversuche haben auch keine so deutlichen Resultate ergeben wie die an Hunden und Katzen, weil die Tiere individueller als die vorhergehenden auf das Gift reagieren und weil letzteres langsamer aus dem Kreislauf ausgeschieden wird. Ich habe u. a. gesehen, daß z. B. weiße Kaninchen nach 0,1 g pro kg Cocain allein erst Steifigkeit, dann wochenlang Parese in den Hinterbeinen zeigten. Die sicher tödliche Dosis war 0,15 g Cocain. hydrochl. pro kg Tier. Die Versuche mit Natrium diäthylbarbituricum fielen besser aus als die mit Chloralum hydratum, wo die negativen Resultate die positiven überwiegen. Die höchste Cocaindosis, die durch Chloral unschädlich gemacht werden konnte, betrug 0,2 g pro kg, die höchste Cocaindosis, die durch Natrium diäthylbarbituricum unschädlich gemacht werden konnte, betrug 0,3 g pro kg (beide Gegenmittel intravenös sogleich nach der Cocaininjektion injiziert). Da Cocain bei Kaninchen sehr langsam ausgeschieden wird, muß bei wiederholter Injektion stets mit einer kumulativen Wirkung gerechnet werden. Zur Bestimmung der sicher tödlichen Dosis habe ich daher hier einen anderen Weg eingeschlagen müssen. Es wurden 5 unbehandelte Kaninchen zur Feststellung der tödlichen Cocaindosis ausgewählt, und zwar 3 davon von gleicher Rasse und gleichem Gewicht wie 3 behandelte, um die wahrscheinlich tödliche Dosis von letzteren ermitteln zu können. So wurde z. B. ein Tier nach 0,3 g pro kg Cocain mit Veronalnatrium gerettet und nach 1 Woche durch 0,15 g pro kg Cocain getötet. Ein gleiches unbehandeltes Tier wurde durch 0,2 g pro kg Cocain getötet.

Erwähnenswert ist auch ein Kaninchenexperiment mit Magnesiumsulfatlösung (5%) als Gegenmittel gegen Cocain. 10 ccm von subcutan injiziertem  $MgSO_4$  gegen 0,15 g pro kg Cocainum hydrochloricum geben eine symptomfreie Periode von 40 Minuten mit nachher wieder eintretenden Krämpfen und Tod nach 2 Stunden. Wie schon die Behandlung des Starrkrampfes mit diesem Mittel gezeigt hat, muß stetig eine Lösung von  $MgSO_4$  zugeführt werden, weil eine wechselseitige Verschiebung von Mg- und Ca-Ionen im Blut stattfindet<sup>1)</sup>. Bei Kaninchen hat die intravenöse Injektion von 10 bzw. 20 ccm 5proz. Lösung dieses Mittels sogleich den Tod herbeigeführt. Die Herzschläge haben nach der größeren Dosis, trotz langsamer Injektion, sogleich aufgehört.

### Versuche an Meerschweinchen.

In den vorliegenden Meerschweinchenversuchen sind alle Tiere mit Natrium diäthylbarbituricum behandelt. Die subcutane Injektion hat, wenn nicht vor der Cocaininjektion gegeben, ein negatives Resultat gezeigt. Die in 5 Fällen verabreichte Dosis von 0,06 g Cocain pro kg gab bei intravenöser Veronalnatriuminjektion in einem Fall positives,

<sup>1)</sup> Meyer und Gottlieb, *Experim. Pharmakologie* 1920, 4. Aufl., S. 33.

bei intramuskulärer Einführung in zwei Fällen positives und zwei Fällen negatives Resultat. Das Veronalnatrium wurde in den negativen Fällen erst nach Eintreten der Vergiftungssymptome gegeben. In einem Fall mit 0,07 g pro kg Cocainum hydrochloricum wurde sogleich nach der Cocaininjektion subcutan Veronalnatrium gegeben und dadurch die tödliche Dosis aufgehoben. Die Versuche mit Chloralum hydratum, welche nur mit 0,05 g pro kg Cocainum hydrochloricum geprüft wurden, ergaben alle negative Resultate.

Diese Versuche an Meerschweinchen sind nur ausgeführt zur Vervollständigung und weiteren Klarlegung der Erfahrung, daß bei allen untersuchten Tierarten eine tödliche Dosis Cocain unschädlich gemacht werden kann durch eine entsprechende Dosis eines Schlafmittels und daß sich das Veronalnatrium unter den versuchten Mitteln als das geeignetste erwiesen hat. Man könnte vielleicht auch andere Krampfgifte mit diesem Gegenmittel erfolgreich behandeln.

Selbstverständlich kann diese Versuchsreihe keine endgültige Schlußfolgerung beim Menschen zulassen. Es wäre evtl. möglich, daß man ein noch geeigneteres krampfausschaltendes Mittel finden könnte, und zur Ermittlung der Dosierung dürfte es von Vorteil sein, dem Menschen näher verwandte Tierarten, z. B. Affen heranzuziehen. — Immerhin ist ein Weg gezeigt, den es sich lohnt zu beschreiten und dessen nähere Erforschung ich mir vorbehalte.

#### Zusammenfassung.

Meine Versuche haben folgendes ergeben:

1. Die Wirkung einer sicher tödlichen Dosis Cocain kann durch geeignete krampfausschaltende Mittel aufgehoben werden.
2. Von den Schlafmitteln hat sich Natrium diäthylbarbituricum in den Versuchen dem Chloralum hydratum und Scopolaminum hydrobromicum bei weitem überlegen gezeigt, weil es die größte therapeutische Wirkungsbreite hat.
3. Die Mittel wirken um so sicherer, je früher sie gegeben bzw. je schneller sie resorbiert werden, daher kann bei schon eingetrettem Krampfstadium nur intravenöse Injektion in Frage kommen.

#### Literatur.

1. Grode, J., Über die Wirkung längerer Cocaindarreichung bei Tieren. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **67**, 1912. — 2. Heffter, A., Handbuch der exp. Pharmakol. II, 1. 1920. — 3. Kochmann, Martin, Beiträge zur Wirkung des Scopolamin. hydrobromicum. Arch. d. Pharmacodyn. (1904). — 4. Landois-Rosemann, Lehrbuch der Physiologie (1919). — 5. Meyer und Gottlieb, Die experim. Pharmakol. (1920). — 6. Poulsson, E., Lehrbuch der Pharmakol. (1920). — 7. Rifatwachdani, Das Schicksal des Cocains und Ekgonins im Organismus. Diese Zeitschr. **54**, 83 (1913).

# Die Cellulosegärung im Pansen des Ochsen und ihre Bedeutung für Stoffwechselversuche.

Von  
W. Klein.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftl. Hochschule.)

(Eingegangen am 14. Februar 1921.)

Die Krogh und Schmit-Jensensche Arbeit über die Cellulosegärungen im Pansen des Ochsen und ihre Bedeutung in der Berechnung der Stoffwechselversuche der Herbivoren gibt mir zu folgenden Bemerkungen zu den mitgeteilten Ergebnissen Anlaß.

1. Krogh und Schmit<sup>1)</sup> haben in Gärungsexperimenten nach den Beziehungen gesucht, die zwischen Methan und Gärkohlenensäure bestehen und fanden den Faktor  $\frac{\text{CO}_2}{\text{CH}_4} = 2,6$ . Damit berechneten sie dann die Gärkohlenensäure. Ich habe im Jahre 1914 bereits im Zuntzschen Institut diese Frage bearbeitet und auf direktem Wege den Faktor 2,6—2,73 (S. 225) ebenfalls gefunden<sup>2)</sup>.

2. Krogh hält es nun für unzulässig, bei Herbivoren den im Respirationsversuch nach Reignault-Reiset gefundenen respiratorischen Quotienten, der ja über die Einheit infolge der Gärkohlenensäure steigen muß, in die von Zuntz aufgestellte Formel zur Berechnung des kalorischen Wertes des Sauerstoffes, der von der Größe des respiratorischen Quotienten abhängt, einzusetzen und schlägt eine Korrektur vor. Um den wahren RQ und die zu korrigierende Kohlenensäuremenge zu finden, multipliziert Krogh die gefundene  $\text{CH}_4$  Menge mit seinem Faktor. Diese berechnete Gärkohlenensäure wird von der Gesamtkohlen-

<sup>1)</sup> Journ. of physiol. Sept. 20.

<sup>2)</sup> Zur Ernährungsphysiologie landwirtschaftlicher Nutztiere. Von Wilh. Klein. Diese Zeitschr. 62, 1916.



säure subtrahiert. Die jetzt gefundene Menge soll die wahre Gewebeskohlensäure sein. Nun ist der Faktor 2,6 nur ein Mittelwert — die Grenzwerte schwanken um 30% — und wird es auch bleiben, denn die Gärungen verlaufen absolut nicht gleichmäßig, d. h. das Verhalten der  $\text{CO}_2$  zum Methan verschiebt sich in weiten Grenzen. So bleibt also der korrigierte RQ auch nur ein Mittelwert. Ich habe deshalb im Zuntzschen Institut viele direkte Lungenrespirationsversuche nach dem Zuntzschen Prinzip angestellt, um den wahren RQ des Körpers zu bestimmen und damit die bei gleicher Fütterung nach dem Reignault-Reiset- und dem Pettenkoferprinzip angestellten Respirationsversuche verglichen. Die Differenz der Gesamtkohlensäure aus den Kanülenversuchen und die Gesamtmenge aus den Kastenversuchen ergab dann direkt die Menge der Gärkohlensäure. So können wir erst den korrigierten RQ wirklich auf seine Richtigkeit prüfen.

3. Die Kritik über die Zuntzsche Formel erstreckt sich auch darauf, daß Zuntz sie unter der Annahme aufgestellt hat, daß nur Kohlenhydrate und Fett im Stoffwechsel verbrennen, während ja der Wiederkäuer organische Säuren, hauptsächlich Buttersäure, umsetzt. Auch dieser Tatsache sind wir bereits gerecht geworden (S. 213 u. folg.) und haben den Unterschied, der durch die Rechnung bedingt ist, daß nur organische Säuren verbrannt werden, berechnet. Wir kommen dabei zu denselben Unterschieden im kalorischen Wert und damit der Energieberechnung für Sauerstoff, wie sie jetzt Krogh berechnet hat.

So hat also Zuntz bereits im Jahre 1914 die Grundlage und Berechnung für die Anwendung seiner Formel bei Herbivoren noch selbst gegeben.

---

# Studien über Oxydationskatalysen. I.

Von  
L. Karczag.

(Aus der III. Mediz. Klinik der Königlichen Universität Budapest.)

(Eingegangen am 15. Februar 1921.)

## I.

Bei gleichzeitiger Beobachtung mehrerer, nebeneinander verlaufenden, verwandten Erscheinungen kommen oft Tatsachen und Gesetzmäßigkeiten zum Vorschein, welche aus den einzeln ablaufenden Vorgängen nicht zu erkennen sind. Die Massenversuche — als wissenschaftliche Methode — sind dadurch ausgezeichnet, daß sie uns die Möglichkeit bieten, in kurzer Zeit den Zusammenhang wichtiger Erfahrungstatsachen zu erkennen und überblicken.

Ich habe mich bemüht, auf dem Gebiete der katalytischen Oxydationsvorgänge eine Methode ausfindig zu machen, welche zur Anstellung von Massenversuchen geeignet ist, und welche durch Einfachheit und sinnfällige Wiedergabe der ablaufenden Erscheinungen ausgezeichnet ist. Die Grundlage dazu bildete die bekannte Eigenschaft von Wasserstoffsuperoxyd, auf gewisse Farbstoffe in Gegenwart eines Katalysators entfärbend zu wirken. Es gelang mir durch Ausdehnung der katalytischen Oxydation auf eine große Anzahl von Farbstoffen diese gleichzeitig als Indicatoren der ablaufenden katalytischen Oxydationsprozesse zu verwenden und somit die Basis der Vergleichsmethode festzulegen.

Über die Entfärbung, welche den chemischen Grundprozeß der Methode bildet, möchte ich auf Grund zahlreicher Versuche bemerken, daß diese in einer katalytischen unregenerierbaren Zerstörung des Farbstoffmoleküls infolge Überoxydation besteht, also nicht in einer Überführung des Farbstoffes in die Leukoverbindungen, aus denen sie wieder zurückgewonnen werden können. Auf die näheren Beziehungen wird später

eingegangen, hier soll nur erwähnt werden, daß das Wasserstoff-superoxyd als Oxydationsmittel in den organisch-chemischen Arbeiten, sowohl auf rein wissenschaftlichem wie technischem Gebiet eine vielseitige Anwendung findet. — Die verschiedenartigen Arbeiten von Fenton, Neuberg, Ruff, Sommer usw. haben uns mit zahlreichen tiefgreifenden Umwandlungen bekannt gemacht, welche organische Körper durch Einwirkung von  $H_2O_2$  in Gegenwart von Eisensalzen als Katalysatoren erleiden.

Ich habe feststellen können, daß bei geeigneter Wahl des Katalysators sämtliche Farbstoffe unter Entfärbung durch  $H_2O_2$  oxydiert werden, daß hierbei die Natur des zugesetzten Katalysators eine hervorragende Rolle spielt, daß die Bedingungen, unter welchen die katalytischen Oxydationsprozesse ablaufen, für einen jeden der Katalysatoren charakteristisch sind.

Es kamen eine große Anzahl von einfachen und zusammengesetzten Farbstoffen in wässriger Lösung zur Verwendung, und zwar Repräsentanten der chemisch-biologisch und histologisch wichtigen Farbstoffklassen.

Die untersuchten Farbstoffe waren folgende:

- |                     |                       |
|---------------------|-----------------------|
| 1. Methylenblau     | 18. Trypanrot         |
| 2. Malachitgrün     | 19. Uranin            |
| 3. Fuchsin          | 20. Eosin             |
| 4. Neutralrot       | 21. Wasserblau        |
| 5. Bismarckbraun    | 22. Fuchsin S         |
| 6. Safranin         | 23. Rubin             |
| 7. Pyronin          | 24. Magentarot        |
| 8. Gentianaviolett  | 25. Lichtgrün         |
| 9. Vesuvin          | 26. Carmin            |
| 10. Pyrrholblau     | 27. Isanaminblau      |
| 11. Hämatoxylin     | 28. Methylviolett     |
| 12. Toluidinblau    | 29. Nilblau           |
| 13. Chrysoidin      | 30. Orange G          |
| 14. Krystallviolett | 31. Azur II           |
| 15. Dahlia          | 32. Giemsa            |
| 16. Lackmus         | 33. Triacid           |
| 17. Trypanblau      | 34. Methylgrünpyronin |

Von den Farbstoffen bereiteten wir uns eine 0,5 proz. Standardlösung und aus dieser eine 0,005 proz. Lösung. Zu den einzelnen Versuchen wurden 2 ccm der verdünnten Farblösung angewandt.

Als Oxydationsmittel diene das Merck'sche 30 proz. Perhydrol und das Richtersche 30 proz. Hyperol in 20 proz. Stammlösung. Auch wurde durch Bleicarbonat neutralisiertes  $H_2O_2$  zu den Versuchen verwendet. — Zu 2 ccm Farbstofflösung wurden 2 Tropfen  $H_2O_2$ -Lösung zugesetzt.

Als Katalysatoren kamen in 20 proz. Lösung Ferrosulfat, Ferrisulfat, Ferroaminsulfat, Ferriammoniumsulfat, Nickelsulfat, Mangansulfat, Kobaltnitrat, Ferrichlorid und Platinchlorid zur Verwendung. — Zu 2 ccm Farbstofflösung wurde 1 Tropfen des Katalysators zugesetzt.

#### Vorbereitung der Reagensglasversuche.

Es ergab sich aus zahlreichen Versuchen, daß geringfügige Verunreinigungen der benutzten Reagensgläser den Ausfall der Reaktionen wesentlich beeinflussen können, indem sie Wasserstoffsperoxyd zersetzen und dadurch die Farbstoffe mehrminder oder ganz entfärben und somit Katalysatorwirkungen vortäuschen.

Es war nun wichtig, diesen „Reagensglasfehler“ zu umgehen, was mir schließlich durch Auswahl der geeigneten Eproutetten, durch einen Kunstgriff gelang, welchen ich als „Eichung der Reagensgläser“ bezeichnen möchte. Man nimmt die Reagensgläser, so wie sie aus dem Handel zu beziehen sind, spült zuerst reichlich mit gewöhnlichem Leitungswasser, sodann mit destilliertem  $H_2O$  aus, gibt in diese 2 ccm einer 0,5 proz. Fuchsinlösung, fügt 2 bis 3 Tropfen einer 20 proz.  $H_2O_2$ -Lösung hinzu, erhitzt zum Sieden und läßt mindestens 16 Stunden lang stehen. Nach Ablauf dieser Frist bleibt die Farblösung in den „katalysatorreinen“ Eproutetten unverändert oder nur ganz unbedeutend angegriffen, während der Farbstoff in den „infizierten“ Eproutetten entweder vollständig entfärbt oder außerordentlich stark entfärbt wird. — Es erweisen sich oft 20—50% der Reagensgläser als unbrauchbar. Die Eichung der Reagensgläser erfolgte zu Hunderten. Die gezeichneten Standardeprouvetten wurden in peinlichst gereinigten Glasgefäßen unter Glasglocken sorgfältig aufbewahrt. Die einmal durch Metallkatalysatoren benutzten Reagensgläser wurden durch fremde Katalysatoren nie infiziert, da schon Spuren eines fremden Katalysators den Ausfall der Reaktion beeinflussen können. Je nach dem verwendeten Katalysator wurden die Reagensgläser

gesondert als Eisenprouvetten, Platineprouvetten, Kupferprouvetten usw. bezeichnet, aufbewahrt und verwendet. Auch bei dieser äußerst wichtigen Arbeitsweise begegnete ich „Versagern“. Ich halte es für außerordentlich wichtig, daß man bei Arbeiten mit Katalysatoren unter ähnlichen Kautelen vorgeht wie bei den Arbeiten mit Bakterien. Wir wissen doch, daß Spuren von Katalysatoren merkliche Wirkungen ausüben können; Eisensulfat katalysiert noch in einer Menge von 0,0000001 g die Oxydation von Jodkalium (Meyer); Platinsol wirkt in einer Menge von  $\frac{1}{300\,000}$  mg zersetzend auf  $\text{H}_2\text{O}_2$  ein (Bredig); Kupfersulfat katalysiert die Oxydation von Natriumsulfit in einer Menge von einem Milliardstel Mol im Liter (Titoff) usw. Es ist mir im Anfange nicht einmal passiert, daß ich bei Benutzung von nicht geeichten gebrauchten Reagensgläsern zu ganz entgegengesetzten Resultaten kam, welche ich schließlich durch die oben angegebene Methode endgültig beseitigte und dadurch das Gefühl einer großen Sicherheit in meiner Arbeitsweise bekam.

Über das Verhalten der Katalysatoren gegen  $\text{H}_2\text{O}_2$  sei folgendes vorausgeschickt.

Ferri- und Ferrosalze zersetzen sowohl saures wie neutrales  $\text{H}_2\text{O}_2$  schon in der Kälte unter mittelstarker Gasentwicklung, welche durch Erwärmen intensiver wird.

Kupfersulfat zersetzt unter sichtbarer Sauerstoffentwicklung in der Kälte weder neutrales noch saures  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Beim Erhitzen setzt jedoch fast plötzlich eine stürmische Gasentwicklung ein, die intensiver erscheint als die durch das Eisen in der Hitze bewirkte.

Kobaltnitrat zeigt bei saurer Reaktion des  $\text{H}_2\text{O}_2$  keine katalytische Wirkung und eine äußerst schwache, bald zum Stillstand kommende Sauerstoffentwicklung in der Siedehitze. — Die Zersetzung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  geht jedoch bei neutraler Reaktion schon in der Kälte spontan vor sich und ist als eine gute zu bezeichnen. Durch die Wärme wird die Intensität der Sauerstoffentwicklung stark begünstigt, die Heftigkeit der Zersetzung gleicht derjenigen des Cu.

Mangansulfat spaltet  $\text{H}_2\text{O}_2$  in saurer Lösung weder in der Kälte noch in der Wärme. — Auch neutrales  $\text{H}_2\text{O}_2$  wird durch Mn-Sulfat in der Kälte nicht zersetzt. Beim Erwärmen dagegen entfaltet dieses Salz eine kräftige katalytische Wirkung.

Nickelsulfat zeigt in der Kälte keine Wirkung sowohl gegen saures wie neutrales  $\text{H}_2\text{O}_2$ . — Beim Erhitzen ist eine kaum nennenswerte, bald zum Stillstand kommende Sauerstoffentwicklung wahrzunehmen, welche in neutralem Milieu etwas ausgeprägter erscheint.

Platinchlorid verhält sich gegen  $\text{H}_2\text{O}_2$  im allgemeinen wie Nickel.

Aus dem Verhalten der untersuchten Katalysatoren sind also folgende Haupteigentümlichkeiten zu erkennen:

Eisen zersetzt  $H_2O_2$  in der Kälte unabhängig von der Reaktion.

Kupfer zersetzt  $H_2O_2$  in der Wärme.

Kobalt zersetzt  $H_2O_2$  sowohl in der Kälte und in der Wärme nur bei neutraler Reaktion.

Mangan zersetzt  $H_2O_2$  nur bei neutraler Reaktion in der Wärme.

Nickel und Platin zersetzen  $H_2O_2$  nur äußerst schwach in der Siedehitze unabhängig von der Reaktion.

Über das Verhalten der Farbstoffe gegen  $H_2O_2$  möchten wir aus unseren Versuchen folgende Resultate mitteilen. Wie bereits erwähnt, gestalteten sich die Versuche dermaßen, daß die Farbstoffe ohne Rücksicht auf ihre chemische Konstitution oder Eigenschaften zu je 2 ccm oder 0,005 proz. Lösung in geeichte Reagensgläser kamen, sodann der Reihe nach mit einem Tropfen Katalysator und 2 Tropfen saurer  $H_2O_2$  versetzt wurden. Die Proben wurden nun bis zum Sieden erhitzt und 24 Stunden lang stehen gelassen.

Unverändert blieben: Azur II, Gentiana, Giemsa, Methylviolett, Eosin, Uranin, Fuchsin, Fuchsin S, Malachitgrün, Magentarot, Methylenblau, Methylgrünpyronin, Nilblau, Hämatoylen, Orangegegelb, Pyronin, Safranin, Versuvin, Toluidinblau, Wasserblau, Bismarckbraun, Chrysoidin, Krystallviolett, Neutralrot, Isaminblau, Pyrrholblau, Trypanrot, Trypanblau.

Als Versager galten Lichtgrün, Dahlia, Neutralrot, welche vollständig entfärbt, und Rubin, welches stark entfärbt wurde. Beim Wiederholen des Versuches mit letztgenannten Farbstoffen erwiesen sich jedoch auch diese resistent gegen  $H_2O_2$ , die Farbe der Dahlia wurde minimal heller, stärker entfärbt wurde Lichtgrün, unverändert blieben Neutralrot und Rubin.

Wir können also aus unseren Versuchen den allgemeinen Schluß ziehen, daß die geprüften Farbstoffe gegen gewöhnliches reines Wasserstoffsuperoxyd beständig sind.

### Einfluß der Oxydatoren.

#### Ferriverbindungen.

Da die Ferroverbindungen spezielle Eigentümlichkeiten zeigen, werden diese an anderer Stelle behandelt und möchten

im folgenden die beobachteten Phänomene in Gegenwart von Ferriverbindungen als Katalysatoren mitteilen.

Das System in den Reagensgläsern bestand aus 2 ccm Farblösung, 1 Tropfen des 20 proz. Katalysators, 2 Tropfen der 20 proz.  $H_2O_2$ -Lösung.

Die Versuche zerfallen in zwei Serien; in der einen wurde das System bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen (je nachdem die Versuche erforderten, spätestens bis 24 Stunden) und die Ablesung geschah in bestimmten Zeitabständen, wie dies noch an Beispielen erörtert wird. — Die Proben der zweiten Serie wurden bis zum beginnenden Sieden erhitzt, sich selbst überlassen und in gleicher Weise (bis zu 24 Stunden) beobachtet. Die bei Zimmertemperatur angestellten Versuche werden als „Kälteversuche“, die Versuche mit erhitzten Proben als „Wärmeversuche“ bezeichnet. — Als Beispiel eines Kälte- und Wärmeversuches mit Eisenchlorid als Katalysator sei folgendes angeführt:

a) Kälteversuch: Die Entfärbung der Farbstoffe erfolgt unter spontan einsetzender Oxydation in folgender Reihenfolge:

bei ca. 20" Dahlia;

bei ca. 1' Toluidinblau, Fuchsin S, Methylgrünpyronin;

bei ca. 1–2' Malachitgrün, Chrysoidin, Lichtgrün, Nilblau, Gentiana, Methylenblau, Trypanrot, Bismarckbraun, Magentarot, Uranin, Safranin, Azur II, Methylviolett, Pyronin, Trypanblau.

bei ca. 2–3' Fuchsin, Krystallviolett, Triacid, Neutralrot;

bei ca. 4–5' Rubin, Eosin, Congo, Giemsa.

b) Wärmeversuch. — Das gleiche System wie oben nach Zusammenlegen der einzelnen Bestandteile sofort erwärmt. Die Entfärbung sämtlicher Farbstoffe erfolgt fast momentan.

Die Kälte- und Wärmeversuche wurden mit neutraler  $H_2O_2$  wiederholt und zeigten das gleiche Verhalten. Auch Versuche mit Ferrisulfat führten zum gleichen Ergebnis.

Wir können daher aus unseren Beobachtungen den allgemeinen Schluß ziehen, daß

1. Ferrioxydator durch seine Eigenschaft, Farbstoffe schon in der Kälte zu oxydieren, ausgezeichnet ist. Die Oxydationen verlaufen schnell, jedoch in einer meßbaren Zeit;

2. daß der katalytischen Oxydationsentfärbung durch  $Fe^{+++}$  sämtliche Farbstoffe ohne Rücksicht auf Konstitution, chemische und physikalisch-chemische Eigenschaften ausnahmslos anheim-

fallen. Diese Einflüsse machen sich nur in der verschiedenen Dauer des Entfärbungsvorganges geltend;

3. daß die Reaktion (saure, neutrale) des Milieus hierbei keine Rolle spielt. -

Nun ging ich zu dem nächsten biologisch äußerst wichtigen Katalysator über.

### Kupfer (als Sulfat).

Dieser Oxydator zeigte wesentliche vom Eisen abweichende Eigenschaften. Die Oxydationen erfolgen in der Kälte sehr langsam. Entfärbungen, welche in der Kälte durch  $Fe'''$  in einigen Minuten beendet werden, dauern oft mehrere Stunden.

So ergab ein Kälteversuch folgendes Resultat.

Versuch angesetzt 28. X. 1920 9<sup>h</sup> 15'.

28. X. 1920 10<sup>h</sup> 45' entfärbt: Lichtgrün, Toluidinblau, Dahlia, Trypanrot; bräunliche Trübung: Chrysoidin, Fuchsin, Magentarot, Methylgrünpyronin; Niederschläge: Giemsa, Isaminblau, Pyrrhoblau.

12<sup>h</sup> 00' entfärbt Orange G, Pyronin.

1<sup>h</sup> 30' entfärbt Fuchsin S.

3<sup>h</sup> 30' entfärbt Gentiana, Uranin, Methylenblau, Nilblau, Krystallviolett, Trypanblau; Niederschlag: Rubin, Eosin.

5<sup>h</sup> 30' entfärbt Safranin, Neutralrot.

29. X. entfärbt Azur II, Wasserblau, noch Spur gefärbt Methylviolett.

Es sei hervorgehoben, daß es bei diesen Versuchen *in vitro* nicht darauf ankommt, die Entfärbungszeit der einzelnen Farbstoffe genau zu bestimmen, daß wir zunächst nur die allgemeinen Eigenschaften der Oxydatoren zu erkennen beabsichtigen. Der Zusammenhang zwischen Substrat und Katalysatorwirkung wird in anderen Versuchsreihen studiert.

Wärmeversuch. Beim Erwärmen erfolgt die Entfärbung sämtlicher Farbstoffe unter stürmischer Gasentwicklung fast momentan.

Die Kälte maskiert also die *par excellence* katalytische Fähigkeit des Kupfers, welche durch die Wärme energisch in Gang gesetzt wird. Trotzdem die Entfärbungen in Gegenwart von neutralem  $H_2O_3$  infolge Trübung und Niederschlagsbildung (Hydroxyde) nicht so einwandfrei weiter vor sich gehen wie bei Anwendung von saurem  $H_2O_3$ , kann die Grundeigenschaft des Kupfers, in der Kälte nur langsam, in der Wärme aber äußerst energisch zu wirken, auch bei dieser Versuchsanordnung leicht erkannt werden.

Wir können daher über den Oxydator Kupfer folgendes Resümee ziehen:

1. Kupfer ist ein Wärmeoxydator *par excellence*, da die Oxydation sämtlicher Farbstoffe in der Wärme fast augenblicklich eintritt.

2. Kupfer ist ein langsamer Kälteoxydator; die Oxydationen



erfolgen langsam und allmählich. Die große katalytische Kraft des Cu wird also durch Kälte maskiert.

3. Die Reaktion des Milieus beeinflusst obige Eigenschaften nicht wesentlich.

#### Kobalt (als Nitrat).

In der Reihe der untersuchten Katalysatoren soll im nächsten Kobalt behandelt werden. Wir möchten das Resultat der Kälte- und Wärmeversuche, welche mit saurem  $H_2O_2$  angestellt wurden, hervorheben und erwähnen, daß sich dieser Oxydator in der Kälte indifferent verhält und in der Wärme einen unwesentlichen Einfluß hatte.

So zeigte der Kälteversuch in 24 Stunden folgendes Resultat:  
entfärbt: Lichtgrün;

wenig angegriffen: Fuchsin S, Malachitgrün, Magentarot, Vesuvin, Wasserblau, Dahlia.

unverändert: Azur II, Gentiana, Methylviolett, Uranin, Fuchsin, Methylenblau, Methylgrünpyronin, Pyronin, Nilblau, Safranin, Toluidinblau, Bismarckbraun, Chrysoidin, Krystallviolett, Neutralrot, Pyrrolblau, Trypanrot, Rubin.

Niederschlag: Giemsa, Eosin, Kongo, Isaminblau, Trypanblau;  
Farbwechsel: Trypanblau lila.

Der Wärmeversuch, welcher mit den gleichen Farbstoffen angestellt wurde, zeigte folgendes Resultat:

Versuch 30. X. 1920 9<sup>h</sup> 15'.

9<sup>h</sup> 30' entfärbt Gentiana, Toluidinblau.

1<sup>h</sup> 30' entfärbt Wasserblau, Pyronin, Dahlia, Triacid; stark entfärbt: Kongo.

31. X. 1920 9<sup>h</sup> 00' wenig angegriffen: Azur, Methylenblau, Methylgrünpyronin, Nilblau, Orange G, Toluidinblau, Bismarckbraun, Trypanblau;

unangegriffen: Giemsa, Methylviolett, Eosin, Uranin, Fuchsin, Fuchsin S, Malachitgrün, Lichtgrün, Magentarot, Safranin, Wasserblau, Chrysoidin, Krystallviolett, Neutralrot, Wasserblau, Pyrrholblau, Trypanrot, Rubin.

Das Verhalten des Kobalts in Gegenwart von neutralem Wasserstoff-superoxyd ist ein wesentlich anderes. So werden in der Kälte Entfärbungen bewirkt, welche viel langsamer wie die des Eisens, aber schneller wie die des Kupfers verlaufen. Als Beispiel, welches als Stichprobe galt, soll folgender Kälteversuch angeführt werden:

Malachitgrün	entfärbt in 2 Minuten;
Neutralrot	„ in 8 Minuten;
Fuchsin S	„ in 30 Minuten;
Dahlia	„ in 60 Minuten;
Fuchsin, Methylenblau	„ in 95 Minuten;
Eosin	„ in 120 Minuten.

Wärmeversuche ergaben, daß alle Farbstoffe unter heftiger Sauerstoffentwicklung zersetzt werden. Es sei noch erwähnt, das in den Proben allmählich eine leichte Opalescenz entsteht, die violette Farbe des Co verschwindet, und nach langem Stehenlassen bemerkt man in allen Proben, den bräunlich-flockigen Niederschlag von Co-Hydroxyd.

Wir können über Kobalt als Oxydator zusammenfassend folgendes aussagen:

1. Kobalt verhält sich bei neutraler Reaktion des Milieus wie Kupfer bei saurer; wirkt jedoch in der Kälte intensiver wie Kupfer und ist ein kräftigerer Kälteoxydator als dieses, jedoch schwächer wie Fe<sup>+++</sup>. Als Wärmeoxydator ist es dem — bezüglich der Energie der ausnahmslos erfolgten Oxydationen der Farbstoffe — Kupfer gleichgestellt.

2. Durch die saure Reaktion wird das katalytische Vermögen des Kobalts gehemmt.

#### Mangan (als Sulfat).

Da die Versuche mit Mangansulfat sowohl in der Kälte wie in der Wärme in saurem Milieu mit fast gleichem Ergebnis wie bei Kobalt in saurer Reaktion verliefen, erübrigt es sich, die einzelnen Versuche anzuführen.

Abgesehen von Niederschlagsbildung in den Proben, Kongo, Carminblau, Pyrrholblau und dem Farbwechsel (grün), welche das Triacid zeigte, blieben die Farbstoffe — mit wenigen Ausnahmen von Fuchsin, Orange G, Wasserblau und Rubin, welche unvollständig entfärbt wurden — unangegriffen. Die Versuche mit neutralem Wasserstoffsperoxyd zeigten, daß Mangan nur in der Wärme als energischer Oxydator zu wirken vermag und an der Kälte eine unwesentliche Wirkung entfaltet.

So erwies Mangan als Oxydator folgende Grundeigenschaften:

1. Gute wärmekatalytische Kraft nur bei neutraler Reaktion gegenüber sämtlichen Farbstoffen.

2. Hemmung durch saure Reaktion des angewandten Wasserstoffsperoxyds.

Wir haben in den vorangehenden Versuchen Katalysatoren kennengelernt, welche in der Wärme die Entfärbung aller Farbstoffe ausnahmslos bewirken. In den nächst untersuchten Katalysatoren Platin und Nickel werden wir nun Oxydatoren kennenlernen, welche in der Wärme elektive Eigenschaften besitzen, indem sie gewisse Farbstoffe unter Entfärbung auflösen, andere aber (mehr oder minder) unberührt lassen.

So zeigte ein Kälteversuch mit Platinchlorid folgende Ergebnisse:

3. X. 1920 11<sup>h</sup> 00'. Nach Zusatz von Platinchlorid Dichroismus in den Proben: Azur, Gentiana, Giemsa, Hämatoxylin, Fuchsin, Rubin, Methylenblau; Trübung: Eosin, Safranin; Niederschlag: Neutralrot.

11<sup>h</sup> 30' Farbwechsel: Trypanrot, rötlichbraun.

1<sup>h</sup> 30' entfärbt: Lichtgrün; heller: Methylviolett, Dahlia, Isaminblau, Pyrrholblau; Niederschlag: Azur II, Giemsa, Gentiana, Fuchsin, Methylenblau, Nilblau, Vesuvin, Safranin, Krystallviolett, Neutralrot, Rubinrot.

1. X. 8<sup>h</sup> 00' stark entfärbt Malachitgrün, Methylgrünpyronin, Trypanblau; wenig entfärbt Eosin, Uranin, Chrysoidin.

Der Wärmeversuch mit den gleichen Farbstoffen zeigte folgendes Verhalten: bei mäßiger Reaktion bzw. Sauerstoffentwicklung fast momentan entfärbt: Methylviolett, Malachitgrün, Magentarot, Pyronin, Toluidinblau, Dahlia, Isaminblau, Pyrrholblau, Triacid, Orange G, Methylgrünpyronin in  $\frac{1}{2}$ —1 Minute entfärbt: Trypanrot, Eosin, Wasserblau; in 5 Minuten entfärbt: Chrysoidin; nach 24 Minuten noch nicht entfärbt: Fuchsin S, Uranin, Trypanblau, Safranin, Neutralrot, Methylenblau.

Gegen neutrales  $H_2O_2$  verhält sich Platin sowohl in der Kälte wie in der Wärme in gleicher Weise. In den angestellten Stichproben werden sofort entfärbt: Methylviolett, Malachitgrün, Lichtgrün, Dahlia, Eosin; in 1—2 Minuten Fuchsin; nach 24 Stunden nicht entfärbt: Fuchsin S, Safranin, Neutralrot, Methylenblau.

Das Platin erwies sich also:

1. unabhängig von der Reaktion des Wasserstoffsperoxyds als ein sehr schwacher Kälteoxydator;

2. als elektiver Wärmeoxydator, indem bei der einen Gruppe von Farbstoffen die katalytische Entfärbung, wie bei anderen Oxydatoren (Fe, Cu, Co, Mn) fast momentan erfolgt, wogegen eine andere Gruppe nur äußerst langsam, selbst nach 24 Stunden schwer angegriffen wird.

Das letzte Glied der untersuchten Katalysatoren ist das Nickel. Dieses Metall wurde als Sulfat in den Versuchen verwendet.

In der Kälte zeigte es sich sowohl gegen sauren wie neutralen  $H_2O_2$ , als ein äußerst schwacher Oxydator. So zeigte ein Kälteversuch mit saurem  $H_2O_2$  folgenden Verlauf:

7. XI. 1920 8<sup>h</sup> 00'.

12<sup>h</sup> 00'. Alle Farbstoffe unverändert.

2<sup>h</sup> 00'. Entfärbt: Fuchsin S, Lichtgrün.

4<sup>h</sup> 00'. Entfärbt: Uranin. — Farbwechsel: Triacid (grün). — Niederschlag: Eosin, Isaminblau, Pyrrholblau.

8<sup>h</sup> 00'. Stark entfärbt: Dahlia; etwas entfärbt: Gentiana, Fuchsin, Malachitgrün, Bismarckbraun.

8. XI. 8<sup>h</sup> 00'. Farblos: Trypanblau, und alle oben angeführten Farbstoffe; stark entfärbt: Methylviolett, Magentarot, Methylpyronin; wenig entfärbt: Wasserblau, Krystallviolett, Trypanrot, Rubin; fast unverändert: Azur II, Gentiana, Giemsa, Methylenblau, Nilblau, Safranin, Chrysoidin, Neutralrot; Niederschlag: Bismarckbraun, Vesuvin.

Das gleiche System zeigte im Wärmeversuch folgendes Verhalten:

8. XI. 8<sup>h</sup> 15'. Binnen 2—3 Minuten entfärbt: Malachitgrün, Lichtgrün, Toluidinblau, Wasserblau, Dahlia, Trypanblau; binnen 5 Minuten entfärbt: Uranin (sehr stark), Fuchsin, Fuchsin S; binnen 10 Minuten entfärbt: Bismarckbraun.

10<sup>h</sup> 45'. Sehr stark entfärbt: Gentiana, Magentarot, Methylenblau, Methylgrünpyronin, Nilblau, Chrysoidin, Krystallviolett, Isaminblau. Trypanrot. — Niederschlag: Vesuvin.

12<sup>h</sup> 45'. Sehr stark entfärbt: Gentiana.

4<sup>h</sup> 00'. Entfärbt: Methylenblau, Nilblau.

9. XI. 8<sup>h</sup> 00'. Stark gefärbt: Magenta, Methylgrünpyronin, Trypanblau, Trypanrot; entfärbt: Krystallviolett. — Die oben angeführten haben noch verschwindenden Stich wenig angegriffen; Azur II, Methylviolett, Eosin, Safranin, Neutralrot, Pyrrholblau, Triacid.

Nickel zeigte also ähnliche Wirkungen wie Platin, jedoch mit dem Unterschied, daß die Wärmereaktionen noch träger und langsamer verlaufen. Bei Gegenwart von neutralem Wasserstoff-superoxyd ist das gleiche Verhalten des Katalysators zu beobachten. Wie bereits hervorgehoben, handelt es sich bei diesen Versuchen nicht um die Feststellung der Beziehungen zwischen Katalysator und Substrat, sondern um die Erkennung der allgemeinen Eigenschaften der Oxydatoren. Deshalb werden die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution der Farbstoffe und ihrer Sauerstoffresistenz diesmal nicht erforscht und werden erst späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Es soll über Nickel als Oxydator die Feststellung genügen: daß es im allgemeinen ähnliche Wirkungen ausübt und ähnliche Eigenschaften besitzt wie Platin. Der Hauptcharakter besteht in dem elektiven Oxydationsvermögen gegenüber Farbstoffen. Die unangegriffenen Farbstoffe sind bei Platin und Nickel meist identisch.

## II.

Bei genauer Beobachtung der Phänomene, welche sich bei den beschriebenen Reaktionen abspielen, lassen sich noch scharfe Unterschiede in der Wirkungsweise der Oxydatoren aufstellen. Wenn wir die Oxydatoren mit Wasserstoffsuperoxyd in Berührung bringen, so geschieht bei einem Teil schon in der Kälte

(Fe, Co bei neutraler Reaktion) eine sichtbare gute Sauerstoffentwicklung, welche bei einer anderen Gruppe nur in der Wärmestürmischerweise einsetzt (Cu, Mn bei neutraler Reaktion) und schließlich bei einer dritten Gruppe auch in der Siedehitze ausbleibt bzw. nur minimal auftritt und schnell zum Stillstand kommt (Pt und Ni).

Betrachten wir nun die Entfärbungsprozesse, welche in Gegenwart der Oxydatoren bewirkt werden, so erkennen wir bei ein und demselben Oxydator vom Typus des Fe drei Gruppen von Entfärbungen:

1. Solche, welche mit regelmäßiger guter Sauerstoffentwicklung beginnen, welche an Intensität allmählich zunimmt, jedoch die Entfärbung des Farbstoffes nur langsam erfolgt. Beispiel: Eosin-Eisenchlorid- $H_2O_2$ .

2. Entfärbungen, bei welchen die Sauerstoffentwicklung und Entfärbung (fast) parallel beginnt und fortschreitet. Beispiel: Methylenblau, Fuchsin S, Lichtgrün, Neutralrot, Safranin, Fuchsin, Methylviolett und Fe als Katalysator.

3. Entfärbungen, welche ohne Sauerstoffentwicklung ablaufen. Diese setzt entweder nur in den spätesten Stadien oder nach vollzogener Entfärbung ein. Beispiel: Dahlia, Malachitgrün und Fe als Katalysator.

Es soll folgender Versuch die Verhältnisse illustrieren:

$H_2O_2$  5%;  $FeCl_3$  20%; Farblösung 0,01%.

Gruppe	Entfärbung in Min.	Inkubation der Sauerstoffentwicklung	
I	Eosin	60	3
	Methylviolett	10	$7\frac{1}{2}$
	Fuchsin S	13	7
	Lichtgrün	11	6
II	Neutralrot	$13\frac{1}{2}$	11
	Safranin	21	$12\frac{1}{2}$
	Fuchsin	25	11
	Methylenblau	47	20
III	Dahlia	5	8
	Malachitgrün	$1^{20}$	$4\frac{1}{2}$

Wie aus diesem Versuch ersichtlich ist, besteht zwischen Entfärbung des Farbstoffes und der sichtbaren Sauerstoffentwicklung kein unbedingter Zusammenhang. Zwei Prozesse verlaufen also nebeneinander in verschiedenen zeitlichen Reihenfolgen:

1. die sichtbare Sauerstoffentwicklung, erkenntlich in dem Auftreten von Gasblasen;

2. die Verankerung des aktiven Sauerstoffs an das Substrat, erkenntlich in der Entfärbung des Farbkörpers.

Es ist also ersichtlich, daß ein und derselbe Oxydator je nach dem Substrat einmal vorwiegend oxydaseartig (Gruppe III), das andere Mal vorwiegend katalaseartig (Gruppe I) wirken kann, und bei einer Gruppe (II) beide Eigenschaften parallel entfaltet.

Aus diesen und zahlreichen ähnlichen Beobachtungen, von den verschiedensten Katalysatoren ausgehend, glaube ich behaupten zu dürfen, daß es eine Gruppe von Oxydatoren gibt, welche oxydase- und katalaseartige Eigenschaften in sich vereinigen, wie Fe, Ca, Mn, Co, und Oxydatoren, welche vornehmlich nur oxydaseartige Wirkung entfalten, wie die untersuchten Salze von Pt und Ni in wässriger Lösung.

Die Oxydatoren der ersten Gruppe entfalten also je nach der Natur des Substrates oxydase- + katalaseartige Wirkung. — Diese Wirkung kommt bei Eisen schon in der Kälte zum Vorschein, wie dies aus dem obigen Versuch zu ersehen ist. Gleich verhält sich Co bei neutraler Reaktion. Kupfer und die schlechten Kälteoxydatoren wirken in der Kälte mehr oxydaseartig, in der Hitze oxydase- und katalaseartig, Platin und Nickel wirken sowohl in der Kälte wie in der Hitze nur oxydaseartig. — Dieses Verhalten der beiden letztgenannten Metalle würde auch die elektive Wirkung dieser Oxydatoren — welche in dem ersten Teil dieser Mitteilung eingehend erörtert wurde — erklären.

Wenn wir nun das Verhalten der Oxydatoren gegenüber Wasserstoffsperoxyd ins Auge fassen, wie wir dies in der Einleitung dieses zweiten Teiles besprochen haben, so können wir schon aus diesem auf die katalase- + oxydaseartige Wirkung des Katalysators Fe, Ca, Co, Mn bzw. auf die oxydaseartige von Pt, Ni einen Schluß ziehen. Ob diese Wirkungen den Oxydatoren tatsächlich zukommen, darüber unterrichten uns die Art und Weise der katalytischen Entfärbungen der Farbstoffe.

Katalysatoren, welche auf alle Farbstoffe nur oxydaseartig wirken, also den Sauerstoff selbst in der Siedehitze ohne merkliche Sauerstoffentwicklung mit dem Farbstoffmolekül verankern

und dadurch die Entfärbung bewirken, sind elektive Katalysatoren. Wir können daher auf Grund unserer Untersuchungen im allgemeinen zwei Arten von Oxydatoren unterscheiden.

1. Oxydatoren I. Ordnung. Sie besitzen katalase- und oxydaseartige Wirkung (Fe, Ca, Co, Mn). Je nach der (chemischen) Natur des Substrates prävaliert bezüglich der zeitlichen Reihenfolge der eine oder der andere Komponent. — Sie sind bezüglich ihrer weiteren Grundeigenschaften Kälte- bzw. Wärmeoxydatoren, haben jedoch die Eigenschaft gemein, daß sie in der Wärme alle Farbstoffe unter guter oder stürmischer Sauerstoffentwicklung ausnahmslos zerstören. Eisen bewirkt schon in der Kälte die Oxydation sämtlicher Farbstoffe mit großer, aber meßbarer Geschwindigkeit. Eine Gruppe der Oxydatoren I. Ordnung kann in ihrer Wirkung durch die saure Reaktion des Wasserstoffsperoxyds eine Hemmung erfahren, sie sind also säureempfindlich (Co, Mn), während die andere Gruppe in ihrer Tätigkeit durch die saure Reaktion nicht beeinflußt wird: Fe, Cu.

2. Oxydatoren II. Ordnung. Sie besitzen oxydaseartige Wirkung, sind nicht säureempfindlich und oxydieren nicht alle Farbstoffe in der Siedehitze. Sie sind die elektiv wirkenden Katalysatoren: Pt und Ni.

Wir wollen bei dieser Gelegenheit auf die Theorie der geschilderten vielartigen Oxydationswirkungen nicht näher eingehen, da wir noch im speziellen die Beziehungen der Oxydatoren zu dem Substrat mit Hilfe der Farbstoffmethode studieren möchten. Auch sind Untersuchungen auf gleichem Gebiet von Baudisch im Gange, und wir wollen daher das Arbeitsgebiet dieses Forschers nicht berühren.

Wir möchten nur einige Beobachtungen und Versuchsergebnisse mitteilen, welche die bereits besprochenen ergänzen und welche die sichtbaren Veränderungen betreffen, die die Farblösungen nach Zusatz des Metallsalzes erfahren. Wir haben zwar die Versuche mit dem zweiwertigen Eisen aus später zu erörternden Gründen nicht mitgeteilt, möchten aber übersichtlichkeitshalber einige Beobachtungen mit dem Ferrooxydator an dieser Stelle mitteilen, wobei nur kurz erwähnt werden soll, daß das zweiwertige Eisen ebenfalls zu den Oxydatoren I. Ordnung gehört, oxydasekatalaseartig wirkt, schon in der Kälte alle Farbstoffe zersetzt und gegen Säuren nicht empfindlich ist.

Nach Zusatz von Eisenchlorid zu den Farblösungen erfahren die Farblösungen folgende Veränderungen:

1. Die Grundfarbe wird dunkler: Gentiana, Methylviolett, Fuchsin S, Methylenblau, Pyronin, Orange G, Safranin, Chrysoidin, Neutralrot, Rubin.

2. Die Grundfarbe wird heller: Lichtgrün.

3. Farbwechsel: Eosin, Uranin, Malachitgrün, Toluidinblau, Wasserblau, Krystallviolett.

Ferrisulfat zeigt viel geringfügigere Veränderungen:

1. Heller werden: Gentiana, Methylviolett, Fuchsin, Lichtgrün, Magentarot, Rubinrot, Dahlia, Pyrrholblau.

2. Farbwechsel: Uranin, Malachitgrün.

Ferrosulfat verändert die Farben nicht.

Da alle diese Metallsalze die gleiche katalysatorische Kraft besitzen, so scheint die Folgerung berechtigt, daß aus den sichtbaren Veränderungen der Farbstoffe, welche diese nach dem Zusammenbringen mit den Metallsalzen erfahren, auf ihre katalytische Fähigkeit nicht geschlossen werden kann. Auch die weiteren Beobachtungen mit anderen Katalysatoren führten uns zum gleichen Ergebnis. Kupfer, Kobalt, Ni bewirken nur ganz vereinzelt einen Intensitätswechsel der Farben, Mn verändert die Farben nicht im geringsten, wogegen Platin ein Hellerwerden von Fuchsin, Magentarot, Dahlia und einen Farbwechsel bei Malachitgrün, Lichtgrün, Krystallviolett bewirkt.

Bezüglich Niederschlagsbildung nach den Metallsalzzusätzen in der Kälte sollen noch folgende Beobachtungen mitgeteilt werden:

Ferrosulfat gibt Trübungen und ungefärbte Niederschläge mit: Methylviolett, Uranin, Eosin, Fuchsin, Lichtgrün, Magentarot, Dahlia, Neutralrot, Rubin; farbige Niederschläge: Vesuvin, Bismarckbraun, Wasserblau, Trypanrot.

Ferrisulfat gibt Niederschläge mit Eosin, Isaminblau.

Eisenchlorid gibt Niederschläge mit Uranin, Wasserblau, Isaminblau, Pyrrolblau, Trypanrot, Kongo.

Mangansulfat gibt Niederschläge: Isaminblau, Pyrrolblau, Trypanblau, Kongo, Eosin, Giemsa.

Kobaltnitrat gibt Niederschläge: Isaminblau, Pyrrolblau, Trypanblau, Kongo.

Kupfersulfat gibt Niederschläge: Isaminblau, Pyrrolblau, Trypanblau, Uranin.

Nickelsulfat gibt Niederschläge: Uranin, Pyrrolblau, Kongo.

Platinchlorid gibt Niederschläge: Azur II, Gentiana, Giemsa, Methylviolett, Nilblau, Safranin, Vesuvin, Krystallviolett, Neutralrot.

Wenn wir nun die gewonnenen Resultate dieser Mitteilung überblicken, können wir zusammenfassend folgendes hervorheben:

Es wurde eine Methode mitgeteilt, welche zum Studium vieler Fragestellungen auf dem Gebiete der Oxydationskatalysen geeignet erscheint. Die Methode besteht im wesentlichen in der



**Oxidationsmittel erster Ordnung.** Sie besitzen unvollständige Oxidationsstufen wie Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>1+</sup>. Alle Oxidationsmittel sind in wässriger Lösung vorhanden, bestimmt über rechtliche Kennzeichen, die eine oder mehrere Komponenten sind. Die Oxidationsmittel sind Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>1+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, Mn<sup>7+</sup>, Cr<sup>6+</sup>. Die Oxidationsmittel sind in wässriger Lösung durch die saure Reaktion des Wasserstoffperoxyds

**Oxidationsmittel zweiter Ordnung.** Pt und Ni. Sie besitzen unvollständige Oxidationsstufen und sind in wässriger Lösung gegen die saure Reaktion des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und sind elektrolytische Katalysatoren.

# Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenprotoplasmas durch Neutralsalze.

## I. Mitteilung.

Von

Hugo Kahho (Dorpat, Estland).

(Eingegangen am 17. Februar 1921.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Hitzegerinnung von Eiweißlösungen durch die Einwirkung verschiedener Neutralsalze im weiten Maße beeinflusst wird<sup>1)</sup>. Es schien mir wichtig, diese Beeinflussung beim Plasma der Pflanzenzellen zu untersuchen, um dadurch eine nähere Vorstellung über die Beziehungen der lebendigen Substanz von Pflanzen zu den Neutralsalzen zu gewinnen. Das Problem der Neutralsalzwirkungen ist nicht nur in nährphysiologischer Hinsicht von Bedeutung, sondern es hat ein allgemein biologisches Interesse.

Als Versuchsobjekt benutzte ich *Tradescantia zebrina*. Die Epidermisschnitte der Unterseite des Blattes kamen in die zu untersuchende Lösung in ein kleines Gefäß, mit zwei parallelen Wänden aus dünnem Glas. Dieses Gefäß tauchte in ein Wasserbad — eine mit zwei Glaswänden versehene Messingwanne —, in dem Wasser unter stetiger Umrührung erhitzt wurde, so daß die Temperatur in beiden Gefäßen gleich war.

Die Beobachtungen wurden mittels eines Horizontalmikroskops gemacht<sup>2)</sup>.

Die Versuchsanordnung ist auf der Abb. 1 schematisch dargestellt.

<sup>1)</sup> Wo. Pauli, Pflügers Arch. 78, 315. 1899. Pauli und Handowsky, Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol. 11, 415. 1908. R. Höber, daselbst S. 52.

<sup>2)</sup> Vgl. W. W. Lepeschkin, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 28, 99, 1910.

gleichzeitigen Anwendung einer großen Anzahl von Farbstoffen, welche gleichzeitig als Indicatoren der ablaufenden Oxydationsprozesse dienen, indem sie durch Wasserstoffsperoxyd in Gegenwart von Metallsalzen als Katalysatoren sowohl qualitativ wie zeitlich differente Veränderungen erleiden. — Das Arbeiten erfordert besondere Vorsichtsmaßregeln, die „Eichung der Epruvetten“, da sonst durch fremde Einflüsse Katalysatorwirkungen vorgetäuscht werden können.

Die Farbstoffe selbst sind gegen reines Wasserstoffsperoxyd beständig, nur in Gegenwart von Katalysatoren erfolgt ihre Oxydation unter Entfärbung. Der chemische Grundprozeß ist die Zerstörung des Farbmoleküls infolge einer Überoxydation mit aktivem Sauerstoff.

Die Farbstoffe selbst können schon in der Kälte nach Zusatz der Metallsalze Veränderungen des Farbtons und der Farbe sowie Niederschlagsbildungen erleiden, aus denen jedoch auf die Natur des Katalysators nicht geschlossen werden kann.

Die Einwirkung von Metallsalzen auf Wasserstoffsperoxyd (sauer und neutral) lassen dreierlei Arten von Katalysatoren erkennen: 1. solche, die schon in der Kälte eine sichtbare gute Sauerstoffentwicklung bewirken: Fe, Co bei neutraler Reaktion; 2. solche, die das Wasserstoffsperoxyd in der Wärme stürmisch zerlegen: Ca, Mn bei neutraler Reaktion; 3. solche, die das  $H_2O_2$  selbst in der Siedehitze kaum angreifen: Ni, Pt.

Das System: Farbstoff + Oxydator + Wasserstoffsperoxyd ließ die Eigenschaften der Oxydatoren erkennen, welche sich als allgemeine Grundeigenschaften der Oxydatoren entpuppten, da sie mit den Ergebnissen des Systems Wasserstoffsperoxyd + Oxydator übereinstimmen, die sonst in sich allein die allgemeine Natur der Oxydatoren nicht voraussehen ließen.

Die einzelnen Oxydatoren ließen folgendes erkennen:

Der Ferrioxydator oxydiert ausnahmslos alle Farbstoffe, ohne Rücksicht auf chemische Konstitution und Reaktion, schon in der Kälte. Die konstitutionellen Einflüsse der Farbstoffe machen sich in der Dauer des Entfärbungsvorganges geltend.

Der Kupferoxydator ist ein langsamer Kälteoxydator, da diese langsam und allmählich erfolgen. Die Entfärbungen werden aber in der Kälte in allen Farbstoffen momentan bewirkt. Die Schnelligkeit des Oxydationsvorganges in der Wärme läßt

die konstitutionellen Eigenschaften der Farbstoffe nicht hervortreten. Die Kälte maskiert also die par excellence wärme-katalytische Kraft des Cu. Die Reaktion des Milieus beeinflußt die entwickelten Eigenschaften des Oxydators nicht wesentlich.

Der Kobaltoxydator ist säureempfindlich, entfaltet daher seine katalytischen Eigenschaften bei neutraler Reaktion. Er ist ein kräftigerer Kälteoxydator als Cu, schwächer jedoch wie Fe<sup>'''</sup>. Als Wärmeoxydator ist er bezüglich der Energie der ausnahmslos erfolgten Oxydationen der Farbstoffe dem Kupfer gleichzustellen.

Der Manganoxydator ist ebenfalls säureempfindlich und entfaltet eine gute wärme-katalytische Kraft, wie Cu und Co.

Die Oxydatoren Platin und Nickel sind indifferent gegen die saure Reaktion und sind elektive Oxydatoren, indem sie gewisse Farbstoffe unter Entfärbung zerstören, wogegen sie andere selbst in der Siedehitze (fast) unberührt ließen. Die unangegriffenen Farbstoffe sind bei Platin und Nickel nicht identisch.

Wir haben demnach drei Typen von Oxydatoren kennengelernt; erstens solche, die sämtliche Farbstoffe schon in der Kälte unter guter Sauerstoffentwicklung oxydieren. Das sind die „Kälteoxydatoren“ Fe und Co bei neutraler Reaktion. Ferner haben wir eine zweite Gruppe von Oxydatoren gefunden, welche die Entfärbung sämtlicher Farbstoffe in der Wärme unter stürmischer Sauerstoffentwicklung glatt bewirken. Diese werden die „Wärmeoxydatoren“ genannt, zu ihnen gehört das Kupfer, Co und Mn bei neutraler Reaktion. Schließlich erkannten wir in Platin und Nickel einen dritten Typ der Oxydatoren, welche als „elektive“ bezeichnet werden, da sie die Farbstoffe selbst in der Siedehitze nicht ausnahmslos angreifen, viele sogar (fast) unberührt lassen.

Schließlich erkannten wir durch Beobachtung des Systems Farbstoff + Oxydator + Wasserstoffsuperoxyd, daß die Typen: Kälte- und Wärmeoxydatoren, oxydase- + katalaseartige Wirkungen besitzen, während die elektiv wirkenden nur oxydaseartige Wirkung entfalten, indem sie den Sauerstoff selbst in der Siedehitze ohne merkliche Gasentwicklung mit dem Farbstoffmolekül verankern und dadurch die Entfärbung bewirken. — Auf Grund unserer Erfahrungen haben wir also die Oxydatoren in zwei Gruppen eingeteilt:

**Oxydatoren erster Ordnung.** Sie besitzen katalase- + oxydaseartige Wirkung wie Fe, Cu, Co, Mn. Je nach der chemischen Natur des Substrates prävaliert bezüglich der zeitlichen Reihenfolge der eine oder andere Komponent. Die Oxydatoren I. Ordnung sind Kälte- (Fe, Co) oder Wärmeoxydatoren (Fe, Cu, Co, Mn). Einige von ihnen, Co, Mn, erfahren eine Hemmung durch die saure Reaktion des Wasserstoffsperoxyds.

**Oxydatoren zweiter Ordnung,** Pt und Ni. Sie besitzen oxydaseartige Wirkung, sind unempfindlich gegen die saure Reaktion des  $H_2O_2$  und sind elektiv wirkende Katalysatoren.

---

# Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenprotoplasmas durch Neutralsalze.

## I. Mitteilung.

Von

Hugo Kahho (Dorpat, Estland).

(Eingegangen am 17. Februar 1921.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Hitzegerinnung von Eiweißlösungen durch die Einwirkung verschiedener Neutralsalze im weiten Maße beeinflusst wird<sup>1)</sup>. Es schien mir wichtig, diese Beeinflussung beim Plasma der Pflanzenzellen zu untersuchen, um dadurch eine nähere Vorstellung über die Beziehungen der lebendigen Substanz von Pflanzen zu den Neutralsalzen zu gewinnen. Das Problem der Neutralsalzwirkungen ist nicht nur in nährphysiologischer Hinsicht von Bedeutung, sondern es hat ein allgemein biologisches Interesse.

Als Versuchsobjekt benutzte ich *Tradescantia zebrina*. Die Epidermisschnitte der Unterseite des Blattes kamen in die zu untersuchende Lösung in ein kleines Gefäß, mit zwei parallelen Wänden aus dünnem Glas. Dieses Gefäß tauchte in ein Wasserbad — eine mit zwei Glaswänden versehene Messingwanne —, in dem Wasser unter stetiger Umrührung erhitzt wurde, so daß die Temperatur in beiden Gefäßen gleich war.

Die Beobachtungen wurden mittels eines Horizontalmikroskops gemacht<sup>2)</sup>.

Die Versuchsanordnung ist auf der Abb. 1 schematisch dargestellt.

<sup>1)</sup> Wo. Pauli, Pflügers Arch. **78**, 315. 1899. Pauli und Handowsky, Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol. **11**, 415. 1908. R. Höber, daselbst S. 52.

<sup>2)</sup> Vgl. W. W. Lepeschkin, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **28**, 99, 1910.

Beobachtet man eine in 0,5 n-KBr-Lösung plasmolysierte *Tradescantiazelle* bei beständigem Erwärmen der Lösung, so sieht man, daß der kugelförmige Protoplast allmählich, mit der Erhöhung der Temperatur an Volumen zunimmt. Kurz vor dem Tode, ungefähr bei 65°, wird das Anschwellen des Plasmaschlauches besonders auffallend, bis die Plasmamembran, ungefähr bei 67—68°, einen Riß bekommt, der Inhalt herausgeschleudert wird und der ganze Protoplast zu einem kleinen ungefärbten Klumpen zusammenschrumpft. Man bekommt dabei den Eindruck, als würde der Plasmaschlauch durch die eindringende Salzlösung über die Elastizitätsgrenze ausgedehnt und der Zellsaft beim Platzen aus dem entstandenen Riß in Form eines breiten Strahls herausgepreßt.

Ein solches Platzen des Plasmaschlauches ist ein exaktes Kriterium für die Bestimmung der Koagulationstemperatur der Plasmamembran. Es ist gut ausgeprägt in Lösungen von Rhodaniden, Jodiden, Bromiden, Nitraten, Chloriden und Acetaten der Alkalimetalle und nur ausnahmsweise bei den Tartraten und  $K_2SO_4$ . Dagegen in Lösungen von Citraten und Sulfaten des Na und  $NH_4$ , in erster Linie aber von Chloriden des Mg, Ba und Sr, bleibt die Form des Plasmaschlauches unverändert. Er behält die

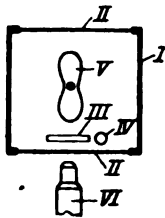


Abb. 1.

kugelige Gestalt auch bei solchen Temperaturen, wo das Plasma sicher koaguliert ist. Infolge des Gesagten war es nicht möglich, den Koagulationsgrad, identisch dem in KBr, in den erwähnten Lösungen exakt zu bestimmen. Die ermittelten Zahlen haben hier nur einen annähernden Wert, worauf in den Tabellen hingewiesen ist.

Da nun Schnitte, die von verschiedenen Blättern derselben Pflanze oder sogar von verschiedenen Stellen desselben Blattes hergestellt waren, etwas abweichende Resultate gaben, so war darauf zu achten, bei den Versuchen, wo die Koagulationswerte von einer Reihe der Anionen oder Kationen der Salze bestimmt wurden, die Schnitte von naheliegenden oder symmetrisch gelegenen Stellen des Blattes zu nehmen.

Um den Einfluß der Individualität des Plasmas der verschiedenen Zellen möglichst auszugleichen, wurden Mittelwerte aus fünf Bestimmungen genommen.

Obwohl das oben beschriebene Platzen der Protoplaste ein gutes Merkmal für die Bestimmung der Koagulationstemperatur bietet, vollzieht sich dieser Vorgang bei allen Zellen des Schnittes in einer kurzen Zeit, während deren aber die Temperatur der Lösung ungefähr um einen Grad steigt. Um hier in verschiedenen Lösungen vergleichbare Werte zu bekommen, empfiehlt es sich,

Tabelle I.  
Koagulationstemperaturen von Plasma *Tradescantia zebrina*.  
Konzentration der Lösungen 0,5 n.

Lösung	I. Serie				II. Serie			
	Koagulationsgrad		Mittel	Entfärbung d. Schnittes in °	Koagulationsgrad		Mittel	Entfärbung d. Schnittes in °
	I	II	in °		I	II	in °	
				Ungef. bei				Ungef. bei
KCNS	65,8	67,2	66,5	73	65,6	68,8	67,2	75
KBr	65,0	66,8	65,9	72	67,3	69,4	68,3	79
KJ	70,0	71,0	70,5	76	71,4	73,0	72,2	81
KNO <sub>3</sub>	70,5	72,0	71,2	78	70,0	74,4	72,2	82
KCl	71,2	73,8	72,0	78	73,5	74,8	74,1	78
KC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	74,8	76,8	75,8	86	75,5	77,0	76,2	89
	Ungefähr bei				Ungefähr bei			
K-tartrat	72,5	76,0	74,2	87	73,2	75,0	74,1	85
K-citrat	73,7	76,5	75,1	91	75,2	77,6	76,4	90
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	75,2	78,0	76,6	89	74,0	75,4	74,7	90
	III. Serie				IV. Serie			
				Ungef. bei				Ungef. bei
KCNS	67,5	68,7	68,1	73	65,5	69,7	67,6	75
KBr	67,0	69,5	68,2	77	66,8	67,2	67,0	74
KJ	68,2	70,0	69,1	74	68,3	71,5	69,9	77
KNO <sub>3</sub>	69,0	70,8	69,9	77	70,4	72,2	71,3	78
KCl	71,4	72,8	72,1	76	73,2	74,7	73,9	84
KC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	72,3	73,6	72,9	79	73,5	75,0	74,2	82
	Ungefähr bei				Ungefähr bei			
K-tartrat	72,0	74,5	73,2	80	73,7	76,8	75,2	80
K-citrat	73,5	75,5	74,5	87	73,0	76,0	74,5	85
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	74,6	77,5	76,0	94	77,2	79,6	78,4	93
	V. Serie				Mittelwerte aus I.—V. Serie			
				Ungef. bei				Ungef. bei
KCNS	67,6	68,8	68,2	73	66,4	68,5	67,5	74
KBr	66,5	69,0	67,7	75	66,5	68,4	67,5	75
KJ	68,0	69,8	68,9	76	69,2	71,1	70,1	75
KNO <sub>3</sub>	71,2	72,4	71,8	76	70,2	72,5	71,3	76
KCl	73,4	75,0	74,2	79	72,5	74,2	73,3	79
KC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	73,4	75,5	74,4	81	73,9	75,6	74,7	83
	Ungefähr bei				Ungefähr bei			
K-tartrat	72,5	76,0	74,2	87	72,8	75,7	74,2	84
K-citrat	73,5	75,5	74,5	87	73,7	76,3	75,0	88
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	75,4	77,8	76,6	93	75,3	77,7	76,5	92



bei einem jeden Versuch zwei Bestimmungen zu machen und aus diesen Mittelwerte zu nehmen. In der umstehenden Tabelle bedeutet der „Koagulationsgrad I“ die Temperatur in Graden C, bei der das Platzen der Protoplaste im Schnitte beginnt, d. h. bei einer kleineren Anzahl der Zellen stattfindet und der „Koagulationsgrad II“ — wenn dieser Vorgang massenhaften Charakter trägt. Außerdem sind auch die Temperaturen angegeben, bei denen die völlige Entfärbung des ganzen Schnittes erfolgt. Die Zeit vom Beginn der Erwärmung bis zur Entfärbung der Schnitte betrug durchschnittlich 15 Minuten.

Es wurden Normallösungen angewandt. Das Krystallwasser der Salze wurde stets berücksichtigt.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wird die Hitzekoagulation beim Tradescantiaplasmata durch Kalisalze nach der folgenden Reihenfolge gefördert: CNS, Br > J > NO<sub>3</sub> > Cl > Tartrat, C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>3</sub> > Citrat > SO<sub>4</sub>. Da diese Reihenfolge schon in den Lösungen von 0,2n sich geltend macht, fragt es sich, ob bei den höheren Konzentrationen keine Unregelmäßigkeiten in derselben oder eine Umkehrung der ganzen Reihe statthaben würde. Denn bei der Hitzezerinnung der Eiweißlösungen sind solche Umkehrungen der Anionenreihe mit den Konzentrationsänderungen der Salze von Wo. Pauli<sup>1)</sup> und R. Höber<sup>2)</sup> beobachtet worden. Wenden wir uns den Resultaten der Versuche mit einer höheren Konzentration der K-Salze zu.

Tabelle II.  
Konzentration der Lösungen 0,8n.  
Mittelwerte aus fünf Serien der Versuche.

Lösung	Koagulationsgrad		Mittel in °	Entfärbung d. Schnittes in °
	I	II		
KCNS	60,7	63,7	62,2	Ungef. bei 71
KJ	65,8	68,2	67,0	74
KNO <sub>3</sub>	68,7	70,7	69,7	75
KCl	71,3	73,1	72,2	77
KC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	72,6	74,4	73,5	79
	Ungefähr bei			
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	75,2	77,4	76,3	89

<sup>1)</sup> Wo. Pauli, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 53. 1907.

<sup>2)</sup> R. Höber, daselbst **11**, 35. 1908. — Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. **1914**. 324.

Wie die Tabelle zeigt, bleibt die Reihenfolge der Anionen bei 0,8 n dieselbe, wie bei 0,5 n, nur treten die Wirkungsunterschiede der Salze schärfer hervor.

Die Natrium- und Ammoniums Salze verhalten sich gleich denen des Kaliums, wie das aus der unten angeführten Tabelle III folgt.

Tabelle III.

Beeinflussung der Koagulationstemperatur von Plasma durch Na- und NH<sub>4</sub>-Salze.

Mittelwerte aus fünf Serien der Versuche.

Konzentr. der Lösungen 0,8 n.

Konzentr. der Lösungen 0,6 n.

Lösung	Koagulationsgrad		Mittel	Entfärbung des Schnittes	Lösung	Koagulationsgrad		Mittel	Entfärbung des Schnittes
	I	II	in °	in °		I	II	in °	in °
				Ungef. bei					Ungef. bei
NaCNS	66,3	68,7	67,5	74	NH <sub>4</sub> CNS	65,2	67,4	66,3	73
NaJ	70,2	71,8	71,0	76	NH <sub>4</sub> J	69,9	71,9	70,9	78
NaNO <sub>3</sub>	70,3	71,8	71,0	76	NH <sub>4</sub> Br	70,8	72,4	71,6	77
NaCl	72,8	73,1	72,9	77	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	70,4	72,8	71,6	77
NaC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	74,9	76,8	75,8	81	NH <sub>4</sub> Cl	72,1	74,2	73,1	78
			Ungef. bei					Ungef. bei	
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	—	77	90	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	74,8	77,6	76,2	90

In der folgenden Tabelle sind alle Mittelwerte von allen von uns ermittelten Koagulationstemperaturen angeführt.

Jede Zahl ist das Mittel aus den Daten von fünf Versuchen.

Betrachten wir die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Plasmas von verschiedenen Ionen der Salze, so sehen wir, daß hier sowohl die Anionen, wie auch die Kationen von Bedeutung sind. Es liegt also eine additive Wirkung der Salze vor. Die Anionen fördern die Koagulation nach den Reihenfolgen:

Kalium — CNS > Br > J > NO<sub>3</sub> > Cl > Tartrat, CH<sub>3</sub>COO > Citrat > SO<sub>4</sub>.

Ammonium — CNS J > Br > NO<sub>3</sub> > Cl > SO<sub>4</sub>.

Natrium — CNS > Br > J > NO<sub>3</sub> > Cl > CH<sub>3</sub>COO > SO<sub>4</sub>.

Es sind die bekannten lyotropen Reihenfolgen, die bei vielen physiologischen und physiko-chemischen Prozessen von Einfluß sind<sup>1)</sup>. Neuerdings hat F. Boas diese Reihenfolge bei der Beeinflussung der alkoholischen Gärung durch Neutralsalze gefunden<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Vgl. Höber, Physikalische Chemie der Zelle usw. 1914, S. 308.

<sup>2)</sup> Fr. Boas, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 38, 351. 1921.

## Übersichtstabelle.

Lösung	Konzentration					
	0,2 n	0,3 n	0,4 n	0,5 n	0,6 n	0,8 n
KCNS	—	67,2	—	67,5	64,4	62,2
NH <sub>4</sub> CNS	—	—	69,6	69,9	66,3	65,2
NaCNS	—	—	—	—	70,2	67,5
KBr	—	67,8	67,9	67,4	66,2	—
NaBr	—	—	—	—	70,4	—
NH <sub>4</sub> Br	—	—	71,1	71,4	71,6	68,8
KJ	—	71,1	71,8	70,1	68,3	67,0
NH <sub>4</sub> J	—	—	70,5	70,5	70,9	68,4
NaJ	—	—	—	—	71,3	71,0
KNO <sub>3</sub>	73,2	72,9	73,2	71,3	69,4	69,7
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	—	—	71,2	72,3	71,6	69,0
NaNO <sub>3</sub>	—	—	—	—	72,3	71,0
KCl	74,5	74,7	73,4	73,3	70,6	72,2
NH <sub>4</sub> Cl	—	—	72,0	74,0	73,1	72,2
NaCl	—	—	—	—	73,3	72,9
K <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	74,7	75,1	74,3	74,7	72,9	73,5
Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	—	—	—	—	75,9	75,8
K-tartrat *)	75,2	75,5	74,4	74,2	73,9	—
K-citrat *)	75,6	75,4	75,2	75,0	75,7	—
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> *)	76,3	75,9	76,2	76,5	76,5	76,3
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> *)	—	—	75,3	76,2	76,2	76,4

\*) Die Daten von diesen Salzen haben einen annähernden Wert.

Was die Kationenwirkung der Alkalisalze betrifft, so tritt sie neben der der Anionen in den Hintergrund. Im allgemeinen fördern K-Salze die Koagulation am meisten, die Na-Salze am wenigsten. Die Wirkung der des Ammoniums liegt zwischen den beiden erwähnten, doch näher zu der des Kaliums. Dagegen ist das Verhalten der Chloride des Ba, Sr und Mg und auch der Citrate und Sulfate der Alkalimetalle ganz eigentümlich, indem sie die Koagulation eher hindern als fördern, oder jedenfalls eine mehr oder weniger neutrale Stellung in dieser Beziehung einnehmen. Dabei bleibt das Volumen der plasmolysierten Protoplaste in den Lösungen der erwähnten Salze der alkalischen Erden während des ganzen Versuches ungefähr dasselbe; ein so merkliches Eindringen des Salzes, wie das bei den Rhodaniden u. a. der Fall ist, konnten wir hier nicht konstatieren. Abweichend von den anderen Metallen der alkalischen Erden, verhält sich CaCl<sub>2</sub>, indem es sich seiner Wirkung nach an die Alkalisalze anschließt, oder einen Übergang von den letzteren zu den zweiwertigen darstellt.

In den Lösungen 0,55 n erhielt ich folgende Koagulationstemperaturen für die Kationen (das Mittel aus 5 Versuchen) — NaCl — 75,3°, LiCl — 75,2°, CaCl<sub>2</sub> — 75,4°, MgCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub>, SrCl<sub>2</sub> — ungefähr bei 77—78°. Im allgemeinen läßt sich für die Kationen folgende Reihenfolge aufstellen: K, NH<sub>4</sub> > Na, Li, Ca > Mg, Ba, Sr, wobei die ersten 5 Glieder die Hitzekoagulation fördern, die letzten 3 sich neutral verhalten, bzw. hindern.

Gehen wir nun zur Erklärung der angeführten Ergebnisse über.

Es wird von den meisten Biologen angenommen, daß als das wichtigste Baumaterial des Protoplasmas Eiweißkörper in Betracht kommen<sup>1)</sup>.

Vergleichen wir unsere Resultate mit den Ergebnissen der Chemie der Proteine, so finden wir, daß die lyotrope Reihenfolge der von uns erhaltenen Richtung CNS > . . . SO<sub>4</sub> bei der Koagulation der sog. positiven Eiweißkörper vorkommt.

Höber fand, daß bei der Salzkonzentration 0,5 n + 0,015 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> die Hitzezergerinnung von Hühnereiweiß nach der Reihe CNS > J > Br > Cl > CH<sub>3</sub>COO gefördert wird, wobei KCNS das Eiweiß bei 32,0°, CH<sub>3</sub>COOK bei 61,9° ausflockt. Beim Alkali-zusatz kehrt die Reihenfolge um<sup>2)</sup>. Wie man sieht, haben wir hier eine gute Übereinstimmung der Anionenreihen bei der Hitze-Koagulation des Plasmas und Säureeiweißes. Dieses konnte wohl zur Annahme führen, daß in der Plasmamembran positive Eiweißkörper den Ausschlag geben, doch ist das hier nicht der Fall. Es kommt noch eine wichtige Tatsache in Betracht. Nämlich, fördert eine Salzlösung die Hitzekoagulation gut, so sieht man immer dabei den plasmolysierten Protoplast während der Temperaturerhöhung stark anschwellen. In den Fällen, wo die Salze auf die Koagulation keinen ausgesprochenen Einfluß haben, bleibt auch das Volumen des Plasmaschlauches ungefähr dasselbe.

Das Gesagte spricht dafür, daß hier ein Parallelismus zwischen dem Eindringen der Salze in das Plasma und der Beeinflussung der Hitzekoagulation desselben

<sup>1)</sup> Höber, l. c. S. 424ff. — Wo. Pauli, Pflügers Arch. **136**, 483. 1910. — M. Fischer und Wo. Ostwald, Pflügers Arch. **106**, 264. 1905. — M. Fischer, Das Ödem. Dresden **1910**. — W. W. Lepeschkin; l. c. S. 102, 103; Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **29**, 255. 1911. — Vgl. Stiles and Jörgensen, Annals of Botany **29**, 366. 1915.

<sup>2)</sup> Höber, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 52.

stattfindet. Diejenigen Salze, die am meisten die Koagulations-temperatur erniedrigen, haben das größte Diffusionsvermögen und umgekehrt. Somit ist die Koagulationsbeeinflussung in erster Linie auf die Permeabilität der Plasmamembran für die Neutralsalze zurückzuführen und die Koagulationsreihen der Ionen sind auch gleichzeitig die Permeabilitätsreihenfolgen.

Daß die Plasmapermeabilität für Neutralsalze mit der Temperaturerhöhung nur „quantitativ“ geändert wird, indem sie abnorm groß wird, „qualitativ“ aber dieselbe bleibt, das zeigt die Übereinstimmung der Koagulationsreihenfolgen der Salze mit den von verschiedenen Autoren für die Permeabilität ermittelten.

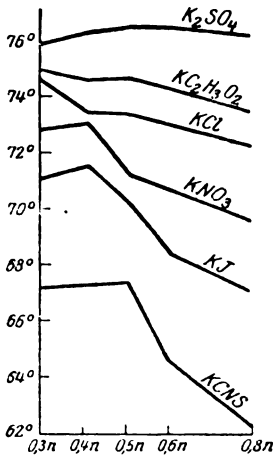


Abb. 2

Fitting<sup>1)</sup> hat mit der plasmolytischen Methode bei *Rhoeo discolor* nachgewiesen, daß Kaliumbromid, -nitrat und -chlorid in das Plasma besser permeieren als Kaliumsulfat. Also  $(Br, NO_3, Cl) > SO_4$ . Bezüglich der Kationen fand er, daß die Kalium- und Natriumsalze etwa gleich permeieren (l. c. S. 62), doch bei einigen Versuchen ließ sich das geringere Eindringen von Natriumsalzen feststellen (l. c. S. 49). Viel schwächer permeieren die Lithiumsalze, dagegen für die Ca-, Mg-, Sr- und Ba-Salze konnte er kein Eindringen nachweisen.

Troendle<sup>2)</sup> auf Grund seiner Untersuchungen mit der plasmolytischen Methode gibt folgende Reihenfolgen für die Durchdringungsfähigkeit der Neutralsalze bei den Wurzelzellen von *Lupinus albus*.

Anionen — J, Br > Cl und  $NO_3 > Cl > SO_4$ .

Kationen — K > Na > Li > Mg > Ba > Sr > Ca.

Vergleichen wir diese Reihenfolgen mit den von uns für die Hitze-koagulation ermittelten, so sehen wir eine sehr gute Übereinstimmung, wenn wir nicht die abweichende Stellung des Ca in Betracht ziehen wollen.

Einen indirekten Beweis für die Annahme, daß die Permeabilität der Plasmamembran für Salze bei der Hitze-koagulation eine wichtige Rolle spielt, bekommen wir aus dem Zusammenhang, der zwischen der Koagulationstemperatur und der Salz-

<sup>1)</sup> H. Fitting, *Jahrb. f. wissensch. Botanik* **56**, 1. 1915.

<sup>2)</sup> A. Troendle, *Arch. de sciences phys. et nat.* **45**, 38. 1918.

konzentration besteht. Die Kurven auf der Abb. 2 zeigen, daß mit dem Zunehmen der Konzentration des Salzes die Koagulationstemperatur im allgemeinen erniedrigt wird, doch in keinem Fall bei allen Salzen in gleicher Weise: die schnell permeierenden Salze (KCNS, KJ,  $\text{KNO}_3$ ) setzen sie verhältnismäßig mehr herab als die langsam eindringenden. Die Neigunggröße der Kurven zur Abszisse folgt auch hier der lyotropen Reihe nach.

### Zusammenfassung.

1. Der Einfluß der Neutralsalze auf die Hitzekoagulation des Protoplasmas von Epidermiszellen der *Tradescantia zebrina* ist mehr oder weniger bedeutend je nach dem Salz, dabei macht sich die additive Wirkung der Salze geltend, d. h. es sind die beiden Ionen von Bedeutung.

2. Bei den Alkalisalzen ist die Wirkung des Anions mehr ausgeprägt als die des Kations. Anionen fördern hier die Hitzekoagulation nach der lyotropen Reihenfolge (Kation K):  $\text{CNS} > \text{Br} > \text{J} > \text{NO}_3 > \text{Cl} > \text{Tartrat}, \text{CH}_3\text{COO} > \text{Citrat} > \text{SO}_4$ , wobei das Anion auf der ersten Stelle der Reihe die Koagulationstemperatur am meisten herabsetzt. Kationen wirken nach der Reihenfolge:  $\text{K}, \text{NH}_4 > \text{Na}, \text{Li}, \text{Ca?} > \text{Mg}, \text{Ba}, \text{Sr}$ .

3. Die Förderung der Hitzekoagulation des Protoplasmas durch Neutralsalze ist auf die Permeabilität der Plasmamembran für dieselben zurückzuführen. Die am schnellsten permeierenden Salze setzen die Koagulationstemperatur am meisten herab.

# Über Gärung ohne Hefe.

Von

**Emil Baur und Eugen Herzfeld.**

(Aus dem Physikalisch-chemischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule und dem chemischen Laboratorium der medizinischen Klinik der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 17. Februar 1921.)

Nachdem E. Buchner im Jahre 1897 entdeckt hatte, daß der Preßsaft mazerierter Hefe die alkoholische Gärung zu unterhalten vermag, fiel die Pasteursche Unterscheidung der geformten und ungeformten Fermente dahin. Wenn Pasteur die Gärung als von dem Lebensprozeß der Hefe abhängig ansah, so konnte dies nur den Sinn haben, daß ein gewisses chemisches Geschehen, das mit zu dem Komplex der chemischen Vorgänge in der lebenden Hefe gehört, die alkoholische Gärung erzeuge. Wir nennen heute eine solche Erregung eine induzierte Reaktion<sup>1)</sup>. Soweit befanden sich Pasteur und Liebig völlig in Übereinstimmung; denn auch dieser dachte sich die Gärung als induzierte Reaktion. Nichts anderes bedeutet der Liebigsche Ausdruck: es werde ein „chemischer Bewegungszustand übertragen“. Die Ansichten gingen bloß darin auseinander, daß Liebig unter dem zu übertragenden „chemischen Bewegungszustand“ Oxydationsprozesse und vielleicht auch andere Zersetzungen in verwesender organischer Substanz verstand, während Pasteurs geformtes Ferment sich in jenem stationären chemischen Zustand befand, den wir „Leben“ nennen, und der dadurch gekennzeichnet ist, daß durch Zyklen einander kompensierender Vorgänge das Gebilde innerhalb gewisser Grenzen mit Erhaltungs- und Wiederherstellungskraft begabt erscheint<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Vgl. hierüber R. Luther und Schilow, Zeitschr. f. physikal. Chemie **46**, 777. 1903.

<sup>2)</sup> E. Baur, Chemische Kosmographie. München, Oldenbourg, **1903**, S. 219. — E. Herzfeld und R. Klinger, Diese Zeitschr. **83**, 50. 1917.

Diese Ansichten von der Gärung wurden vollständig aus dem Felde geschlagen, als das Verhalten des Buchnerschen Preßsaftes unzweifelhaft zu lehren schien, daß der ganze Unterschied zwischen dem geformten und ungeformten Ferment in Zufälligkeiten der Extrahierbarkeit bestehe. Für das ungeformte Ferment aber hatte sich bereits die Auffassung durchgesetzt, daß es ein Stoff sei mit den Eigenschaften eines Katalyten. Hinderlich für diese Theorie der Fermente war bis auf den heutigen Tag der Umstand, daß es den Bemühungen der präparativen Chemie nicht gelingen wollte, ein Ferment darzustellen und es analytisch als chemisches Individuum zu kennzeichnen. Hieraus war entweder zu schließen, daß die Anstrengungen zu verdoppeln seien, oder man mußte dem Verdacht Raum geben, daß die Stofftheorie der Fermente nicht auf dem rechten Wege sei<sup>1)</sup>. Vielleicht hängt eine Fermentation mehr von einer geeigneten Mischung ab oder von einem geeigneten Fluß chemischer Änderung innerhalb derselben<sup>2)</sup>. Ließe sich etwas Derartiges nachweisen, so käme man den alten Liebig-Pasteurschen Anschauungen von der Gärung wieder näher.

Die Entwicklung der Wissenschaft in dieser Richtung mußte nachhaltig gefördert werden, als E. Herzfeld<sup>3)</sup> 1915 den ein-

<sup>1)</sup> So sagt z. B. R. Willstätter in einer Rede über die Bedeutung chemischer Forschungsinstitute (Zeitschr. f. angew. Chemie **33**, 209. 1920): „Wir stehen vor der Aufgabe, die spezifischen Träger der Enzymwirkungen, diese merkwürdigsten und reaktionsfähigsten organischen Stoffe, von deren chemischen Eigenschaften uns noch jegliche Kenntnis fehlt, durch präparative Arbeit aufzusuchen, in deren Gang wir den Reinheitsgrad der Präparate Schritt für Schritt zu steigern haben, bis es möglich wird, da und dort zu Individuen vorzudringen und den Schleier von ihrer chemischen Eigenart zu lüften.“ — Dagegen hatte E. Baur in Rich. Meyers Jahrbuch der Chemie, 25. Jahrg. 1915 (S. 384) bei Besprechung der Arbeiten von E. Herzfeld geschrieben: „Der Schleier, hinter dem sich bisher die Natur der Fermente verbarg, ist gelüftet. Es stellt sich heraus, daß Fermente ganz gewöhnliche und zudem wohlbekannte Stoffe sind, deren fein abgestimmte Wirkungen mehr auf Mischungen und auf zusätzlichen Bedingungen beruht, als auf einem geheimnisvollen chemischen Aufbau.“

<sup>2)</sup> W. M. Bayliss nennt in seinem Buche „Das Wesen der Enzymwirkung“, Dresden, Steinkopff, 1910, S. 22, als älteste Vertreter dieser Anschauung: De Jager, „Erklärungsversuch über die Wirkungsart der ungeformten Fermente“, Virchows Archiv **121**, 182 (1890), und M. Arthus, „Nature des enzymes“, Thèse, Paris 1896.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. **64**, 103–105. 1914. — Ebenda **68**, 402–435. 1915. — E. Herzfeld und R. Klingner, Ebenda **88**, 260. 1918.



wandfreien Nachweis erbrachte, daß die proteolytischen Fermente (Pepsin, Trypsin usw.) Gemische von Aminosäuren und Polypeptiden sind und in ihrer Wirkung durch synthetisch bereitete Gemische dieser Art ersetzt werden können. Es besteht zwischen der Autolyse oder Selbstverdauung und der fermentativen Verdauung nur ein quantitativer Unterschied. Jene ist eine reine Autokatalyse, diese ist eine Autokatalyse, deren Angehstadium durch Zutat der Abbauprodukte entscheidend befördert wird.

Die Übertragung der bei der Proteolyse gewonnenen Anschauungen vom autokatalytischen Verlauf der Gärungen auf die Diastasen hat E. Herzfeld schon angedeutet. Einige Folgerungen neuerer Forscher bewegen sich in derselben Richtung<sup>1)</sup>. Doch machten E. Herzfeld und R. Klinger<sup>2)</sup> jüngst darauf aufmerksam, daß die Menge der Diastasen zu der erzeugten Maltosemenge in einem bestimmten Verhältnis stehe. Ein solches Verhalten stünde mit einer Autokatalyse im Widerspruch; es deutet vielmehr auf eine induzierte Reaktion hin und auf einen nicht bloß zufälligen, sondern notwendigen Verbrauch des Fermentes während seiner Arbeit.

Gerade dieses Verhalten besitzt auch Buchners Zymase. Nachdem eine Gärung von bestimmtem Umfang vollzogen ist, erweist sich die Zymase als verbraucht<sup>3)</sup>, und es wäre ganz willkürlich, zu behaupten, daß die Zymase wie ein richtiger Katalyt imstande sei, grundsätzlich beliebige Mengen Substrat zu vergären. Daß im Gegensatz dazu die lebende Hefe sich wie ein Katalyt verhält, liegt an der Selbsterneuerung und am Wachstum, also eben am Leben der Hefe. Wenn nun aber die Zymase bei der Gärung verbraucht wird, so darf man darin wohl einen Fingerzeig erblicken, daß sie eher aus einem Gemisch mehrerer Stoffe bestehe. In der Tat hat die Auffindung von Hardsens Koferment<sup>4)</sup> sowie die schon von Buchner<sup>5)</sup> festgestellte Beeinflußbarkeit

<sup>1)</sup> Vgl. z. B. Panzer, Zeitschr. f. physiol. Chemie **93**, 316, 339. 1915; v. Euler und Svanberg, Zeitschr. f. physiol. Chemie **110**, 175. 1920; W. Biedermann, Fermentforschung **2**, 458. 1919; aber auch Sherman und Walker, Journ. amer. chem. Soc. **41**, 1866—73. 1919 (Asparaginsäure als Diastase).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. **112**, 55. 1920.

<sup>3)</sup> E. und H. Buchner und M. Hahn, Zymasegärung. München, Oldenbourg, 1903, S. 79—88.

<sup>4)</sup> Vgl. z. B. C. Oppenheimer, Die Fermente. 4. Aufl. 1913. S. 671.

<sup>5)</sup> A. a. O. S. 140—146, 164.

der Gärkraft der Zymase von der Alkaleszenz und von Eiweiß-zusatz den zusammengesetzten Charakter derselben dargetan. Geleitet von der Voraussetzung, daß ein Ferment analytisch aus bekannten Bestandteilen bestehe und daß es seine eigentümlichen Wirkungen mehr einer bestimmten Mischung, einem bestimmten Zustande (Kolloidität) und vielleicht einer bestimmten zeitlichen Veränderlichkeit (Selbstabbau) verdanke, schien es bei dieser Sachlage nicht ausgeschlossen, daß der Versuch gelingen könnte, ein Ferment mit den Eigenschaften der Zymase künstlich zu bereiten.

Soweit sich vorläufig übersehen läßt, ist uns dieser Versuch wirklich geglückt, und wir wollen darüber nachfolgend berichten.

Bei unseren Versuchen folgten wir vornehmlich dem Gedanken, daß die in den Hefezellen nachweisbaren Stoffe, welche in die Klassen der Eiweiße, Kohlenhydrate, Fette und Lipide gehören, beim Gärungsvorgang mitwirken. Da das Koferment *Hardens* nichts anderes als ein wässriger Hefeauszug ist und als solcher unter anderem aus wasserlöslichen Eiweißabbauprodukten besteht, so war es klar, daß wir in erster Linie zu einem Pepton zu greifen hätten. Nachdem weiter von *Neuberg*<sup>1)</sup> die Brenztraubensäure und der Acetaldehyd als Zwischenstufen der Gärung erkannt worden sind, von *C. Neuberg*<sup>2)</sup> und *M. Oppenheimer*<sup>3)</sup> auch eine anregende Wirkung kleiner Mengen dieser Stoffe bei der alkoholischen Gärung mit Hefemazerationssaft beobachtet worden war, so schien es im Sinne der Autokatalysentheorie geboten, diese und andere mögliche Zwischenprodukte der Gärung, etwa auch Milchsäure, zu Hilfe zu nehmen. Dann mußte noch das Wichtigste gefunden werden, nämlich derjenige Teil des ganzen Fermentgemisches, der aus der unverletzten Hefezelle nicht herausdiffundieren kann. Wenn man nun die verschiedenen Stoffklassen durchgeht, aus denen sich das Protoplasma der Hefezelle zusammensetzt, so stößt man außer den Proteinstoffen auf das Hefedextrin und verhältnismäßig reichliche Mengen von Lipoiden. So setzten wir denn zu den obigen Stoffen noch gewöhnliches Dextrin und ein Lipoid aus Leber, gelöst in gallensauren Salzen.

Es ergab sich, daß mit dieser komplizierten Mischung der

---

<sup>1)</sup> *C. Neuberg*, Mitarbeiter, diese Zeitschr. **78**, 238, 1916; **89**, 365 und **92**, 334, 1918; *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **52**, 1697. 1919.

<sup>2)</sup> *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **71**, 1, 104, 135. 1915; **88**, 145. 1918.

<sup>3)</sup> *M. Oppenheimer*, *Zeitschr. f. physiol. Chemie* **93**, 235. 1915.

beabsichtigte Zweck zu erreichen war; nur mußte außerdem durch Natriumbicarbonat für die geeignete Alkaleszenz gesorgt werden. Alsbald aber erkannten wir, daß einige Bestandteile entbehrlich sind. Zuerst konnten wir die genannten Zwischenprodukte weglassen, wenn wir dafür das Fermentgemisch in anderer Weise besser ausbauten. Als förderlich zeigte sich nämlich Zusatz einer kleinen Menge einer Eiweißlösung. Aber auch diese, sowie das Dextrin, konnten wir wieder ausscheiden, als wir zu stärkerer Dosierung der Fermentmischung übergingen, und schließlich erwies sich auch das Lipoid als entbehrlich. Sonach besteht diese endgültig nur aus zwei Komponenten, nämlich: Pepton und gallensauren Alkalien. Läßt man dieses Gemisch auf Traubenzucker in bicarbonatalkalischer Lösung einwirken, so kommt schon bei gewöhnlicher Temperatur und sofort die alkoholische Gärung in Gang.

Nur ein anscheinend geringfügiger Umstand muß mit peinlichkeit beachtet werden, wenn der Versuch gelingen soll. Dies ist die Reihenfolge, in der die Bestandteile in Lösung gebracht werden. Wir hatten mit manchen Versagern zu tun, ehe wir diese Gesetzmäßigkeit erkannt hatten. Nur wenn das feingepulverte Gemisch von Traubenzucker, Bicarbonat und Pepton in festem Zustand in der frisch bereiteten wässrigen Lösung von Lipoid und gallensauren Alkalien aufgelöst wird, entsteht die dem Eintritt der Gärung zuträgliche Dispersion, nicht aber, wenn die Bestandteile einzeln in Wasser gelöst und dann zusammen gegeben werden.

Wir gehen nunmehr zur Einzelbeschreibung der Versuche über, wobei wir besonderes Gewicht auf die Ausführung unserer zahlreichen Kontrollen legen. Vorausgeschickt sei die Kennzeichnung und Darstellung der benutzten Präparate:

1. Pepton. — Wir benutzten dreierlei Peptonpräparate:

a) Pepton - Witte von Merck. Hellgraues Pulver, gibt deutliche Albumosereaktion: Fällung mit 25proz. wässriger Sulfosalicylsäure, die in der Hitze völlig löslich ist. Das Präparat enthält Spuren von Kalk. Die wässrige Lösung ist ziemlich klar gelbbraun.

b) Pepton - Witte von Kahlbaum. Hellgraues Pulver. Gibt deutliche Albumosereaktion (wie a). Reaktion auf Kalksalze stärker. Die wässrige Lösung sieht trüb schmutziggelb aus.

c) Peptonum siccum Siegfried. A. G. vorm. B. Siegfried, Zofingen (Schweiz). Hellgelbes Pulver. Starker Fleischextraktgeruch. Ganz schwache Albumosereaktion. Nur Spuren Kalksalze. Wässrige Lösung klar bernsteingelb.

Sämtliche Peptone reagieren auf Lackmus schwach sauer.

2. Casein. Das Kahlbaumsche Präparat nach Hammarsten wurde mit etwas Sodalösung in der Wärme in wenig Wasser gelöst und scharf zentrifugiert zur Abscheidung des Calciumcarbonats. Hierauf aus Alkohol mehrmals umgefällt zur Entfernung sämtlicher Salze. Endlich wird eine 20proz. Lösung des gereinigten Caseins in gesättigter Bicarbonatlösung hergestellt, die, unter Toluol aufbewahrt, lange haltbar ist.

3. Dextrin, weiß, von Kahlbaum. Jodreaktion rotviolett.

4. Lipoid. Rinderleber wird durch die Hackmaschine getrieben und der so erhaltene Brei mit der 5fachen Menge 96proz. Alkohol auf dem Wasserbad erhitzt, hierauf wird heiß filtriert und vom Filtrat die Hauptmenge des Alkohols abdestilliert. Der trübe wässrig-alkoholische Rückstand wird mit etwa der vierfachen Menge Aceton versetzt, wodurch die Lipoide gefällt werden. Zur Reinigung von mitgefälltem Glykogen und anderen Verunreinigungen wird der Rückstand in trockenem Äther gelöst, die Lösung filtriert und das klare Filtrat mit der mehrfachen Menge Aceton gefällt. Die Fällung wird mehrmals mit Aceton durchgeknetet, bis das überstehende Aceton nicht mehr gelb gefärbt erscheint. Nach Trocknen der Lipoidmasse im Vakuum-Exsiccator über Calciumchlorid hinterbleibt eine honiggelbe wachsartige Masse.

5. Gallensaure Alkalien. Rindergalle wird in einer großen Porzellanschale unter fortwährendem Umrühren mit 90% Alkohol tropfenweise versetzt, bis die gesamte Menge von Gallenmucin als flockiger Niederschlag ausgefällt ist. Man verbraucht die dreifache Menge 90proz. Alkohol. Es wird scharf zentrifugiert und von der klaren grünen Lösung die Hauptmenge des Alkohols abdestilliert. Der Destillationsrückstand wird in einer geräumigen Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft und der so erhaltene harte graugrüne Kuchen mit der gerade hinreichenden Menge absoluten Alkohols bis zur völligen Auflösung auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird diese Lösung tropfenweise unter Umrühren mit Äther gefällt. Es entsteht ein dunkelgrüner Niederschlag, der neben Seifen usw. in der Hauptsache aus gallensauren Alkalien besteht. Da dieser Niederschlag aber stark durch Gallenfarbstoffe verunreinigt ist, zogen wir vor, den in der alkoholisch-ätherischen Mutterlauge verbliebenen Rest der Gallensalze zu isolieren, was in folgender Weise gelingt: Nach dem Abdestillieren des Äthers und Alkohols wird der Rückstand in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade eingetrocknet, der gelbbraune Trockenrückstand mit wenig absolutem Alkohol verrührt und in der Wärme in Chloroform gelöst. Auf Zusatz von Äther fällt eine gelbliche zähe Masse aus, bestehend in der Hauptsache aus gallensauren Alkalien, während das Cholesterin in der Lösung verbleibt. Die Fällung wird im Vakuum-Exsiccator über Chlorcalcium getrocknet und zu einem hellgraugrünen Pulver zerrieben. Die wässrige Lösung ist hell gelbbraun und reagiert gegen Lackmus alkalisch. Beim Stehen trübt sie sich alsbald.

Der erwähnte unreine, dunkelgrüne Niederschlag ist, obwohl er zum guten Teile aus Gallensalzen besteht, für unsere Zwecke nicht brauchbar.

Die gallensauren Alkalien dienen zur Darstellung einer kolloiden wässrigen Lipoidlösung. Man bringt z. B. 0,1 g Lipoid und 0,1 g gallen-

saure Alkalien in eine Porzellanschale, fügt etwa 10 ccm absoluten Alkohol hinzu und erhitzt auf dem Wasserbade so lange, bis völlige Lösung entstanden ist. Hierauf wird zur Trockne verdampft und der Rückstand unmittelbar vor dem Gebrauch in der Kälte in 10 ccm Wasser gelöst. Für die in der folgenden Tabelle I angeführten Versuche dienen je 1 ccm dieser Lösung.

6. Natrium bicarbonium pro analysi.

7. Traubenzucker, wasserfrei, von Merck.

### Erstes Fermentgemisch.

Wir stellten zuerst orientierende Versuche mit mannigfach geänderten Mischungs- und Mengenverhältnissen an, wobei die Gasentwicklung in Gärungsröhrchen, die 15 ccm Lösung faßten, im Brutschrank bei 37° während 24 Stunden beobachtet wurde. Sämtliche Lösungen wurden unter Toluol gehalten. Von diesen Versuchen teilen wir nur eine Auswahl mit, und zwar diejenige Serie, die sich in ihrer quantitativen Zusammensetzung als geeignet erwies. Die Tabelle I enthält eine Übersicht über die systematisch durchgeführten Kontrollen.

Tabelle I.

In 15 ccm sind enthalten:						Gasentwicklung
0,15 g Pepton-Witte Merck	0,3 g Traubenzucker	0,3 g Dextrin	0,15 g Natrium-Bicarbonat	3 Tropfen 20% Cascin (= 0,01 g)	0,01 g Lipoid + 0,01 g gallensaure Alkalien	
+	0	0	0	0	0	} negativ
+	+	0	0	0	0	
0	0	+	0	0	0	
+	0	+	0	0	0	
+	+	+	0	0	0	
0	0	0	+	0	0	
+	0	0	+	0	0	
+	+	0	+	0	0	
+	+	+	+	0	0	
0	0	0	0	+	0	
+	0	0	0	+	0	
+	+	0	0	+	0	
+	+	+	0	+	0	
+	+	+	+	+	0	
0	0	0	0	0	+	
+	0	0	0	0	+	
+	+	0	0	0	+	
+	+	+	0	0	+	
+	+	+	+	0	+	
+	0	+	+	+	+	
+	+	0	+	+	+	
+	+	+	+	+	+	

2 ccm Gas  
negativ

2 ccm " Gas  
reichliche Gas-  
entwicklung nach  
1 Tag

Die letzte Zeile gibt diejenige Mischung an, welche in Gärung gerät. Dieses Verhalten ist mit Sicherheit reproduzierbar, wie uns zahlreiche Wiederholungen lehrten. Es ist aber, wie wir schon hervorhoben, nötig, daß zunächst die Lipoidlösung für sich hergestellt wird und in dieser das feingepulverte Gemisch der anderen Stoffe (abgesehen von der Caseinlösung) auf einmal durch Ver-rühren unter dem Pistill gelöst wird. Die integrale Lösung kann nachmals mit Wasser zu dem gewünschten Volumen aufgefüllt werden. Werden dagegen Pepton, Zucker usw. für sich in Wasser gelöst und wird hierauf die Vermischung mit dem Lipoid vorgenommen, so tritt keine oder nur eine ganz geringfügige Gas-entbindung ein. Die so hergestellten Lösungen sind von Hause aus etwas klarer als die richtig bereiteten. Namentlich bleibt bei denselben die Trübung aus, die mit dem Eintritt der Gas-entwicklung bei den anderen verbunden ist. Daß das Verhalten von Lösungen gleicher Zusammensetzung von ihrer Herstellungs-art in diesem Maße abhängig ist, zeigt deutlich, daß der physika-lische Zustand, die Teilchengröße, die Absorptionsverhältnisse und wahrscheinlich auch das augenblickliche physikalisch-chemische Ungleichgewicht für den Eintritt der Fermentation wesentlich mitbestimmend sind.

Der Umfang der Gasentwicklung betrug zwischen 15 und 30 ccm Gas innerhalb 24 Stunden vom Beginn der Blasenbildung an gezählt. Wie erwähnt, bekommt während der Gasentwicklung die anfänglich durchsichtige schwach gelbliche Lösung eine opaleszente Trübung. Nach der angegebenen Zeit läßt die Gas-entwicklung stark nach und hört allmählich auf. Das Gas besteht aus reiner Kohlensäure; es wird durch Lauge restlos absorbiert.

Der vereinigte Inhalt mehrerer Gärungsröhrchen nach ab-gelaufener Gasentwicklung wurde der Destillation unterworfen Nachdem einige Kubikzentimeter übergegangen sind, fügt man zu dem Destillat, das wegen der Sterilisierung durch Toluol etwas toluolhaltig ist, etwa die fünffache Menge einer gesättigten Kalium-carbonatlösung, versetzt mit Jodkrystallen und erwärmt unter stetem Umschwenken schwach auf etwa 60°. Bei Abwesenheit von jodoformgebenden Stoffen bleibt die Lösung farblos, im anderen Falle tritt alsbald gelbliche Trübung und Abscheidung von Jodoformkrystallen auf. Diese Reaktion fiel bei den Proben,

die gegoren hatten, stets positiv aus, bei den anderen, wo sie zur Kontrolle angestellt wurde, aber negativ.

Es ist hiermit qualitativ die Bildung eines der Stoffe nachgewiesen, die durch die Jodoformreaktion erkannt werden. In Betracht kommen neben Alkohol etwa noch Acetaldehyd und Aceton. Beide können wir aber wohl ausschließen, weil sie sich durch den Geruch verraten hätten (vgl. den größeren Versuch weiter unten). Wir dürfen also wohl sagen, daß sich Alkohol und Kohlensäure nebeneinander gebildet haben, deren Herkunft aus dem Traubenzucker dadurch bewiesen wird, daß das wirksame Fermentgemisch ohne Traubenzucker negativ reagiert (vgl. vorletzte Zeile der Tabelle I).

In der Hoffnung, Alkohol vielleicht in Substanz zu isolieren, stellten wir einen Versuch mit 2 l Lösung an. Ein Gemisch von 140 g Traubenzucker, 21 g Dextrin, 10 g Pepton Witte-Kahlbaum, 10 g Natr. bicarb. wird gelöst in 140 ccm frisch bereiteter Lipoidlösung, enthaltend 1,4 g Lipoid und 1,4 g gallensaures Alkali, hierzu werden 9 ccm 20 proz. Caseinlösung gefügt und mit destilliertem Wasser auf 2 l aufgefüllt. Der Gehalt der Lösung an Zucker beträgt 7%. Die Konzentration ist hier etwa dreimal größer genommen worden als in den zuvor beschriebenen Versuchen (Zuckergehalt 2%), um so womöglich längere und ausgiebigere Vergärung zu bekommen. Die Lösung wird in einem enghalsigen Kolben mit Toluol überschichtet und durch eine Vorlage mit einer gemessenen Menge normaler Natronlauge abgeschlossen. Der Kolben kommt in einen Thermostaten bei 37°. Nach Verlauf von 24 Stunden kamen die ersten Gasblasen, am darauffolgenden Tage war die Gärung in vollen Gang gekommen (schätzungsweise 1 ccm/Min.), während der Kolbeninhalt milchig trüb geworden war. Am dritten Tage ließ die Gärung nach und war am fünften so schwach geworden, daß die Vergärung als beendet anzusehen war. Ihre Dauer war also länger als in den Versuchen mit kleinerem Zuckergehalt. Die Titration der Vorlage ergab Verbrauch von 127,5 ccm Normalnatronlauge, entsprechend 2,8 g CO<sub>2</sub> = 1,8 l von Normalbedingungen.

Mit einem Tropfen der Gärlösung wurde zunächst eine Prüfung auf Vorhandensein von Bakterien ausgeführt, indem eine sterile Bouillon damit geimpft wurde. Dabei stellte sich allerdings heraus, daß die Gärlösung nicht steril war, da ein völlig

steriles Arbeiten der Natur der Sache nach nicht möglich ist. Wir mußten uns vielmehr mit der üblichen, auch von E. Buchner<sup>1)</sup> durchgehends geübten Sterilisierung durch Toluol begnügen. Daß aber die in unserer Gärlösung vorhandenen und durch das Toluol am Wachstum gehemmten Bakterien an der beobachteten Gärung nicht schuld sein konnten, davon überzeugten wir uns durch einen Kontrollversuch. Werden mit einem Tropfen der an Bakterien reichen trüben Bouillon Gärröhrchen geimpft, welche enthalten: 1. Traubenzuckerlösung, 2. Traubenzucker und Pepton, 3. Traubenzucker und Lipoid, jedes unter Toluol, so konnte auch nach Verlauf von mehreren Tagen keinerlei Veränderung wahrgenommen werden.

Die Gärlösung wurde nun mit 1 kg wasserfreiem Natriumsulfat versetzt und über Nacht stehengelassen, hierauf von der Masse des auskrystallisierten Glaubersalzes und den ausgesalzenen Kolloiden abfiltriert. Von dem Filtrat, das etwa  $\frac{1}{2}$  l betrug, wurden etwa 20 ccm abdestilliert und nach der Abtrennung einiger Toluoltropfen abermals fraktioniert destilliert. Die übergetriebenen etwa 5 ccm rochen schwach nach Ammoniak. Auf Zusatz von 30 ccm gesättigter Pottaschelösung sondert sich eine obere Schicht ab, welche den Alkohol enthalten mußte. Geruch nach Aldehyd oder Aceton war nicht zu bemerken. In Anbetracht der zu geringen Menge dieser Phase schien es uns aber nicht aussichtsreich, dieselbe abzutrennen und zur Reinigung weiteren Operationen zu unterwerfen. Wir zogen vor, durch Zugabe von Jod das Produkt auf Jodoform zu verarbeiten. Die Jodoformbildung trat auch reichlich ein; zugleich war während derselben ein deutlicher Geruch nach Essigester zu bemerken, der gegen Schluß der Einwirkung des Jodes wieder verschwand. Die Menge des erhaltenen Jodoforms betrug ungefähr 1 g, entsprechend 0,12 g Alkohol, steht also hinter der nach der Kohlensäureproduktion zu berechnenden weit zurück. Es ist anzunehmen, daß die Destillation aus hochverdünnter Lösung von höchstens  $1\frac{0}{100}$  eine quantitative Erfassung des Alkohols nicht gestattet. Wahrscheinlich aber stammt ein erheblicher Teil der entwickelten Kohlensäure aus irgendwelchen Säurebildungen (Milchsäure, Essigsäure usw.), die aus dem Bicarbonat Kohlensäure in Freiheit setzen.

<sup>1)</sup> A. a. O. S. 178.



**Zweites Fermentgemisch.**

E. Buchner<sup>1)</sup> pflegte 20 ccm Preßsaft mit 5—8 g Rohrzucker zu versetzen. Der Preßsaft enthielt durchschnittlich 12% Trockenrückstand. Die Gärlösung enthielt demnach rund 10% Ferment und 20—40% Rohrzucker. Wir hatten bei den Versuchen des vorigen Abschnittes weit geringere Konzentrationen, nämlich, wenn wir Dextrin, Pepton und Lipoid zusammenrechnen, 1,7% auf 7% Traubenzucker. Das Verhältnis Ferment:Zucker ist ähnlich den Buchnerschen Verhältnissen, aber die Verdünnung war bei uns etwa 5 mal größer. Es lag nahe, den Versuch auch mit den bei Zymasegärungen üblichen höheren Konzentrationen zu wiederholen. Hierbei zeigte sich bei Durchführung der der Tabelle I analogen Serie, daß Lipoid, Pepton und Bicarbonat schon hinreichend sind. Die zum Erfolg führenden Gemische nebst den nötigen Gegenproben enthält die Tabelle II. Wie im vorigen Abschnitt werden die Gemische in Gärröhrchen unter Toluol im Brutschrank bei 37° beobachtet. Die Herstellung der Gemische geschieht auch hier so, daß die in der Reibschale iunig verriebenen Trockensubstanzen durch Zugießen der frisch bereiteten wässrigen Lipoidlösung möglichst rasch gelöst werden, indem mit dem Pistill umgerührt wird. Das Bicarbonat ist im Überschuß vorhanden; es bleibt also ein Bodensatz, von dem abgossen wird. Die Tabelle enthält in der vorletzten Spalte Bemerkungen über das Aussehen der Reaktionsgemische; es fällt auf, daß flockige Abscheidung ein Anzeichen für nicht erfolgte Gärung ist; während die gärkräftigen Gemische sich während der Gärung durch feine gleichmäßige Trübung auszeichnen. Die letzte Spalte enthält Angaben über den Ausfall der Jodoformreaktion einiger Destillate. „Negativ“ bedeutet: Farblosbleiben des mit Jod und Kaliumcarbonat behandelten Destillates und kein Geruch nach Jodoform. „Spur“ bedeutet: Geruch nach Jodoform. Wo gelbliche Trübung der Probe Jodoform deutlich anzeigt, empfiehlt sich ein weiterer Zusatz von Jodkrystallen, um die Probe sicher zu erschöpfen. Die Destillation geschieht zweckmäßig auf folgende Weise: die Gärlösung wird unter schwachem Anwärmen mit wasserfreiem Natriumsulfat versetzt, bis die braunen Flocken sich zusammenballen, hierauf wird mit Schwefelsäure ganz schwach angesäuert, abgenutscht und ein Teil abdestilliert.

<sup>1)</sup> A. a. O. S. 86, 210 u. a.

Tabelle II.

In 15 ccm Lösung sind enthalten				Gasentwicklung	Aussehen	Jodoform- reaktion
0,15g Lipoid 0,15g gallen- saure Alk.	1,5g Pepton Witte Merck	1,5g Na- trihicarbonat	3 g Trauben- zucker			
+	0	0	0	—	Lösung bleibt fast klar	—
+	+	0	0	—	allmählich ge- ringe flockige Abscheidung	negativ
+	0	+	0	—	Lösung bleibt klar	—
+	0	0	+	—	Lösung bleibt klar	—
+	+	+	0	7 ccm Gas; in 4 Std. beendet	dicke flockige Abscheidung	negativ
+	0	+	+	—	Lösung bleibt klar	negativ
+	+	0	+	2 ccm Gas; in 2 Std. beendet	flockige Ab- scheidung	Spur
+	+	+	+	ca. 15 ccm Gas; in 2 Tagen be- endet. Nach $\frac{1}{2}$ Std. etwa die Hälfte	gleichmäß. Trü- bung. Zum Schluß flocki- ger Absatz	Kristalle von Jodoform

Es zeigt sich, daß das Pepton, da es saure Eigenschaften besitzt, aus dem Bicarbonat Kohlensäure freimacht. Von wirklicher Gärung unterscheidet sich diese Gasentbindung durch den negativen Ausfall der Jodoformprobe. Die vorletzte Zeile der Tabelle unterrichtet darüber, daß auch bei Abwesenheit von Bicarbonat eine geringe Gärung einsetzt, die aber ein baldiges Ende erreicht wegen flockiger Abscheidung. Der Versuch lehrt, daß das Bicarbonat keine unerläßliche Bedingung für den Eintritt der Gärung ist, sondern nur eine befördernde Wirkung hat.

Wie mit dem ersten Fermentgemisch haben wir auch mit dem zweiten einen Versuch mit größeren Mengen durchgeführt und durch einen gleichen Leerversuch ohne Zucker kontrolliert. Es wurde genommen: 60 g Traubenzucker und 30 g Pepton Witte-Kahlbaum und 30 g Natr.-Bicarb., aufgelöst in 240 ccm, enthaltend 3 g Lipoid und 3 g gallens. Alkali, mit Toluol überschichtet. Im Thermostaten bei 37° wurden (leider nicht ohne Verlust) über Quecksilber 250 ccm Gas in 24 Stunden aufgefangen, davon mehr als die Hälfte im Verlauf der ersten Stunde. Die Destillation

lieferte 0,190 g Jodoform (= 0,022 g Alkohol), der Leerversuch kein Jodoform (Gasvolum nicht bestimmt; nach den Versuchen im Gärröhrchen auf die Hälfte des Gasvolums im Hauptversuch zu schätzen).

### Drittes Fermentgemisch.

In dem Bestreben, die Fermentmischung möglichst zu vereinfachen, versuchten wir noch, einerseits die gallensauren Alkalien, andererseits das Leberlipoid wegzulassen, die wir bisher stets zusammen anwandten. Hierbei ergab sich, daß das Lipoid fast ohne Schaden wegbleiben kann, daß dagegen die Gallensalze unentbehrlich sind. Wichtig ist es, dieselben in ganz frisch bereiteter Lösung zur Wirkung zu bringen, da beim Stehen Trübung eintritt, wodurch die Lösung sofort unwirksam wird. Die Unwirksamkeit gestandener oder sonst unrichtig behandelter gallensaurer Alkalien (siehe die Kennzeichnung der Präparate) lieferte uns eine nicht unerwünschte Kontrolle dafür, daß nicht irgendein verborgener, unerkannter Umstand für die als Gärung angesprochenen Beobachtungen verantwortlich sei. Um klare Lösung zu erhalten, empfiehlt es sich, das Präparat auf einmal in der ganzen anzuwendenden Wassermenge durch Zerdrücken am Glasstab aufzulösen. Tabelle III enthält den Versuch nebst Gegenproben.

Tabelle III.

In 15 ccm Lösung sind enthalten				Gasentwicklung in 24 Std.	Aussehen	Jodoform- reaktion
0,15 g gallensaure Alkalien	1,5 g Pepton Siegfried	1,5 g Natrium- bicarbonat	8 g Trauben- zucker			
+	+	+	0	5 ccm	Ausflockung	negativ
0	+	+	0	5 ccm	geringere Ausflockung	negativ
+	+	+	+	12 ccm	geringere Ausflockung	Krystalle von Jodoform

Das hier verwendete Pepton Siegfried verhält sich etwas anders als das früher gebrauchte Pepton Witte-Merck, welches mehr Albumosen enthält. Das Pepton Siegfried bewirkt einen rascheren Gärungsverlauf, der aber auch eher zum Stillstand kommt. Der Unterschied prägt sich noch deutlicher aus, wenn wenig Bicarbonat (vgl. unten) genommen wird.

Die Mischung der dritten Zeile der Tabelle III gärt auch bei Zimmertemperatur (Gasentwicklung und Jodoformreaktion). Der Verlauf ist langsamer und der Umsatz, nach der entbundenen Kohlensäuremenge beurteilt, schwächer (etwa 6 gegen 12 ccm im Brutschrank).

Ein Versuch mit größeren Mengen im Thermostaten verlief entsprechend. Angewendet: 30 g Traubenzucker und 16 g Pepton-Witte-Kahlbaum und 16 g Natr.-Bicarb., aufgelöst in 160 ccm, enthaltend 1,6 g gallensaure Alkalien. Über Quecksilber aufgefangen: 114 ccm CO<sub>2</sub>. Destillation ergibt 0,05 g Jodoform (= 0,006 g Alkohol). Der Leerversuch (ohne Traubenzucker, sonst wie oben) ergibt: 50 ccm CO<sub>2</sub>; kein Jodoform.

Störend ist die Kohlensäureentbindung aus dem Bicarbonat durch das Pepton. Um diese herabzusetzen, haben wir die Bicarbonatmenge tunlichst verringert und dadurch auch eine gewisse Verminderung der Gasentwicklung im blinden Versuch erreicht, wie folgender Versuch zeigt. Angewendet: 45 g Traubenzucker und 22,5 g Pepton Siegfried und 3 g Natr.-Bicarb., aufgelöst in 220 ccm, enthaltend 2,4 g gallensaure Alkalien. Aufgefangen: 153 ccm Gas. Jodoform gefunden: 0,098 g (= 0,01 g Alkohol). Im Leerversuch: Gasentwicklung 30 ccm. Jodoformreaktion negativ. Das Verhältnis der Gasvolumina im Haupt- und Nebenversuch ist durchaus konstant, d. h. es wurde bei zahlreichen Wiederholungen in Gärröhrchen stets gleich wieder gefunden.

Ein gleicher Versuch, mit Pepton Witte-Kahlbaum ausgeführt, versagte (nur 30 ccm Gas, kein Jodoform), da die Lösung alsbald nach der Herstellung dicke Flocken absetzt. Dieses Peptonpräparat verlangt mehr Bicarbonat, um die Flockung hintanzuhalten. Man kann daran erkennen, daß der Eintritt einer Gärung ebenso sehr von der Beschaffenheit des Peptons abhängig ist, wie von derjenigen der Gallensalze. Ein Mißerfolg kann also, worauf wir aufmerksam machen möchten, leicht eintreten, wenn die erforderlichen Präparate nicht in der richtigen Beschaffenheit zur Verfügung stehen.

Mit Pepton Witte-Merck geht derselbe Versuch nicht sofort an, sondern erst nach einem Tage. Als wir eine Mischung gleicher Teile Pepton Witte-Merck und Pepton Siegfried nahmen, setzte die Gasentwicklung sofort ein und blieb länger bestehen, als mit Pepton Siegfried allein.

Um dem, wenn auch weit hergeholt, Einwand zu begegnen, daß unter den Versuchsumständen Zucker durch die Einwirkung von Bicarbonat allein flüchtige, jodoformgebende Stoffe abgibt, haben wir auch 30 g Traubenzucker mit 2 g Bicarbonat verrieben, in 150 ccm Wasser gelöst, 24 Stunden, mit Toluol überschichtet, im Thermostaten bei 37° gehalten und darauf, genau wie oben, destilliert, konnten aber Jodoform auch nicht in Spuren nachweisen.

Überblickt man die geschilderten Versuche, so findet man, daß die verschiedenen Fermentmischungen insofern einander ähnlich sind, als die Kohlensäureentwicklung, räumlich gemessen, von der Größenordnung des Flüssigkeitsvolums ist, während die jodoformgebende Substanz im Destillat, auf Alkohol bezogen, nur etwa den 20. Teil des Gewichtes der entbundenen Kohlensäure ausmacht. Die Daten der in Betracht kommenden Versuche stellen wir in der Tabelle IV nochmals zusammen. Die CO<sub>2</sub>-Volumen sind nach Reduktion auf Normalzustand und Abzug der im Leerversuch entwickelten Menge auf Gramm, die Jodoformwägungen auf Alkohol umgerechnet. Die Ziffer für Kohlensäure in der zweiten Spalte ist wahrscheinlich ungenau.

Tabelle IV.

Ferment- mischung	CO <sub>2</sub> g	Alkohol g
1	2,8	0,12
2	0,26 (?)	0,022
3 a	0,11	0,006
3 b	0,21	0,01

Wie schon am Ende des ersten Abschnittes zum Ausdruck gebracht, wird man das Defizit zum Teil wohl dahin auszulegen haben, daß neben alkoholischer Gärung noch andere Zersetzungen des Zuckers einhergehen, welche Säuren liefern<sup>1)</sup>. Sämtlichen untersuchten Mischungen gemeinsam ist es, daß die Gärwirkung nach kurzer Zeit erstickt, und zwar regelmäßig dann, wenn Ausflockungen auftreten. Es scheint geradezu, daß diese Veränderungen im Dispersitätsgrad irgendwie eine Bedingung sind für das

<sup>1)</sup> Vgl. den Abschnitt: „das glykolytische Ferment“ in C. Oppenheimer, die Fermente, 4. Aufl. Leipzig 1913. S. 731—753.

Zustandekommen der Kohlenhydratzersetzung. Gleichzeitig gehen im Pepton sicher hydrolytische Spaltungen vor sich, und es scheint, daß eben ein solches Zusammenwirken chemischer Zersetzung und Oberflächenveränderung im Substrat für die Einleitung „fermentativer“ Prozesse notwendig ist. Unterscheidend zwischen unserem ersten und den folgenden Fermentgemischen ist der Umstand, daß die Gärkraft bei jener länger anhält, aber später bemerklich wird. In allen Fällen sind die von uns erzielten Effekte nur verhältnismäßig geringfügig; wir glauben aber, daß sie vergrößert werden können, wenn die Ausflockung durch geeignete Mittel verlangsamt wird. Was die schließliche Erschöpfung der Gärtätigkeit anlangt, so hat dieselbe ihr Analogon im Verhalten der aus Hefe gewonnenen Zymase<sup>1)</sup>. Wahrscheinlich müssen wir darin ein Anzeichen erblicken, daß die Gärkraft an den Ablauf einer Zustandsänderung am Ferment gebunden ist, an welche die alkoholische Gärung chemisch gekoppelt ist.

Noch in einer anderen Beziehung verhält sich unsere Fermentmischung wie der Hefepreßsaft. Wenn wir nämlich den Traubenzucker durch Rohrzucker oder durch Dextrin ersetzen, erhalten wir auch Gäreffekte, wofür die folgende kleine Tabelle V unterrichten mag.

Tabelle V.

In 15 ccm sind enthalten	Gasentwicklung in ccm			
	mit 8 g			im Leer- versuch
	Trauben- zucker	Rohr- zucker	Dextrin	
0,15 g gallens. Alk. 1,5 g Pepton Siegfried 1,5 g Natr.-Bicarb.	12	10	9	5
0,15 g Lipoid 0,15 g gallens. Alk. 1,5 g Pepton Siegfried 1,5 g Natr.-Bicarb.	14	10	10	5

Alle Daten der Tabelle sind in wiederholten Versuchen bestätigt worden. Die schwächeren Ausschläge mit Dextrin erinnern an die entsprechend niedrigere Gärkraft des Hefepreßsafts gegenüber Glykogen<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> E. Buchner, a. a. O. S. 87, 106, 154 u. a.

<sup>2)</sup> E. Buchner, a. a. O. S. 106.

Wir müssen also schließen, daß unseren Fermentgemischen auch polysaccharidspaltende Eigenschaften zukommen. Somit dürfen wir vielleicht sagen, daß unsere synthetischen Fermente in ihrem qualitativen Verhalten mit dem Hefepreßsaft unverkennbare Ähnlichkeit besitzen. Aufgabe weiterer Forschung muß es sein, die bisher erhaltenen Wirkungen zu verstärken, um so auch in quantitativer Hinsicht den natürlichen Fermenten näherzukommen.

## Zur Kenntnis des oxydativen Zuckerabbaus im Tierkörper.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von  
**Julius Hirsch.**

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 7. Februar 1921.)

Durch die Untersuchungen **Neubergs** und seiner Schule sind wir über den Mechanismus der Kohlenhydratspaltung bei niederen Organismen in den wesentlichen Punkten unterrichtet. Es hat sich gezeigt, daß sowohl bei der Umsetzung des Zuckers selbst als ihm nahestehender Substanzen wie Glycerin, Mannit usw. die Brenztraubensäurestufe durchheilt und zunächst Acetaldehyd gebildet wird. Dies gilt gleichermaßen für anaerob arbeitende und oxydierende Lebewesen. Auch letztere, die wie die Acetatbakterien ihnen dargebotenen Äthylalkohol teilweise, nämlich zu Essigsäure, oxydieren, oder wie der Kalm, der weitgehende Verbrennungen bewirkt, erzeugen intermediär Acetaldehyd. Dieser entzieht sich für gewöhnlich der Wahrnehmung, indem er entweder sofort weiter verändert wird oder höchstens in solchen Spuren erhalten bleibt, die keine Auskunft über seine Abstammung geben. Mit den biochemischen Abfangmethoden, die besonders für die Festlegung von Acetaldehyd ausgearbeitet sind, ist man dagegen imstande, den letztgenannten Körper in beträchtlichen Mengen anzuhäufen, ihn so vor der normalen Weiterverarbeitung zu bewahren und seine Herkunft zu erkennen.

Für die Fixation des als Zwischenglied auftretenden Acetaldehyds stehen mehrere Verfahren zur Verfügung, die **Neuberg** mit **Färber**, **Reinfurth** und **Hirsch** angegeben hat. Eines beruht auf der Bindung des Acetaldehyds durch zugefügte neutrale schwefligsaure Salze, die im Gegensatz zu den meist bei rein chemischen Untersuchungen verwendeten sauren Sulfiten keine sehr erheblichen Zellgifte sind. Einen anderen Weg beschreitet die **Dimedonmethode**, welche in einer Kondensation des benutzten Reagenzes (des Dimethylhydroresorcins) mit dem schnell vergänglichen Gebilde des Acetaldehyds besteht.



Diese beiden Verfahren unterscheiden sich nicht nur durch die Art der vor sich gehenden Umsetzungen, sondern auch durch die obwaltenden physikalisch-chemischen Bedingungen. Die sekundären schwefligsauren Salze wirken dadurch, daß sie den Aldehyd sich zu dem bekannten Aldehydsulfitkomplex anlagern. Das Verfahren, das sich des Dimedons (Abkürzung für Dimethylhydroresorcin) bedient, wirkt so, daß zwei Moleküle des Abfangmittels mit einem Molekül Acetaldehyd unter Wasseraustritt sich kondensieren. Im ersten Falle handelt es sich um ein anorganisches Salz, das wegen seiner geringen Penetrationskraft vermutlich nur an der Zelloberfläche in Aktion tritt. Dagegen ist das Dimethylhydroresorcin eine lipoidlösliche Substanz und damit wahrscheinlich zum Eindringen in tiefere Protoplasmaschichten befähigt. Neuberg und Reinfurth haben früher diese Eigenschaft bereits betont und darauf hingewiesen, daß mit Hilfe dieses für den Acetaldehydnachweis allgemein brauchbaren Aldomedonverfahrens bestimmte Fragen des animalischen Stoffwechsels einer näheren Prüfung zugänglich gemacht werden würden.

Seitdem Claude Bernard zuerst in Erwägung gezogen hatte, daß die sog. Glykolyse, d. h. das Verschwinden des Zuckers in Berührung mit bestimmten tierischen Körperbestandteilen, auf der Umwandlung der Kohlenhydrate in Milchsäure beruht, und seitdem Slosse diese Annahme bewiesen hat, ist eigentlich nichts Genaueres über den Chemismus der weiteren Zuckelumwandlung im Tierkörper bekannt geworden. Auch die neueren Untersuchungen, welche an E. du Bois-Reymonds Angaben über Milchsäurebildung im arbeitenden Muskel sich anschließen, haben als wesentliches Ergebnis nur zutage gefördert, daß zunächst eine Umlagerung der Kohlenhydratverbindungen in Milchsäure stattfindet, die dann einer teilweisen Verbrennung unterliegt (Fletcher, Hopkins, Thunberg, Ransom, Embden, Parnas, Stoklasa, Meyerhoff, v. Fürth, Wacker u. a.). Der Weg aber, auf dem diese Verbrennung erfolgt, ist ungeklärt.

Der eigentliche oxydative Abbau stellt jedoch letzten Endes das Hauptproblem dieser Fragen dar; denn nur das verbrennende Material kann die Quelle zahlreicher energetischer Leistungen des Tierkörpers darstellen.

Ich habe nun versucht, über diese Fragen Anhaltspunkte zu gewinnen, indem ich die physiologische Oxydation in

der Muskulatur in Gegenwart des Abfangmittels Dime-  
don verfolgt habe. Wie aus den nachstehenden Daten hervor-  
geht, ist es mir gelungen, das Kondensationsprodukt von Dime-  
don mit Acetaldehyd, das Aldomedon, zu isolieren und zu charakte-  
risieren.

Zu den Versuchen diente Kaltblütermuskulatur und zwar  
solche von Fröschen. Die Muskelsubstanz dieser Tiere enthält  
hinreichende Glykogen, so daß ein besonderer Zusatz abbaufähiger  
Kohlenhydratverbindungen zuvörderst unnötig erschien.

Nicht unerwähnt bleibe, daß auch bei Zugabe von Dinatriumsulfit  
eine gewisse Anreicherung an Acetaldehyd erzielt wird. Bemerkenswert  
ist ferner, daß ein schwacher Ausfall der Acetaldehydreaktion (Nitro-  
prussidnatrium-Probe) mit den Destillaten aus Muskulatur eintritt, auch  
wenn sie ohne Zusatz eines Aldehydabfangmittels verarbeitet werden;  
doch ist einem qualitativen Nachweise solange keine besondere Bedeutung  
beizumessen, als auf diesem Wege nicht genug Acetaldehyd zur sicheren  
Kennzeichnung erlangt worden ist<sup>1)</sup>. Das Auftreten minimalster Aldehyd-  
mengen im Tierkörper ist übrigens nicht verwunderlich, da von Ford,  
Béchamp, Rajewski, Nicoloux, Landsberg, Jos. Prings-  
heim u. a. das Vorkommen kleiner Mengen des zugehörigen Alkohols,  
des Weingeistes, angegeben worden ist. Für diese hat Masuda die  
Fähigkeit zum Übergang in Aldehyd bei der Leberdurchblutung fest-  
gestellt; auch Acetaldehyd selbst ist schon vor längerer Zeit in Spuren  
im Tierkörper angetroffen worden (vgl. Gaube, de Groot, Frieber,  
Albertonie, Bierry und Porlier u. a. sowie neuerdings Stepp  
[bei akuter Alkoholvergiftung und möglicherweise auch im Blute Dia-  
betischer]). In den Fällen dieser Art dürfte es sich wie hervorzuheben  
ist, freilich nur um sehr geringe Quanten handeln; die erzielten Farben-  
reaktionen weisen bloß mit geringerer oder größerer Wahrscheinlichkeit  
auf Aldehyd hin. Die Verhältnisse liegen ähnlich, wie sie bei der alko-  
holischen Gärung vor den Arbeiten Neubergs lagen, indem die in den  
Endprodukten vorhandenen Aldehydspuren kein Urteil über primäre  
Bildung oder sekundäre Entstehung des Aldehyds zugelassen hatten und  
als bedeutungslos galten.

Obgleich die von mir befolgte Isolierungsmethode vorläufig  
noch sehr unvollkommen gewesen ist, habe ich bei Inangriffnahme  
von 900 g Froschmuskulatur rund 0,3 g Aldomedon abgeschieden,  
das bereits als Rohprodukt nahezu den richtigen Schmelzpunkt  
aufwies und sich durch Umkrystallisieren aus verdünntem Methyl-  
alkohol völlig reinigen ließ.

<sup>1)</sup> Entsprechende Versuche mit größeren Mengen Muskulatur ver-  
schiedener Tierarten sind im Gange.

Die Versuchsanordnung war im einzelnen folgende: Die Frösche wurden durch Dekapitieren getötet. Nach schneller Durohtrennung des Rückenmarks wurden die Schenkelpaare abpräpariert, abgehäutet und mittels einer Fleischmaschine zerkleinert. 800 g der Muskelmasse wurden in 1600 ccm 1,8 proz.  $K_2HPO_4$ -Lösung<sup>1)</sup> suspendiert und mit 2,1 g Dimethylhydroresorcin in einer großen Pulverflasche gut umgeschüttelt. Die Muskelaufschwemmung wurde sodann auf drei Flaschen verteilt und 6 bis 7 Stunden lang mittels Sauerstoff bei Zimmertemperatur durchgewirbelt. Danach wurde die Suspension in einer großen Zentrifuge scharf abgeschleudert, die überstehende klare Flüssigkeit abgossen und der Bodensatz mit absolutem Alkohol über Nacht digeriert. Nach zweimaligem Extrahieren mit absolutem Alkohol im Wasserbad bei 60–70° wurde die koagulierte Muskelmasse abgenutscht und mit heißem Alkohol nachgewaschen. Das klare Filtrat wurde im Vakuum bei 40° konzentriert und der Rückstand im Faust-Heimschen Apparat weitgehend eingeeengt, so daß eine zähe Masse hinterblieb. Diese wurde mit wenig Alkohol aufgenommen und in 500 ccm Wasser eingerührt; darauf wurden, wie Neuberg und Reinfurth empfohlen hatten, 25 g festes Kochsalz eingetragen. Nach 24 stündigem Stehen in der Kälte wurde abgesaugt, wobei das sehr fein emulgierte Fett glatt das Filter passierte; auf ihm hinterblieb ein krystallinischer Niederschlag, der nach dem Auswaschen bei 136–140° schmolz und 0,3 g wog. Aus verdünntem Methylalkohol umkrystallisiert zeigte die erhaltene Verbindung den Schmelzpunkt von 139–140°.

0,1 g der Substanz wurden mit 8 ccm Wasser bedeckt und mit Dampf behandelt, bis 10 ccm übergegangen waren. (S. bei Neuberg und Reinfurth.) Dabei spaltete sich freier Acetaldehyd ab, der durch eine stark positive Nitroprussidreaktion nachzuweisen war.

Somit ist es gelungen, ein wohl charakterisiertes Aldehydderivat bei den Umsetzungen atmender Muskulatur zu gewinnen und zugleich, soweit ich sehe, überhaupt Acetaldehyd erstmalig als Produkt des tierischen Stoffwechsels in Form einer eindeutigen Verbindung abzuscheiden. Auf Grund der an anderen Organismen gemachten Erfahrungen muß der Acetaldehyd als Abbauprodukt von Kohlenhydratsubstanzen angesehen werden. Die Bedeutung einer solchen Fixierung greifbarer Mengen von Acetaldehyd für die Theorie des Kohlenhydratabbaus im Tierkörper möchte ich jedoch erst nach Abschluß noch laufender und längere Zeit in Anspruch nehmender Versuche erörtern; ich behalte mir vor, außer dem Dimedonverfahren andere Methoden nach dieser Richtung zu püfen.

<sup>1)</sup> Sie befördert die Lösung des Dimedons und zugleich nach Lépine, Levene, Löb, Neuberg und Rewald, Rona u. a. den Zuckerfall in mehrfacher Hinsicht.

# 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

U.C. MEDICAL CENTER LIBRARY

JAN 2 1962

unter Mitwirkung von

San Francisco, 22

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Brummett-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., F. Czapek-Leipzig, A. Durrig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Folgl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forsman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, E. Hägglund-Åbo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loevy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münster-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, 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, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, H. v. Tappelner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, W. Wlechnowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertundsiebzehnter Band

Drittes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 10. Juni 1921



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

# Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Hefen, 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.

**Verlagsbuchhandlung Julius Springer**

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

117. Band.	Inhaltsverzeichnis.	3./6. Heft.
		Seite
<b>Gino Galeotti †</b> . . . . .		117
<b>Wellmann, O.</b> Über den Stoff- und Energieumsatz junger Ferkel auf Grund von Fütterungsversuchen, verbunden mit der Zerlegung ganzer Ferkelkörper . . . . .		119
<b>Costantino, A.</b> Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des Plasmas und der Blutkörperchen nach I. Bang . . . . .		140
<b>Luger, Alfred.</b> Zur Kenntnis der Chininhämolyse . . . . .		145
— Über die Wirkung metallischen Kupfers und Silbers auf Diastase. Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten oligodynamischen Phänomene . . . . .		153
<b>Aberhalden, Emil.</b> Ergänzungen zu der Arbeit „Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide?“ von E. Herzfeld und R. Klinger		161
<b>Boas, Friedrich.</b> Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoider beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle . . . . .		166
<b>Murschhauser, Hans.</b> Drehungserscheinungen von Dextrose in Lösungen von tertiärem Natriumphosphat. Die Mutarotation als analytische Methode . . . . .		215
<b>Shimizu, Tomihide.</b> Über das Schicksal einiger Polysaccharide im Verdauungskanal bei Säugetieren . . . . .		227
— Über die Spaltung von einigen Polysacchariden (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) im Verdauungskanal bei Säugetieren . . . . .		241
— Über den Einfluß einiger Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) auf den Eiweißumsatz . . . . .		245
— Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Gehirns . . . . .		252
— Verhalten des Phrenosins im Tierkörper . . . . .		263
— Verhalten des Pyrrols im Tierkörper. I. Mitteilung . . . . .		266
<b>Neuberg, Carl und Bernhard Arinstein.</b> Vom Wesen der Buttersäure- und Butylalkoholgärung. Abfangung von Acetaldehyd als Umsetzungsprodukt. Übergang von Brenztraubensäure-aldol in Buttersäure. Entstehung höherer Fettsäuren aus Zucker . . . . .		269
Autorenverzeichnis . . . . .		315

## Gino Galeotti †

Galeotti, der am 12. August 1867 in Pozzuolo geboren wurde, studierte in Florenz und war mehrere Jahre dort Assistent am Institut für allgemeine Pathologie bei Professor A. Lustig. 1901 wurde er Extraordinarius für das gleiche Fach an der Universität in Cagliari (Sardinien); 1904 wurde er nach Siena und 1905 als ordentlicher Professor nach Neapel berufen. Hier setzte am 5. April eine Lungenentzündung seinem erfolgreichen Dasein ein frühzeitiges Ende.

Galeottis Lebensarbeit weist eine ganz besondere Mannigfaltigkeit auf. Seine Forschungen betreffen hauptsächlich die Gebiete der Cytologie, des allgemeinen Stoffwechsels und der respiratorischen Vorgänge im Herzen, in den Muskeln und Nieren. Den Lesern dieser Zeitschrift dürften am meisten vertraut sein Galeottis physikalisch-chemische Untersuchungen an Kolloiden, seine Studien über Nucleoproteide der Bakterien, über Uricolyse und Aminosäuren. Sein in fremde Sprachen übertragenes „Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie“, das er zusammen mit Lustig verfaßt hat, liegt in der 5. Auflage vor. In Deutschland genoß er die Ausbildung in der physikalischen Chemie (bei Wilhelm Ostwald), und eine Frucht dieser Tätigkeit sind Mitteilungen über die osmotischen Leistungen der Nieren.

Besondere Verdienste erwarb sich der Dahingeschiedene auf dem Zweig der Hygiene durch seine eingehenden Untersuchungen über die Cholera und namentlich über die Pest, die ihn auf weite Reisen

geführt haben, so nach Ägypten, China, Japan, Indien, dem Kaukasus und Kongo. Auch die Ergründung der biochemischen Vorgänge im Hochgebirge erfuhr durch Galeotti eine wesentliche Förderung; leitete er doch zeitweise das auf dem Monte Rosa gelegene, von Mosso begründete wissenschaftliche Forschungslaboratorium.

Während des vergangenen Weltkrieges organisierte er im Dienste des roten Kreuzes für sein Vaterland die Herstellung der Impfschutzstoffe gegen Seuchen.

Galeottis Leben war inhaltsreich, vielseitig und von großen Leistungen gekrönt. Die Wissenschaft betrauert den Heimgang dieses Mannes, dem nur 53 Jahre beschieden gewesen sind.

C. N.

# Über den Stoff- und Energieumsatz junger Ferkel auf Grund von Fütterungsversuchen, verbunden mit der Zerlegung ganzer Ferkelkörper.

Von  
O. Wellmann.

(Aus dem Institut für Zootechnik der Tierärztlichen Hochschule Budapest.)

(Eingegangen am 18. Februar 1921.)

## I.

Über den Stoff- und Energieumsatz des lebenden Organismus gibt die genaue Kenntnis der Einnahmen und Ausgaben Aufschluß, weil daraus auf die Veränderungen, denen die Nährstoffe im Tierkörper unterworfen sind, gefolgert werden kann.

Der Stoffwechsel wird in der Weise ermittelt, daß die Elemente der Nahrung analysiert, sowie die Menge dieser Stoffe im Kot, im Harn, in den Ausdünstungen der Haut und der ausgeatmeten Luft bestimmt werden. Da das Verhältnis der Eiweiß, die Kohlenhydrate und die Fette aufbauende Elemente konstant und bestimmt ist, kann aus dem Vergleich der Einnahmen mit den Ausgaben darauf gefolgert werden, ob die aufgenommene Nahrung zur Deckung des Bedarfs genügt, oder ob das Tier seine eigene Körpersubstanz verzehrt oder vermehrt, wieviel und welche Stoffe dabei verbraucht bzw. angesetzt werden. Die Stoffwechseluntersuchungen erstrecken sich auf die Bestimmung des Stickstoff-, des Kohlenstoff- und Energieumsatzes, weiterhin evtl. auch auf die Ermittlung des durch die Lungen und die Haut resorbierten Sauerstoffs. Der eingeatmete Sauerstoff und die ausgeatmete Kohlensäure, der Wasserdampf und die übrigen gasförmigen Zerfallsprodukte, wie z. B. das Methan und der Wasserstoff, werden mittels des Respirationsapparates bestimmt.

Der Eiweißansatz bzw. der Abbau des Körpereißes kann aus der mit der Nahrung verzehrten, bzw. der mit dem Harn, dem Kot und durch die Haut ausgeschiedenen Stickstoffmenge ermittelt werden, da Stickstoff in Gasform, abgesehen von der geringen Menge Ammoniak, vom Organismus nicht ausgeschieden wird. Auf die Fettproduktion kann, mit Berücksichtigung des Fleischansatzes, aus dem Kohlenstoff- und Energieumsatz geschlossen werden.



Tabelle I. Das Ergebnis

Das Versuchstier	Dauer des Versuchs Tage	Die verabreichte Milch			Das Versuchsferkel				
		Qualität	Menge kg	Eiweißverhältnis 1:	Alter zu Beginn des Versuchs Tage	Einstellungs- gewicht kg	Gewicht am Ende des Versuchs kg	Durchschnitts- gewicht kg	Gewichtszuwachs kg
Diäfarinferkel VIII	28	Kohlenhydratreiche Milch	29,702	2,58	26	4,220	8,048	6,188	3,826
" IX	34	" "	68,082	2,57	26	4,280	12,087	8,184	7,807
" X	29,25	" "	63,165	4,88	30	5,285	14,790	10,088	9,505
Emulsionsferkel XI	32,4	Fettreiche Milch	62,239	4,28	30	5,215	18,280	9,248	8,065
Diäfarinferkel XII	37	Kohlenhydratreiche Milch	101,515	5,87	36	5,995	18,600	12,828	12,685
Emulsionsferkel XIII	39	Fettreiche Milch	69,796	5,77	36	6,287	15,080	10,684	8,738
Diäfarinferkel XIV	29	Kohlenhydratreiche, ge- wässerte Milch	116,789	4,78	59	7,080	12,705	9,892	5,626
Emulsionsferkel XV	39	Fettreiche Milch	90,775	7,84	45	5,880	15,590	10,710	9,780

Da mir für meine Versuche kein Respirationsapparat zur Verfügung stand, habe ich die Fütterungsversuche mit der Zerlegung der acht Ferkelkörper verbunden, um ein genaues Bild von dem Stoff- und Energieumsatz zu erhalten. Die Zusammensetzung des von den reichlich ernährten Ferkeln während des Versuches produzierten Gewichtszuwachses ermittelte ich auf die Weise, daß ich von je drei aus demselben Wurf stammenden, gleichgeschlechtlichen und -entwickelten Geschwistertieren eines, das sog. Kontrollferkel zu Beginn des Stoffwechselversuches schlachtete und analysierte. Um die Ergebnisse einwandfrei miteinander vergleichen zu können, wurden nach Beendigung des Fütterungsversuches auch die Versuchstiere geschlachtet und in ähnlicher Weise aufgearbeitet wie die Kontrollferkel. Im weiteren Verlaufe wurde in der Weise vorgegangen, daß ich auf Grund der Zusammensetzung des Kontrollferkels, mit Berücksichtigung des im allgemeinen geringen Gewichtsunterschiedes, die wahrscheinliche Zusammensetzung der Geschwistertiere zu Beginn des Stoffwechselversuches berechnete. Nach Abzug der erhaltenen Werte von den Ergebnissen der nach Beendigung der Versuche geschlachteten und analysierten Ferkel konnte ich die Zusammensetzung des von den Versuchstieren produzierten Gewichtszuwachses bestimmen.

Die Untersuchungen über die Zusammensetzung von 12 Ferkelkörpern finden sich in meiner Arbeit: „Der Einfluß fett- und

der Ferkelfütterungsversuche.

Nitrogen		Energie		Ausgaben					Harn-Cal. Harn-N.	N-Retention		Umsetzbare Energie-einnahme	
Einnahmen				mit dem Kot		mit dem Harn				im ganzen	täglich pro 100 kg Lebendgewicht	im ganzen	täglich pro 100 kg Lebendgewicht
im ganzen	täglich pro 100 kg Lebendgewicht	im ganzen	täglich pro 100 kg Lebendgewicht	Nitrogen	Energie	Nitrogen		Energie					
g	g	Cal.	Cal.	g	Cal.	im ganzen	täglich pro 100 kg Lebendgew.	g	Cal.	g	g	Cal.	Cal.
194,78	183,68	20489	14187	6,28	544	70,70	50,18	707	10,00	117,80	88,50	19238	18688
401,20	188,84	48584	15157	22,67	1625	157,74	57,04	1767	11,20	220,79	79,88	40192	14538
340,51	109,56	52879	17611	18,88	1171	85,60	29,15	1860	15,89	236,08	80,41	50848	17148
382,89	108,79	50429	16547	6,42	850	94,67	81,59	1288	18,02	231,80	77,20	48846	16185
408,71	88,88	76778	16894	23,37	1996	77,28	16,94	2179	28,19	308,06	66,44	72508	15916
281,98	66,41	58766	12721	6,51	1007	58,51	14,11	885	15,18	216,91	52,80	51874	12511
278,42	91,46	42417	14477	16,05	897	116,86	40,56	1875	11,82	146,01	50,80	4145	18994
284,57	64,57	70884	15984	14,87	4040	68,94	16,51	946	13,72	200,76	48,06	65898	15657

kohlenhydratreicher Nahrung von verschiedenem Eiweißverhältnis auf die Körperzusammensetzung junger Ferkel<sup>(1)</sup>.

Die Ergebnisse der Stoffwechselversuche<sup>2)</sup> habe ich in Tabelle I kurz zusammengefaßt.

Das Ergebnis der Stoffwechselversuche an Ferkeln.

Aus den Daten der Tabelle I erhellt, daß die Stoffwechselversuche mit den 26—59 Tage alten, 4,2—7,1 kg schweren Ferkeln verhältnismäßig lange, 23—39 Tage, gedauert haben. Die Versuchstiere erhielten als Nahrung kohlenhydratreiche Diäfarin-, bzw. fettreiche Emulsionsmilch, deren Eiweißverhältnis eng (1: 2,5), mittelmäßig eng (1: 4,5), mittelmäßig weit (1: 5,8) und weit (1: 7,8) war. Von den Geschwistertieren erhielt das eine gewöhnlich kohlenhydratreiche Milch, das andere hingegen fettreiche Milch von nahezu gleichem Eiweißverhältnis. Da sich bei Ferkel XIV infolge der kohlenhydratreichen Diäfarinmilch des weiten Eiweißverhältnisses hartnäckiger Durchfall einstellte, wurde mit diesem der Versuch unterbrochen und nach 14 Tagen mit, zur Hälfte verdünnter, gewässerter, kohlenhydratreicher Diäfarinmilch von mittelmäßig engem Eiweißverhältnis fortgesetzt.

Die Ferkel wiesen während der Versuche einen Gewichtszuwachs von 3,8—12,7 kg auf, der das 2—3fache des Einstellungsgewichtes ausmachte. Der Stickstoffkonsum mit der Nahrung betrug im ganzen 190 bis 404 g, die tägliche Aufnahme pro 100 kg Lebendgewicht schwankte zwischen 66 und 137 g N. Die Energieaufnahme entsprach einem Werte von 20 000 bis 77 000 Calorien und betrug pro Tag und 100 kg Lebendgewicht 12 000

<sup>1)</sup> Die Arbeit erscheint demnächst.

<sup>2)</sup> Landwirtschaftliche Jahrbücher 52, 671. 1919.

bis 16 000 Calorien. Da die verschiedenen Milchsorten zum größten Teil verdaut wurden, haben die Ferkel mit dem Kot verhältnismäßig wenig Stickstoff und Energie ausgeschieden. Die jungen Ferkel haben das Eiweiß infolge ihrer intensiven Wachstumsenergie recht gut verwertet, mit dem Harn demzufolge wenig Stickstoff ausgeschieden. Das Minimum des Harnstickstoffs betrug pro Tag und 100 kg Lebendgewicht 14–16 g, das Maximum hingegen 50–57 g. Der kalorische Quotient des Harns schwankte zwischen 10 und 15; eine Ausnahme bildete das Ferkel XII, in dessen Harn der kalorische Quotient ungefähr das Doppelte des normalen Wertes betrug. Die Ursache dieser Erscheinung ist offensichtlich darin zu suchen, daß bei diesem Ferkel der während des Versuches zeitweise vorhandene Durchfall notwendigerweise mit abnormalen Gärungsprozessen verbunden war. Die Ferkel hielten täglich und pro 100 kg Lebendgewicht 48–84 g Stickstoff zum Aufbau ihres Organeiweißes im Körper zurück, die Aufnahme an umwandlungsfähiger Energie entsprach einem Werte von 13 000–17 000 Calorien.

Die Daten über die Ferkelanalysen habe ich in summarischer Zusammenfassung in Tabelle II veranschaulicht.

#### **Die Zusammensetzung der Ferkel (samt Magen- und Darminhalt).**

In Tabelle II habe ich die Daten der 12 Ferkelanalysen, die zur Ermittlung des Stickstoff- und Energieumsatzes notwendig sind, zusammengefaßt.

#### **Die Zusammensetzung des erzeugten Gewichtszuwachses (samt Magen- und Darminhalt).**

In Tabelle III habe ich auf Grund der Zusammensetzung der Kontrollferkel, mit Berücksichtigung des Gewichtsunterschiedes, die wahrscheinliche Körperzusammensetzung der Versuchsferkel zu Beginn des Stoffwechselfersuches berechnet, die wohl ganz unbedeutend von den wirklichen Werten abweichen mag; in dieser Annahme wurde ich durch den Umstand bestärkt, daß auch die Zusammensetzung der aus derselben Zucht aber aus verschiedenen Würfen stammenden Kontrollferkel gut übereinstimmte, namentlich dann, wenn der durch das verschiedene Alter bedingte Unterschied berücksichtigt wurde. Die Bedeutung des aus dieser Berechnung sich evtl. ergebenden Fehlers wird dadurch noch bedeutend vermindert, daß die Fütterungsversuche so lange fortgesetzt wurden, bis die Ferkel das 2–3fache des Einstellungsgewichtes erreicht hatten.

Die Zusammensetzung des Gewichtszuwachses wurde somit nach Möglichkeit auf dem unmittelbarsten Wege berechnet, und sie änderte sich je nach dem Eiweißverhältnis der Nahrung in der Weise, daß die aschefreie Trockensubstanz bei Fütterung mit Milch von engem Eiweißverhältnis nur 25–30%, bei einer Nahrung von weitem Eiweißverhältnis, wie sie Ferkel XV verabreicht wurde, 68,5% Fett enthielt.

**Tabelle II.**  
Die Zusammensetzung der Ferkel (mit dem Magen- und Darminhalt).

Das Versuchstier	Gewicht der Organe		Trocken- substanz		Wasser		Fett		Asche		Nitrogen		Energie	Energiegehalt von 1 g frischer Substanz	Energiegehalt v. 1 g fett- und aschefreier Trockensubstanz	Energiegehalt von 1 g Fett
	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%				
													g	%	g	%
Kontrollferkel VIII/IX	4500,70	1380,08	30,66	3120,62	69,34	502,13	11,16	139,86	3,11	118,41	2,63	8728,530	1,939	5,450	9,372	
Diafarinferkel VIII	7732,90	2143,25	27,72	5589,65	72,28	709,15	9,17	199,21	2,58	200,67	2,60	13521,160	1,749	5,483	9,518	
" IX	11779,15	3029,82	25,72	8749,33	74,28	905,13	7,68	283,05	2,40	296,45	2,52	18688,720	1,563	5,536	9,383	
Kontrollferkel X/XI	4645,10	1397,80	30,09	3254,30	69,91	527,08	11,35	165,02	3,56	112,51	2,42	8695,116	1,872	5,369	9,308	
Diafarinferkel X	14355,80	4382,64	30,53	9973,16	69,47	1864,42	12,99	327,66	2,28	352,25	2,45	29418,437	2,049	5,422	9,350	
Emulsionsferkel XI	12913,01	4385,85	33,96	8527,16	66,04	1877,55	14,54	401,59	3,11	344,60	2,67	29061,699	2,251	5,479	9,331	
Kontrollferkel XII/XIII	5562,10	1855,27	33,96	3706,83	66,64	796,14	14,31	181,51	3,26	140,25	2,52	12275,140	2,207	5,527	9,326	
Diafarinferkel XII	18236,30	6296,98	34,29	11939,32	65,71	3267,01	17,91	53,54	2,76	411,05	2,24	44466,791	2,438	5,483	9,371	
Emulsionsferkel XIII	14711,10	5248,01	35,67	9463,09	64,33	2546,49	17,31	437,92	2,98	359,67	2,44	36323,607	2,469	5,593	9,292	
Kontrollferkel XIV/XV	6799,03	2293,63	33,73	4504,40	66,27	4514,40	14,24	230,42	3,39	178,96	2,63	14885,150	2,189	5,410	9,357	
Diafarinferkel XIV	12538,30	3646,00	29,08	8892,30	70,92	1285,39	10,25	371,15	2,96	323,06	2,58	22749,808	1,814	5,414	9,320	
Emulsionsferkel XV	15359,10	6113,88	39,81	9245,22	60,19	3517,99	22,90	439,68	2,86	349,32	2,23	44410,804	2,891	5,447	9,296	

**Tabelle III. Die Zusammensetzung des produzierten Gewichtszuwachses (mit dem Magen- und Darminhalt).**

Das Versuchstier	Zusammensetzung	Lebendgewicht		Trockensubstanz		Fett		Asche		Organische Substanz		Die Zusammensetzung der organischen Substanz		Nitrogen		Energie		Energiegehalt von 1 g frisch. Substanz		
		g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	Fett	Fett- u. aschefreie Trockensubstanz	g	%	g	Cal.	g	Cal.	
Diafarin-Ferkel VIII	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	8046	2148,25	709,15	190,21	1944,04	83,48	68,52	200,67	18521	1,680				200,67	18521	1,680			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	4220	1250,85	455,11	123,76	1124,09	40,49	50,51	107,32	7911	1,874				107,32	7911	1,874			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	3826	892,40	254,04	72,45	819,95	80,98	69,02	83,35	5610	1,466				83,35	5610	1,466			
Diafarin-Ferkel IX	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	12037	3029,82	905,13	283,05	2746,77	32,95	67,05	296,45	18689	1,553				296,45	18689	1,553			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	4220	1233,82	456,19	127,06	1123,76	40,49	50,51	107,58	7980	1,875				107,58	7980	1,875			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	7807	1776,00	448,94	155,99	1623,01	27,72	72,28	188,87	10759	1,378				188,87	10759	1,378			
Diafarin-Ferkel X	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	14790	4382,64	1664,42	327,66	4054,98	45,98	54,02	362,25	29418	2,665				362,25	29418	2,665			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	5285	1538,51	587,68	183,99	1374,52	42,76	57,24	125,45	9635	1,824				125,45	9635	1,824			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	9505	2824,13	1276,74	143,67	2680,46	47,63	52,37	236,80	19723	2,075				236,80	19723	2,075			
Emulsions-Ferkel XI	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	19290	4835,85	1877,55	401,59	3384,26	47,12	52,88	344,60	29062	2,188				344,60	29062	2,188			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	5215	1537,87	579,90	181,56	1956,31	42,76	57,24	129,78	9566	1,834				129,78	9566	1,834			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	8065	2847,98	1297,65	220,03	2627,95	49,88	50,62	220,82	19496	2,417				220,82	19496	2,417			
Diafarin-Ferkel XII	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	18660	6296,98	3267,01	503,54	5793,44	56,39	43,61	411,05	44467	2,893				411,05	44467	2,893			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	5995	1947,87	835,88	190,57	1757,30	47,57	52,43	147,25	12868	2,150				147,25	12868	2,150			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	12665	4349,11	2431,13	812,97	4036,14	60,23	39,77	263,80	31679	2,493				263,80	31679	2,493			
Emulsions-Ferkel XIII	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	15080	5248,01	2546,49	437,92	4810,09	52,94	47,06	359,67	36324	2,417				359,67	36324	2,417			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	6237	2028,50	893,62	198,26	1828,24	47,57	52,43	153,19	13407	2,199				153,19	13407	2,199			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	8798	3221,51	1676,87	289,66	2981,85	56,24	43,76	206,48	22917	2,604				206,48	22917	2,604			
Diafarin-Ferkel XIV	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	12705	3643,00	1285,39	371,15	3274,85	39,25	60,75	328,08	22750	1,791				328,08	22750	1,791			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	7080	2319,84	979,57	233,05	2036,79	46,94	53,06	181,01	15055	2,123				181,01	15055	2,123			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	5625	1323,16	305,82	138,10	1138,06	25,74	74,26	142,05	7685	1,968				142,05	7685	1,968			
Emulsions-Ferkel XV	Zusammensetzung nach der Analyse . . . . .	15590	4119,98	3517,99	439,68	5674,20	62,00	38,00	349,32	44411	2,849				349,32	44411	2,849			
	Berechnete Zusammensetzung zu Beginn des Versuchs	5890	1919,27	806,62	191,91	1718,36	46,94	53,06	149,05	12387	2,123				149,05	12387	2,123			
	Während des Versuchs produziert . . . . .	9760	4203,61	2711,37	247,77	3955,84	68,54	31,46	300,27	32014	3,290				300,27	32014	3,290			

II.  
Stickstoffumsatz.

Den Stickstoffumsatz der Ferkel habe ich in meiner vorher schon erwähnten Arbeit eingehend behandelt. Hier gedenke ich die Daten über den Stickstoffumsatz mit den Ergebnissen der Ferkelanalyse zu vergleichen, da bisher noch keine exakten Untersuchungen gemacht worden sind, bei denen man durch die Zerlegung von Tierkörpern unmittelbar nachgewiesen hätte, daß die aus den Stickstoffeinnahmen und Ausgaben berechnete Stickstoffretention im Körper wirklich aufgefunden wird.

Tabelle IV enthält den von den Ferkeln mit der Nahrung aufgenommenen Stickstoff, die Stickstoffausgaben und die aus den Stoffwechseluntersuchungen berechnete Stickstoffretention, weiterhin den aus der Zusammensetzung der Kontrolltiere berechneten N-Gehalt der Versuchsferkel zu Beginn des Versuches und endlich die Ergebnisse des Stoffwechsels im Vergleich zu den Resultaten der Ferkelanalysen.

Die den Stickstoffgehalt der Ferkel ausdrückenden Werte, welche einesteils durch die Stoffwechseluntersuchung, andernteils durch die Ferkelanalysen ermittelt wurden, zeigen einen Unterschied von 0,5—39,3 g. Der

Tabelle IV.  
Nitrogenumsatz der Ferkel.

Nitrogenumsatz	Diafa- rin- ferkel VIII	Diafa- rin- ferkel IX	Diafa- rin- ferkel X	Emul- sions- ferkel XI	Diafa- rin- ferkel XII	Emul- sions- ferkel XIII	Diafa- rin- ferkel XIV	Emul- sions- ferkel XV
Nitrogeneinnahme mit der Nahrung	194,78	401,20	340,51	332,39	403,71	281,93	278,42	284,57
Nitrogenausgabe mit dem Kot und dem Harn, den ausgefallenen Haaren und dem Epithel	76,98	180,41	104,43	101,09	100,65	65,02	132,41	83,81
Menge des im Organismus zurückgehaltenen Nitrogens	117,80	220,79	236,08	231,30	303,06	216,91	146,01	200,76
Nitrogengehalt des Ferkels zu Beginn des Versuchs, berechnet auf Grund der Zusammensetzung des Kontrollgeschwistertieres	107,32	107,58	125,45	123,78	147,25	153,19	181,01	149,05
Nitrogengehalt des Ferkels am Ende des Versuchs, berechnet auf Grund der Daten über den Stoffwechsel	225,12	328,37	361,53	355,08	450,31	370,10	327,02	349,81
Nitrogengehalt des Ferkels nach den Daten der Analyse	200,67	296,45	352,25	344,60	411,05	359,67	323,06	349,32
Abweichung	24,45	31,92	9,28	10,48	39,26	10,43	3,96	0,49
	10,9	9,7	2,6	3,0	8,7*	2,8	1,2	0,14

Durchschnittliche Abweichung 4,9<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Unterschied scheint auf den ersten Blick namentlich bei den Ferkeln Nr. VIII, IX und XII bedeutend zu sein; wenn jedoch berücksichtigt wird, daß wir zu diesen Ergebnissen durch Anwendung zweier ganz verschiedener Methoden gelangt sind, wenn weiterhin nicht außer acht gelassen wird, daß der berechnete Stickstoffgehalt unserer Ferkel zwischen 225 und 450 g schwankt, im allgemeinen also der Unterschied 4,9% beträgt, so ist die Abweichung nicht übermäßig groß. Daß aller Anfang schwer ist, zeigt sich in dem größeren Unterschied des Stickstoffgehaltes bei Ferkel VIII und IX; im weiteren Verlaufe wurden die Versuchsfehler durch die größere Fertigkeit und die gesteigerte Vorsicht bei der Aufarbeitung ganz bedeutend vermindert. Der Stickstoffgehalt des Ferkel XII weicht von den aus den Stoffwechseluntersuchungen berechneten Werten offenbar aus dem Grunde in größerem Maße ab, wie bei den übrigen, später verarbeiteten Tieren, weil bei diesem Ferkel infolge des Durchfalls die verlustlose Sammlung des Kotes erschwert war, und wohl auch die stärkere Gärung den N-Verlust gesteigert hat.

Es ist ganz interessant, daß der Unterschied bei allen Ferkeln in derselben Richtung zu beobachten war, und zwar enthielten die Ferkel nach den Berechnungen aus den Stoffwechselversuchen mehr Stickstoff, wie nach den Körperanalysen. Dieser Befund ist im übrigen ganz natürlich, da die Fütterung, die Sammlung der Exkremente und die Trocknung des Kotes jedenfalls mit Stoff- und Stickstoffverlust verbunden ist, und weiterhin auch die Präparation und Trocknung der Ferkelorgane ähnliche Verluste zeitigt, so daß sich die ergebenden Fehler nach einer Richtung summieren.

Wenn wir all das Gesagte berücksichtigen, kann festgestellt werden, daß der aus den Stoffwechseluntersuchungen berechnete Stickstoffgehalt unserer Versuchstiere ganz gut mit den Werten der Ferkelanalysen übereinstimmt; es kann somit als erwiesen angesehen werden, daß die in der üblichen Weise berechnete Stickstoffretention in Wirklichkeit mit Hilfe der Körperanalyse nachgewiesen werden kann.

### III.

#### Energieumsatz.

Zur Ermittlung der Produktionswirkung der verabreichten Nahrung ist in erster Reihe die genaue Kenntniss der dem Organismus zur Verfügung stehenden umsetzbaren Energie notwendig, die aus dem Energiegehalt der Nahrung berechnet werden kann, wenn wir davon die mit dem Harn und dem Kot verausgabte Energie in Abzug bringen. Die dem Organismus zur Verfügung stehende, umsetzbare Energie kann dieser jedoch nicht

ganz zur Produktion verwenden, weil ein bestimmter Teil dieses Energievorrates für die Verdauungsarbeit notwendig ist, und weiterhin auch die Erhaltung des Lebens mit Energieverbrauch verbunden ist. Die für die Verdauung und die Erhaltung des Lebens notwendige Energie kann natürlicherweise für die Produktion nicht in Betracht kommen. Wenn wir diese Energiemengen von der umsetzbaren Energie in Abzug bringen, wissen wir, wieviel kalorische Wärme dem Organismus für die Produktion zur Verfügung steht.

Die zur Produktion verwendbare Energie wird jedoch nicht restlos im Gewichtszuwachs der reichlich ernährten, ruhenden Tiere aufgefunden, weil die Umwandlung des Nahrungseiweißes in Körpereiß, sowie die Fettproduktion mit Assimilationsarbeit einhergeht. Daß die Eiweiß- und Fettproduktion tatsächlich mit Energieverbrauch verbunden ist, daß sie also Assimilationsarbeit benötigt, wissen wir aus den von Heide und Klein<sup>1)</sup> an wachsenden Schweinen angestellten Versuchen. Den Produktionswert der verschiedenen Nährstoffe für Schweine untersuchte Fingerling<sup>2)</sup> und seine Mitarbeiter.

Meine mit der Analyse ganzer Tierkörper verbundenen Versuche über den Energieumsatz habe ich mit sehr jungen Ferkeln angestellt, die von den schon erwähnten Milchsorten ad libitum als Nahrung erhielten; die Ferkel haben während des Versuchs ihre Körpersubstanzen, das Fleisch, Fett und die Salze, ganz bedeutend vermehrt. Meine Versuche geben unmittelbar Aufschluß über die Energieeinnahmen sowie darüber, wieviel Energie die Ferkel mit dem Kot und dem Harn ausgeschieden haben; mit Hilfe der Ferkelanalysen konnte ich außerdem den Gehalt der produzierten Gewebe an kalorischer Wärme bestimmen.

Da bei den mit Respirationsversuchen verbundenen Stoffwechseluntersuchungen der Energiegehalt auf indirektem Wege aus dem Stickstoff- und Kohlenstoffumsatz, mit Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung und des Energiegehaltes von Fett und Fleisch ermittelt wird, muß diesbezüglich der Analyse ganzer Tierkörper aus dem Grunde der Vorzug eingeräumt werden, weil mit Hilfe dieser Methode die Zusammensetzung und der Energiegehalt des produzierten Gewichtszuwachses unmittelbar bestimmt werden kann. Der Nachteil der von mir befolgten Versuchsmethode

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift 55, 195. 1913.

<sup>2)</sup> Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. 84, S. 149. 1914.



liegt darin, daß sie über den detaillierten Energieumsatz nicht genügend Aufschluß gibt, weil wir mit ihrer Hilfe nur ermitteln können, was von der umsetzbaren Energie im produzierten Gewichtszuwachs zum Ansatz gelangt. Dank den Respirationsversuchen können jedoch meine Untersuchungen genügend ergänzt werden. Aus diesem Grunde muß in erster Linie der Bedarf an Energie zur Erhaltung des Lebens, weiterhin noch bekannt sein, wieviel Energie die Tiere für die Verdauung benötigen.

Den Energieumsatz hungernder Schweine kennen wir aus den Versuchen Meissls<sup>1)</sup>, während Tangl<sup>2)</sup> durch seine klassischen Versuche an hungernden Schweinen das Minimum der Erhaltungsenergie bestimmt hat. Nach den Untersuchungen Tangls beträgt das Energieminimum zur Erhaltung des Lebens eines ungefähr 50 kg schweren, nicht gemästeten Schweines bei der kritischen Temperatur (20–23° C) auf ein (1) qm Körperoberfläche bezogen, im Durchschnitt 1100 Calorien.

Mit Rücksicht darauf, daß sich meine Ferkel während des Versuchs in einem Raume von 18–24° C Zimmertemperatur befanden, habe ich ihren Bedarf an Energie zur Erhaltung des Lebens nach den von Tangl für nicht gemästete Schweine ermittelten Werten berechnet.

Ich muß jedoch noch bemerken, daß Tangl seine Versuche an 46 bis 50 kg schweren, 7 Monate alten Frischlingen anstellte, während meine Versuchsferkel nur 4–18 kg wogen und 4–12 Wochen alt waren. Trotz diesem auffallenden Unterschiede mußte ich dennoch diesen Wert benützen, weil die Erhaltungsenergie von gleichaltrigen und gleichschweren Tieren, wie meine Versuchsferkel waren, bisher nicht ermittelt worden ist. Die Verwendung der von Tangl bestimmten Werte für meine Versuchstiere kann indessen kaum als größere Fehlerquelle sein, da nach den von Schlossmann<sup>3)</sup> an Säuglingen angestellten Versuchen die Erhaltungsenergie in früher Jugend im Verhältnis zur Körperoberfläche dieselbe ist wie bei den Erwachsenen. Ich bemerke, daß Zuntz und Ostertag<sup>4)</sup> den Bedarf an Erhaltungsenergie ihrer Saugferkel auf Grund der Untersuchungen Meissls höher einschätzten als ich, da sie pro Körperoberfläche, die 1 kg Lebendgewicht entspricht, 110 Calorien annahmen, gegenüber dem Werte von 99,22 Calorien, den ich bei meiner Berechnung benützte.

Da die Muskelarbeit den Energieumsatz der Tiere in großem Maße beeinflusst, richtete ich mein Augenmerk auch auf das Verhalten der Ferkel während des Versuches. Es muß vermerkt

<sup>1)</sup> Zeitschr. für Biologie 4, 63. 1886.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift 44, 252. 1912.

<sup>3)</sup> Zuntz - Loewy, Physiologie des Menschen 1909, S. 672.

<sup>4)</sup> Landwirtschaftliche Jahrbücher 37, 201. 1908.

werden, daß sich die Ferkel in dem engen Stoffwechselkasten im allgemeinen ruhig und gewöhnlich nur unmittelbar vor den gewohnten Mahlzeiten etwas unruhig verhielten. Nur die Ferkel IX und XIII zeigten ein abweichendes Betragen, indem das erstere ein auffallend unruhiges Benehmen an den Tag legte, Ferkel XIII dagegen von sehr ruhigem, phlegmatischem Temperament war.

Die Verdauungsarbeit der verschiedenen Nährstoffe kennen wir aus den von Zuntz und Loewy an Menschen und Hunden angestellten Versuchen. Nach Zuntz beträgt die Verdauungsarbeit für 1 g verdauliches Eiweiß 0,8, für 1 g verdauliches Kohlenhydrate 0,4 und für 1 g verdauliches Fett 0,24 Calorien. Die Verdauungsarbeit bei Schweinen wurde bisher noch nicht ermittelt, weshalb ich zur Berechnung der Verdauungsarbeit meiner Versuchsferkel die Werte von Zuntz verwendete. Daß dieses Vorgehen nicht als wesentliche Fehlerquelle angesehen werden kann, bestätigen auch die Respirationsversuche von Fingerling, sowie von Heide und Klein.

Die Daten über den Energieumsatz meiner Ferkel habe ich nach dem beschriebenen Vorgang zusammengestellt.

In Tabelle V habe ich die Energieeinnahmen und -ausgaben zum Ausdruck gebracht und aus diesen Daten die umsetzbare Energie berechnet. Die Erhaltungsenergie habe ich mit Hilfe der von Ta ngl für ungemästete Schweine ermittelten Werte (1 qm = 1100 Calorien), nach der Vierordt-Meehschen Formel in der Weise berechnet, daß ich das Durchschnittsgewicht der Tiere zur  $\frac{2}{3}$ sten Potenz erhob und mit dem Energiebedarf der 1 kg entsprechenden Körperoberfläche bzw. mit dem Faktor 99 · 22 und weiterhin mit der Anzahl der Versuchstage multiplizierte. Die Verdauungsarbeit wurde in der Weise bestimmt, daß ich die Gramm des absorbierten Eiweißes mit dem Faktor 0,8, die des absorbierten Kohlenhydrate mit 0,4 und die des absorbierten Fettes mit 0,24 multiplizierte und die erhaltenen Werte addierte. Nach Abzug der zur Erhaltung des Lebens und der für die Verdauung notwendigen Calorienwärme von der umsetzbaren Energie verbleibt die den Ferkeln für die Produktion zur Verfügung stehende Energiemenge. Die folgende Spalte der Tabelle enthält den auf Grund der Ferkelanalyse ermittelten Energiegehalt unserer Versuchstiere. Wieviel Energie die Ferkel in dem während des Versuches produzierten Gewichtszuwachs zum Ansatz gebracht haben, konnte ich in der schon erwähnten Weise mit Hilfe des Energiegehaltes der Kontrollgeschwistertiere berechnen. In der Tabelle habe ich noch die Produktionsarbeit zum Ausdruck gebracht, also in welcher Weise die Ferkel die zur Produktion verwendbare Energie ausgenutzt haben.

Aus Tabelle V erhellt, daß die Versuchsferkel die für die Produktion verfügbare Energie nicht in gleichem Maße ausgenutzt haben, da der Ausnutzungskoeffizient verhältnismäßig große Schwankungen (50—76) aufweist. Beim Vergleich der

Tabelle V.  
Der Energieumsatz der Ferkel.

Energieumsatz	Energieumsatz									
	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV		
	Diafarin- Ferkel	Diafarin- Ferkel	Diafarin- Ferkel	Emul- sions- Ferkel	Diafarin- Ferkel	Emul- sions- Ferkel	Diafarin- Ferkel	Emul- sions- Ferkel	Diafarin- Ferkel	Emul- sions- Ferkel
Energieeinnahme mit der Nahrung . . . . . Cal.	20 489	43 584	52 879	50 429	76 773	53 766	42 417	70 384	42 417	70 384
{ mit dem Kot . . . . . " . . . . .	524	1 625	1 171	850	1 996	1 007	897	4 040	897	4 040
{ mit dem Harn . . . . . " . . . . .	707	1 767	1 360	1 233	2 179	885	1 375	946	1 375	946
{ zusammen . . . . . " . . . . .	1 251	3 392	2 531	2 083	4 175	1 892	2 272	4 986	2 272	4 986
Umsetzbare Energie . . . . . " . . . . .	19 238	40 192	50 348	48 346	72 598	51 874	40 145	65 398	40 145	65 398
Energiebedarf zur Erhaltung des Lebens . . . . .	7 648	korr. 15 902 13 644	13 505	14 164	19 293	korr. 14 375 18 712	13 057	18 947	13 057	18 947
Verdauungsarbeit . . . . . " . . . . .	2 376	5 119	5 490	3 503	7 418	3 103	4 402	3 506	4 402	3 506
Die zur Produktion verfügbare Energie . . . . .	9 214	korr. 19 171 21 429	31 353	30 679	45 987	korr. 34 396 30 059	22 686	43 045	22 686	43 045
Energiegehalt zu Beginn des Versuchs . . . . .	7 911	7 930	9 695	9 566	12 888	13 407	15 055	12 397	15 055	12 397
Energiegehalt am Ende des Versuchs nach der Ferkelanalyse . . . . . " . . . . .	13 521	18 689	29 418	29 062	44 407	36 324	22 750	44 411	22 750	44 411
Energiegehalt des Gewichtszuwachses . . . . .	5 610	10 759	19 723	19 496	31 579	22 917	7 695	32 014	7 695	32 014
Produktionsarbeit . . . . . " . . . . .	3 604	korr. 8 412 10 670	11 630	11 183	14 408	korr. 11 479 7 142	14 991	11 021	14 991	11 021
Die Verwertung der für die Produktion ver- wendbaren Energie (Produktionswert)	60,89	korr. 56,12 50,21	62,91	63,55	68,67	korr. 66,62 76,24	33,92	74,36	33,92	74,36
Koeffizient der Produktionsarbeit . . . . . %	39,11	korr. 43,88 49,79	37,09	36,45	31,33	korr. 33,38 23,76	66,08	25,64	66,08	25,64

Werte der mit Milch von ähnlichem Eiweißverhältnis gefütterten Ferkel fällt besonders auf, daß Ferkel XIV, das als Nahrung kohlenhydratreiche, gewässerte Milch von mittelmäßig engem Eiweißverhältnis erhielt, die nutzbare Energie auffallend schlecht verwertet hat. Als Ursache dieser Erscheinung kann der große Wasserkonsum gelten, doch bin ich jedenfalls auch bei der Berechnung des Energiegehaltes der Gewichtsvermehrung nicht von der richtigen Grundlage ausgegangen, weil dieses Ferkel zuerst kohlenhydratreiche Milch von weitem Eiweißverhältnis erhalten hatte, der Versuch aber infolge des aufgetretenen Durchfalls unterbrochen werden mußte; der zweite Versuch mit der gewässerten Milch nahm also nicht gleichzeitig mit der Schlachtung des Kontrollgeschwistertieres seinen Anfang, sondern erst 14 Tage später. Aus diesem Grunde werde ich im folgenden die Daten des Ferkel XIV nicht berücksichtigen, sondern nur mit gewissem Vorbehalt im Einklang mit den Stoffwechseluntersuchungen so viel feststellen, daß die große Wasseraufnahme den Energieverbrauch in auffallender Weise steigert.

Es muß noch bemerkt werden, daß die Ursache der schlechteren Verwertung der Energie nicht darin gesucht werden kann, daß die Erwärmung des in großen Mengen aufgenommenen Wassers auf Körpertemperatur dem Körper viel Energie entzogen hat, da die Nahrung der Ferkel vor der Fütterung stets auf 37° C erwärmt wurde.

In welcher Weise der große Wasserkonsum den Energieumsatz des tierischen Organismus zu beeinflussen vermag, ist auch annähernd nicht bekannt; die geplanten und in nächster Zukunft in Angriff zu nehmenden vergleichenden Versuche sollen dazu berufen sein, auch diese Frage zu klären.

Wenn wir die Daten der Geschwistertiere miteinander vergleichen, kann festgestellt werden, daß Diarinferkel IX die für die Produktion verwendbare Energie schlechter, Emulsionsferkel XIII hingegen besser verwertet hat, wie die entsprechenden Geschwistertiere. Diesen Unterschied können individuelle Eigentümlichkeiten verursacht haben, am ehesten jedoch die Tatsache, daß Ferkel IX während des Versuchs ein sehr lebhaftes Temperament besaß, bzw. daß Ferkel XIII ein auffallend ruhiges Benehmen an den Tag legte.

Wenn wir den Bedarf an Erhaltungsenergie diesem entsprechend in der Weise korrigieren, daß wir nicht die Durchschnittswerte der mageren Schweine Tanpls, sondern den größten (1 qm = 1282 Calorien) und den kleinsten (1 qm = 845 Calorien) Wert als Erhaltungsenergie bei diesen Ferkeln in Rechnung bringen, so steigert sich bei Ferkel IX der Nutzeffekt der Energie von 50,21 auf 56,12 und sinkt bei Ferkel XIII von 76,24 auf 66,62. Nachdem diese korrigierten Werte besser mit den Daten über die entsprechenden Geschwistertiere übereinstimmen, werde ich im weiteren Verlaufe meiner Auseinandersetzung diese zwei korrigierten Koeffizienten anwenden.

Aus Tabelle V kann somit festgestellt werden, daß das verschiedene Eiweißverhältnis der Milchsorten den Nutzeffekt in der Weise beeinflußt hat, daß die mit Milch von engerem Eiweißverhältnis gefütterten Ferkel die der Produktion zugängliche Energie weniger gut ausgenützt haben, d. h. die Produktionsarbeit größer war wie bei den Ferkeln des weiteren Eiweißverhältnisses. Den Durchschnittswerten zufolge betrug der Nutzeffekt der Milch von engem Eiweißverhältnis 58,5, des mittelmäßig engen 63,2, des mittelmäßig weiten 67,6 und des weiten Eiweißverhältnisses 74,4%.

Der Nutzeffekt der kohlenhydratreichen Milch ist ungefähr gleich dem Nutzeffekt der entsprechenden Emulsionsmilch; die Daten weisen aber, trotzdem ein auffallender Unterschied nicht festgestellt werden kann, darauf hin, daß die Ferkel die zum Ansatz verwendbare Energie der fettreichen Emulsionsmilch etwa besser ausgenützt haben wie die der kohlenhydratreichen Diafarinmilch.

Es fragt sich nun, wieviel Prozent der mit der Nahrung aufgenommenen Energie durch den Kot und den Harn ausgeschieden werden, weiterhin, wieviel Energie zur Bestreitung der Lebens- und Ernährungsarbeit notwendig ist und wieviel Prozent der Energieeinnahmen im Gewichtszuwachs aufgefunden werden. Die Beantwortung dieser Fragen hat sowohl von wissenschaftlichem, als auch von praktischem Standpunkt ganz besonderes Interesse. Die Daten darüber habe ich in Tabelle VI zusammengestellt.

Aus Tabelle VI erhellt, daß die mit Milch gefütterten jungen Ferkel mit dem Kot und dem Harn einen verhältnismäßig geringen

Teil (3,5—7,8%) der Nahrungsenergie ausgeschieden haben. Die fettreichen Milchsorten haben, gegenüber der kohlenhydrathaltigen Milch, die Energieausgabe mit dem Kot vermindert, mit Ausnahme der Emulsionsmilch von weitem Eiweißverhältnis, die den Energiegehalt des Kotes gesteigert hat. Der Harn enthielt bei Fütterung mit Milch von engem Eiweißverhältnis mehr Energie, wie bei der Nahrung des weiten Eiweißverhältnisses. Daraus kann gefolgert werden, daß die Ferkel unter Einwirkung der Milch von engem Eiweißverhältnis mit dem Harn mehr, jedoch mit dem Kot weniger Energie verausgaben, wie die Tiere der Nahrung des weiten Eiweißverhältnisses.

Die mit Milch reichlich ernährten Ferkel haben 25—37% der Nahrungsenergie zur Bestreitung der Lebensarbeit verwendet. Das jugendliche

Tabelle VI.  
Der percentuelle Energieumsatz der Ferkel.

Der Energieumsatz	Der Energieumsatz							
	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
Die Energieeinnahme mit der Nahrung	100	100	100	100	100	100	100	100
{ mit dem Kot	2,6	3,7	2,2	1,7	2,6	1,9	2,1	5,7
{ mit dem Harn	3,5	4,1	2,6	2,4	2,8	1,6	3,2	1,3
{ zusammen	6,1	7,8	4,8	4,1	5,4	3,5	5,4	7,0
{ Umsetzbare Energie	93,9	92,2	95,2	95,9	94,6	96,5	94,6	93,0
Energiebedarf zur Erhaltung des Lebens	37,3	korr. 36,5	25,5	28,1	25,1	korr. 26,7	30,8	26,8
Verdaunungsarbeit	11,6	11,7	10,4	7,0	9,6	5,8	10,4	5,0
Die der Produktion verfügbare Energie	45,0	korr. 44,0	59,3	60,8	59,9	korr. 64,0	53,5	61,2
Der Energiegehalt des Gewichtszuwachses	27,4	49,2	37,3	38,7	41,1	42,6	18,1	45,5
Die Produktionsarbeit	17,6	korr. 19,3	22,0	22,1	18,8	korr. 21,4	35,4	15,7
		24,5				13,3		

Alter und das geringe Lebendgewicht, d. h. die verhältnismäßig große Körperoberfläche, weiterhin der geringe Milchkonsum haben den erwähnten Wert gesteigert.

Der Energiebedarf zur Bestreitung der Ernährungsarbeit beanspruchte 5—12% der Energieeinnahmen. Die Verdauungsarbeit der Nahrung des weiten Eiweißverhältnisses, sowie der fettreichen Milch war geringer wie die des engen Eiweißverhältnisses, bzw. der kohlenhydratreichen Milchsorten.

Infolge der verschiedenen Wirkung der angeführten Faktoren standen den Tieren von der aufgenommenen Energie 44—61% für die Produktion zur Verfügung. Dieser Wert wurde durch den gesteigerten Appetit, durch das weite Eiweißverhältnis der Nahrung, durch die fettreiche Milch und das größere Lebendgewicht, also durch die verhältnismäßig kleine Körperoberfläche günstig beeinflusst.

Die jungen Ferkel setzen vom Energiegehalt der ad libitum verabreichten Milch in den produzierten Geweben 25—45% an. Der gute Appetit, das weite Eiweißverhältnis der Nahrung und die fettreiche Emulsionsmilch steigerte die Energieretention.

Nach dem Gesagten fragt es sich nun, was für eine Assimilationsarbeit die Bildung von Körpereiwweiß, bzw. der Ansatz von Fett benötigt. Zur Beantwortung dieser Frage wären solche Ferkel notwendig, die während des Versuches gleiche Mengen Eiweiß, hingegen verschiedene Mengen Fett angesetzt haben, bzw. solche, die bei gleicher Fettproduktion verschiedene Mengen Eiweiß produziert haben. Obwohl mir nun solche Tiere nicht zur Verfügung standen, gelang es mir dennoch infolge eines glücklichen Zufalles, die Assimilationsarbeit der Eiweiß- und Fettproduktion festzustellen, weil zur Produktion der organischen Substanz, ohne Rücksicht auf den verschiedenen Fett- und Eiweißgehalt des Gewichtszuwachses, eine festgesetzt gleiche Menge Energie notwendig ist. Bei der Berechnung der Assimilationsarbeit habe ich das Glykogen nicht berücksichtigt, weil je ein Ferkel nach den Analysen der Leber- und Muskellufttrockensubstanz im ganzen nur 2—9 g Glykogen enthielt, gegenüber den 820—4039 g organischer Substanz, also eine so geringe Menge, daß diese im folgenden ohne weiteres vernachlässigt werden konnte. In der frischen Muskulatur und der Leber der unter denselben Verhältnissen, wie die Versuchstiere gehaltenen und nach 14stün-

digem Hungernlassen geschlachteten jungen Ferkel betrug nach meinen Angaben<sup>1)</sup> das Glykogen nur 0,3—0,6% des Lebendgewichtes. Wenn wir diesen Glykogengehalt der frischen Organe auch nicht außer acht lassen dürfen, muß der aus der Vernachlässigung des Glykogens sich ergebende Fehler als ganz geringfügig betrachtet werden.

In Tabelle VII habe ich die Daten über die für die Produktion verwendbare Energie zum Ausdruck gebracht, weiterhin die Menge des während des Versuchs zum Ansatz gelangten Fettes und der fettfreien organischen Substanz, das gegenseitige Verhältnis der produzierten Substanzen und endlich berechnet, wieviel Energie die Produktion von 1 g organischer Substanz benötigt.

Die Daten der Tabelle VII weisen, mit Ausnahme der Werte über Ferkel XIV, das die gewässerte Nahrung erhalten hatte, wider Erwarten darauf hin, daß die Produktion von 1 g organischer Substanz ungefähr gleiche Mengen Energie, durchschnittlich 11,46 Calorien, benötigt. Da nach den Analysen der erwähnten Ferkel 1 g Fett durchschnittlich 9,35 Calorien enthielt, und die Verbrennungswärme der fett- und aschefreien Trockensubstanz, also des Eiweißes 5,47 Calorien betrug, konnte ich unmittelbar aus meinen, mit der Analyse ganzer Ferkelkörper verbundenen Stoffwechseluntersuchungen feststellen, daß zur Produktion von 1 g Fett eine 2,1 Calorien entsprechende Assimilationsarbeit notwendig ist.

Über die Assimilationsarbeit der Fleisch- und Fettproduktion besaßen wir bis in die neuere Zeit keine sicheren Anhaltspunkte und es war nur so viel bekannt, daß die Umwandlung des Eiweißes in Körpereiwweiß unzweifelhaft mit einem bestimmten Aufwand von Arbeit verbunden ist; Kellner betonte dies auch bezüglich der Fettproduktion. Die Assimilationsarbeit wurde zunächst von Heide und Klein bestimmt; durch Respirationsversuche an wachsenden Schweinen fanden sie, daß die Produktion von 1 g Fett 2—2,5, von 1 g Eiweiß hingegen 7,25 Calorien entsprechende Assimilationsarbeit benötigt. Die durch die Respirationsversuche ermittelten Werte stimmen im allgemeinen mit meinen durch die Körperanalyse erhaltenen Zahlen überein, obzwar Heide und Klein die Assimilationsarbeit des Eiweißes etwas größer fanden. Als Ursache dieses Unterschiedes kann vielleicht das abweichende Alter der Versuchstiere gelten, jedenfalls fällt aber dabei besonders der Umstand ins Gewicht, daß die Respirationsversuche gewöhnlich nur kürzere Zeit dauern, weiterhin daß diese Versuchsmethode nicht ein so unmittelbarer Vorgang ist, wie

<sup>1)</sup> Siehe die Abhandlung über „Ferkelanalysen“.



**Tabelle VII.**  
Die zur Produktion verwendbare Energie und die produzierten Substanzen.

Der Energieumsatz	Produktion									
	Diafarin-ferkel VIII	Diafarin-ferkel IX	Diafarin-ferkel X	Emulsions-ferkel XI	Diafarin-ferkel XII	Emulsions-ferkel XIII	Diafarin-ferkel XIV	Emulsions-ferkel XV		
Die zur Produktion verwendbare Energie . . . Cal.	9214	korr. 19171 21429	31353	30679	45987	korr. 34396 30159	22686	43051		
Das produzierte Fett . . . . . g	254,04	449,94	1276,74	1297,65	2431,13	1676,87	305,82	2711,37		
Die produzierte fett- und aschefreie Trockensubstanz . . . . . g	565,91	1170,07	1403,72	1330,30	1605,01	1304,98	882,24	1244,47		
Die produzierte organische Substanz zusammen	819,95	1620,01	2680,46	2627,95	4086,14	2981,85	1188,06	3955,84		
Das Verhältnis des produzierten Fettes zu der fett- und aschefreien Trockensubstanz . . . 1 :	2,23	2,60	1,10	1,03	0,66	0,78	2,88	0,46		
Die zur Produktion von 1 g aschefreier Trockensubstanz notwendige Energie . . . . . g	11,24	korr. 11,83 13,23	11,70	11,67	11,39	korr. 11,54 10,08	19,10	10,88		

Durchschnittlich 11,46, korr. 11,46.

die sich auf längere Zeit erstreckenden, mit der Analyse der Tierkörper verbundenen, detaillierten Energieumsatzversuche.

Den Stoffwechsel und den Energieumsatz haben, ungefähr gleichzeitig mit den Versuchen von Heide und Klein, Fingerling und seine Mitarbeiter untersucht und durch Respirationsversuche, ähnlich den Untersuchungen Kellners am Rind, festgestellt, daß das Schwein das Klebereiweiß um 35,1%, das Fett um 31,8% und die Kohlenhydrate um 30% besser ausnützt als das Rind. Wenn wir die Daten Fingerlings nach der von mir angewandten Methode umrechnen, gelangen wir zu demselben Resultat, wie ich bei meinen Untersuchungen. Die Ergebnisse der Untersuchungen Fingerlings habe ich in Tabelle VIII zusammengefaßt.

Aus Tabelle VIII ist ersichtlich, daß die Schweine Fingerlings Nr. III und IV in den verschiedenen Versuchsperioden trotz der abweichenden Fütterungsweise und dem ungleichen Fettverhältnis der zum Ansatz gelangten Substanzen, 10,36—12,60, durchschnittlich also 11,50 dynamische Calorien zur Produktion von 1g organischer Substanz verwendet haben, einen Wert also, der mit den Ergebnissen meiner Untersuchungen vollständig übereinstimmt.

Nach all dem Gesagten bin ich durch meine, mit der Analyse ganzer Ferkelkörper verbundenen Stoff- und Energieumsatzversuche zu dem Ergebnis gelangt, daß das junge Ferkel zur Produktion von 1g organischer Substanz von der nutzbaren Energie 11,5 Calorien benötigt, bzw. die Assimilationsarbeit von 1g Eiweiß einen Energieaufwand von 6,0 Calorien, von 1g Fett hingegen einen solchen von 2,1 Calorien beansprucht. Diese aus den Ferkelanalysen ermittelten Werte stimmen mit den Ergebnissen der Respirationsversuche wachsender Schweine überein.

Meine Untersuchungen haben somit die Frage der Fleisch- und Fettproduktion, die sowohl von wissenschaftlichem, als auch von praktischem Standpunkt große Bedeutung hat, einigermaßen geklärt. Bei der rationellen Fütterung unserer land-

Tabelle VIII.

Das Verhältnis der zur Produktion verwendbaren Energie zu den erzeugten Substanzen bei den Schweinen Fingerlings.

Energieumsatz	Schwein Nr. III								Schwein Nr. IV			
	Versuchsreihe								Versuchsreihe			
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4		
	Grundfütter + Stärke	Grundfütter + Erdnußöl	Grundfütter + Rohfaser	Grundfütter + Kleber	Grundfütter + Fleischmehl	Grundfütter + Zucker	Grundfütter	Grundfütter + Fleischmehl	Grundfütter + Zucker	Grundfütter		
Die zur Produktion verwendbare Energie . Cal.	1750,56	3137,33	2992,90	2062,75	2237,07	948,46	1531,62	2795,25	2671,47	1133,58		
Die Menge des produzierten Fettes . . . . . "	117,05	226,59	241,83	125,61	151,98	67,39	86,05	176,60	179,05	63,96		
Das produzierte Fleischeiweiß . . . . . "	37,83	62,65	46,93	41,87	43,98	20,30	41,69	71,75	31,93	28,37		
Die produzierte organische Substanz zusammen . . . . . "	154,88	289,24	288,76	167,48	195,96	87,69	127,74	248,35	210,98	94,32		
Das Verhältnis des Fettes zum Eiweiß . . . . . 1:	0,32	0,28	0,19	0,33	0,29	0,30	0,48	0,41	0,18	0,43		
Die zur Produktion von 1g organischer Substanz notwendige Energie . . . . . Cal.	11,30	10,85	10,36	12,32	11,42	10,82	11,99	11,26	12,66	12,02		

Durchschnittlich: 11,50

wirtschaftlichen Haustiere ist es unter anderem notwendig, daß wir über den Energiebedarf der Fleisch- und Fettproduktion in genügendem Maße orientiert sind. Kellner hatte seine Theorie über die Stärkewerte aufgestellt, nachdem er an Rindern das Fettbildungsvermögen der verschiedenen Nährstoffe und Futtermittel festgestellt hatte. Zweifelsohne bedeutet die Berechnung der Futterrationen nach Stärkewerten einen großen Fortschritt, da Kellner dadurch die Futtermittellehre erheblich vereinfacht und auf eine sichere Grundlage gestellt hat. Immerhin ist es wünschenswert, daß die Fehler verbessert und die Mängel ausgeglichen werden mögen. Kellners Lehre läßt sich nicht ohne weiteres ohne jede Korrektur auf die Fleischproduktion anwenden und muß den verschiedenen Tierspezies angepaßt werden. Es ist doch eine bekannte Tatsache, daß die Fettproduktion beim Schwein viel günstiger verläuft wie beim Rind; Kellner schätzte den Unterschied auf 20—25%. Fingerling konnte in seinen bekannten Versuchen einen Unterschied von 30—35% feststellen.

Meine Untersuchungen weisen in Übereinstimmung mit den Respirationsversuchen darauf hin, daß die Produktion des Schweinefettes mit einer bestimmten Assimilationsarbeit einhergeht. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die verschiedenen Tierspezies sowohl zur Produktion des Fettes, als auch des Eiweißes ungefähr die gleiche Assimilationsarbeit benötigen und die Ursache der ungleichen Fettverwertung in dem abweichenden Bedarf an Energie zur Bestreitung des Lebens und zur Verrichtung der Verdauungsarbeit gesucht werden muß. Daß die frühreifen Tiere das Futter besser verwerten als die spätreifen, hat wohl in dem verschiedenen Fettgehalt der produzierten organischen Substanz seine Ursache; diese Annahme bestätigen meine Körperanalysen der Mangolicza- und Berkshireferkel<sup>1)</sup>.

Nach all dem Gesagten waren unsere Kenntnisse über die Bildung des tierischen Eiweißes bisher besonders mangelhaft, trotzdem dieses für die Futtermittellehre eine ganz außerordentliche Bedeutung hat. Nach meinen Untersuchungen bedarf 1 g Eiweiß einen 6,0 Calorien entsprechenden Arbeitsaufwand. Dieser Wert kann wohl als richtig gelten, wenn man bedenkt, daß ich während meinen, an 7 Tieren angestellten, gut übereinstimmenden Untersuchungen die mit der Nahrung aufgenom-

<sup>1)</sup> Landw. Jahrbücher 46, 439, 1914.

mene und mit den Exkrementen ausgeschiedene Energie, sowie den Gehalt an kalorischer Wärme der Versuchs- und Kontrolltiere unmittelbar ermittelt, zur Berechnung der zur Bestreitung der Lebens- und Verdauungsarbeit notwendigen Energie aber die genauen Untersuchungen Tangls bzw. Zuntzs und Loewys verwendet habe, und daß endlich die Ergebnisse der Respirationsversuche an wachsenden Schweinen meine Untersuchungen vollständig bestätigen.

Im Zusammenhang mit der Ermittlung des zur Fleisch- und Fettproduktion notwendigen Arbeitsaufwandes taucht die auch vom praktischen Standpunkt beachtenswerte Frage auf, aus welchen Nährstoffen der Organismus die chemische Energie für die Assimilationsarbeit nimmt? Diese Frage kann mit Hilfe der detaillierten Untersuchungen über den Stickstoffumsatz beantwortet werden. Aus den Daten der Tabelle I ist ersichtlich, daß ein 4—12 Wochen altes Berkshireferkel täglich pro 100 kg Lebendgewicht eine wenigstens 14—17 g Stickstoff entsprechende Menge Eiweiß zersetzt und zur Mehrung seines Körpereiwisses höchstens 80—84 g Stickstoff zurückzuhalten vermag. Wenn wir also den erwähnten Ferkeln mehr als 100 g verdaulichen Eiweißstickstoff verabreichen, so zersetzen die Tiere das überflüssig verfütterte Eiweiß. Da indessen die in geringerem oder gesteigertem Maße vor sich gehende Fleisch- und Fettproduktion den Eiweißzerfall nicht wesentlich beeinflußt, muß angenommen werden, daß der Organismus die zum Ansatz von Fleisch und Fett notwendige Assimilationsarbeit aus den stickstofffreien organischen Substanzen herstellt. Die Konstatierung dieser Tatsache hat bei der Bestimmung des Eiweißbedarfes eine wichtige praktische Bedeutung. Wenn also die Tiere Fleisch ansetzen sollen, so müssen wir ihnen außer dem zur Bestreitung des Lebens notwendigen, nur noch soviel Eiweiß verabreichen, als dem zu produzierenden Fleisch entspricht, vorausgesetzt, daß die Nahrung genügende Mengen stickstofffreier Nährstoffe enthält, da die zur Fleischproduktion notwendige Arbeit den Eiweißzerfall nicht steigert.

# Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des Plasmas und der Blutkörperchen nach I. Bang.

Von  
A. Costantino.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Pisa.)

(Eingegangen am 18. Februar 1921.)

Da infolge des Krieges das Eintreffen von ausländischen wissenschaftlichen Zeitschriften lange unterblieben war, hatte ich erst jetzt Gelegenheit, von einigen Arbeiten von I. Bang über den Reststickstoff im Blute Kenntnis zu nehmen, die in dieser Zeitschrift in den Jahren 1915 und 1916 veröffentlicht worden sind<sup>1)</sup>. Der Autor hatte sich die Frage der Verteilung der Aminosäuren zwischen Blutkörperchen und Plasma zur Aufgabe gesetzt und infolgedessen eine ganze Reihe von Untersuchungen ausgeführt, die zum Teile bereits von anderer Seite vorliegen. In der ersten, im Jahre 1915 erschienenen Mitteilung weist der Verfasser darauf hin, daß diese Frage noch sehr wenig behandelt worden sei, so daß, abgesehen von einer Arbeit von mir, die nach Ansicht des Verfassers den qualitativen Nachweis des in den Blutkörperchen enthaltenen Harnstoffs und der Aminosäuren geliefert hat, dieses Forschungsgebiet noch absolut unbearbeitet war.

Diese meine Arbeit wird übrigens von Bang falsch zitiert, was darauf schließen läßt, daß er sie nicht gelesen hat. Ich führe deshalb hier die Titel meiner Arbeiten auf, um meine Behauptungen besser begründen zu können: „Untersuchungen über die biologische Bedeutung und den Metabolismus der Eiweißstoffe. I. Der durch Formol titrierbare Aminosäurenstickstoff im Blutserum und in den Blutkörperchen von verschiedenen Tieren.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 72, 104—168. 1915; *ibid.* 74, 278—297. 1916.

II. id. von hungernden und ernährten Tieren. III. Die Permeabilität der Blutkörperchen für Aminosäuren<sup>1)</sup>“.

Zweifellos sind meine Untersuchungen ihrer Natur nach quantitative und beziehen sich auf Plasma und Blutkörperchen. I. Bang schreibt mir auch den Nachweis von Harnstoff in den Blutkörperchen zu: das ist aber in Wirklichkeit nicht der Fall.

Sehen wir uns nun die Ergebnisse seiner Studien etwas näher an: Vor allem muß man sich vor Augen halten, daß er sich zur quantitativen Bestimmung des Aminosäurenstickstoffs einer mikrochemischen indirekten Methode bediente.

Nach meiner Kenntnis dieser Frage ist es falsch anzunehmen, daß der in den Aminosäuren enthaltene Stickstoff, auch nur schätzungsweise, auf dem Wege einer Differenz zwischen den Werten des Nichteisweiß-N und denjenigen des Harnstoffstickstoffs berechnet werden könne. In der Tat sind auch die von I. Bang erhaltenen Werte für den Aminosäurenstickstoff viel höher als die von anderen Forschern gefundenen, welche nach direkten Methoden gearbeitet haben.

Es muß zwar zugegeben werden, daß es keine zuverlässige quantitative Methode für die Aminosäurenbestimmung gibt; sie gestatten alle nur die Ermittlung von Näherungswerten. Ich erwähne in diesem Zusammenhang die Formol- und die Salpetrigsäuremethode, welche die Bestimmung des Aminosäuren-N in der  $\alpha$ -Stellung der Aminosäuren gestatten. Daher müssen die mit diesen letzteren Methoden erhaltenen Zahlen für den Aminosäuren-N erhöht werden. Jedoch ist die Abweichung zwischen den mittels der indirekten mikrochemischen, von Bang benutzten Methode und der direkten, die ich angewandt habe, viel zu stark, als daß man sie auf die oben ausgeführten Umstände zurückführen könnte. I. Bang hätte sich an die Bezeichnung halten sollen, welche Folin und Denis<sup>2)</sup> auf Grund richtiger Überlegung derjenigen N-Fraktion gegeben haben, welche weder Proteine noch Harnstoff des Blutes enthält.

Betrachten wir nun die Schlüsse, welche Bang aus seinen Untersuchungen zieht:

In seiner I. Mitteilung schreibt er: „Von den Aminosäuren

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 51, 91. 1913; *ibid.* 55, 402—411. 1913: Rendiconti Società chimica, sezione di Napoli, 1912.

<sup>2)</sup> Folin und Denis, Journ. of Biolog. Chem. 12, 87. 1912.

besitzen in nicht weniger als 7 Versuchen die Körperchen mehr und bisweilen bedeutend mehr als das Plasma. In 5 Versuchen enthält das Serum keine oder nur ganz geringe Spuren von Aminosäuren“. Außerdem stellt er folgende Erwägung an: „Wenn also die Blutkörperchen die nämlichen oder auch eine größere Quantität Aminosäuren als das Plasma enthalten, hat man eher an zwei andere Möglichkeiten zu denken: 1. die Körperchen haben aktiv mittels einer Zelltätigkeit die Aminosäuren aufgenommen, oder 2. die Aminosäuren der Blutkörperchen kommen nicht vom Serum und entsprechen also keinem vom Darmkanal aufgenommenen Nahrungsstoffe, sondern sind Produkte der intrazellulären proteolytischen Enzymwirkung. Die letzte Annahme scheint die wahrscheinlichste, da bekanntlich eben die Blutkörperchen solche Enzyme enthalten“.

In seiner 2. Mitteilung beschäftigt er sich mit den im Blute enthaltenen Aminosäuren von Tieren im Hunger und nach Nahrungsaufnahme. Er findet diesbezüglich in beiden Fällen keinen Unterschied. Dies widerspricht sowohl meinen Ergebnissen (Formolmethode) als auch denen von D. v. Slyke (Salpetrigsäuremethode)<sup>1)</sup>. Hier kommt ganz kraß zum Vorschein, wie absolut ungeeignet die Bangsche analytische Methode und ihre Versuchstechnik für diesen in Betracht kommenden Zweck sind. Der Verfasser teilt 2 Versuche über die Verteilung der Aminosäuren zwischen Serum und Blutkörperchen bei Tieren im Hunger und nach Aminosäurefütterung mit. Er behauptet, daß sich im letzteren Falle die Aminosäuren ausschließlich im Plasma vorfinden.

Ohne in die Einzelheiten der Versuchstechnik weiter einzugehen, die nichts weniger als einwandfrei ist, so müssen wir, wenn wir nur seine Folgerungen einer Kritik unterziehen wollen, hervorheben, daß Bang wohl eine Anregung zu seinen Arbeiten den meinigen verdankt und daß seine Untersuchungen Wiederholungen der meinigen enthalten. Seine Folgerungen sind zuweilen identisch mit den von mir gezogenen (s. I. und II. Mitt.). Andere seiner Untersuchungen stehen im Widerspruch mit meinen Ergebnissen und denjenigen von v. Slyke, die mit geeigneten Methoden erzielt worden sind und Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben können.

<sup>1)</sup> D. v. Slyke und Meyer, Journ. of Biolog. Chem. 12, 339. 1912.

Ich halte es jedoch für angezeigt, meine Schlußfolgerungen der in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeiten bis zum Jahre 1913 hier zusammenfassend wiederzugeben:

1. Sowohl im Serum wie in den Blutkörperchen des Blutes sind Aminosäuren zugegen.

2. In den kernlosen Blutkörperchen des Blutes von Hunden und Schweinen ist die Menge der Aminosäuren geringer als in den nukleären (Truthahn). Dagegen ist die Menge der im Serum von Säugetieren und Vögeln enthaltenen Blutkörperchen annähernd die gleiche.

3. Bei mit Fleisch gefütterten Tieren (Hund) beobachtet man eine Vermehrung der Aminosäurenmenge im Blute im Vergleich zum Blut von hungernden Tieren, und zwar betrifft die Vermehrung die körperlichen Gebilde des Blutes.

4. Die Menge der im Serum und in den Blutkörperchen enthaltenen Aminosäuren ist bei normal genährten und Hungertieren im ganzen Blutstrom fast dieselbe.

5. Die Blutkörperchen sind für die Aminosäuren durchlässig (s. III. Mitt.).

Auf Grund der gesamten, von mir beobachteten Tatsachen konnten nach meiner Auffassung die folgenden beiden Fragen gestellt werden:

1. „ob die in den Blutkörperchen während der Ernährung beobachtete Vermehrung der Aminosäuren einem speziellen Stoffwechsel der Blutkörperchen zuzuschreiben ist,

2. würde man andererseits den Blutkörperchen insgesamt einen nur untergeordneten Stoffwechsel zuschreiben, wie man es für die roten Blutkörperchen vermuten darf, so stehen wir vor der anderen Frage, ob man den roten Blutkörperchen die Aufgabe zuschreiben soll, die Aminosäuren den Geweben zuzutragen.“

Das Verharren der Aminosäuren in den Blutkörperchen während des Hungerzustandes, ferner die Tatsache, daß sie im ganzen Blutstrom gleichmäßig verteilt sind, daß ihr Gehalt in den nucleären Körperchen ein höherer ist, das waren alles Umstände, die zugunsten eines effektiven Stoffwechsels der Blutkörperchen sprachen. In solchem Falle müßte das Plasma das Vehikel für die Aminosäuren sein. Die Schnelligkeit, mit der diese in die Gewebe und in die Blutkörperchen eindringen, wäre hier nach eine so große, daß unter physiologischen Ernährungs-



bedingungen das Plasma seinen quantitativen Gehalt an Aminosäuren nicht ändern könnte.

Zum Schluß möchte ich noch bemerken, daß die verschiedenen von mir angestellten Versuche die Annahme gestatten, daß die zwei Prozesse — Assimilation und Transport — sich in der Masse der Blutkörperchen während der Nahrungsaufnahme abspielen.

Diese Untersuchungen mußten aus verschiedenen Gründen abgebrochen werden: 1. aus Mangel an Mitteln; 2. infolge des Kriegszustandes. Nunmehr hoffe ich, die Frage, die zu lösen ich mir in den Jahren 1912—13 vorgenommen hatte, wieder bearbeiten und zum Abschluß bringen zu können.

---

## Zur Kenntnis der Chininhämolyse.

Von  
**Alfred Luger.**

(Aus der II. med. Universitätsklinik in Wien, Hofrat Prof. Ortner.)

(Eingegangen am 18. Februar 1921.)

In den hier mitgeteilten Versuchen, welche auf Anregung Prof. Doerrs im bakteriologischen Laboratorium des Josefinums begonnen und auf der II. med. Klinik fortgesetzt worden sind, wurde einerseits das Verhalten mit Chinin vorbehandelter roter Blutkörperchen gegen Agenzien verschiedener Art, andererseits die Beeinflussung der Chininhämolyse nicht vorbehandelter Erythrocyten durch verschiedene Salzlösungen studiert.

Es wurde insbesondere die Beeinflussung mit Chinin vorbehandelter roter Blutkörperchen durch hypotonische Kochsalzlösung, durch Saponin und Alkohol, durch Säuren und Laugen und durch Immunamboceptoren untersucht. Hinsichtlich der Wirkung der Chininvorbehandlung auf die Säuren- und Laugen-hämolyse zeigte sich eine vollständige Übereinstimmung mit den inzwischen von Rusznyak in dieser Zeitschrift mitgeteilten Beobachtungen. Es ergab sich, daß die mit Chinin vorbehandelten Erythrocyten Säuren gegenüber (Salzsäure) eine verminderte Resistenz zeigten, während dieselbe gegen Laugen (Kalilauge, Natriumcarbonat) erhöht war. Auch hier konnte die schon von Rusznyak mitgeteilte paradoxe Beobachtung gemacht werden, daß umgekehrt Chinin die Säurehämolyse nicht vorbehandelter Erythrocyten selbst in hohen Verbindungen hemmt, die Laugen-hämolyse andererseits fördert. In den Versuchen mit hypotonischer Kochsalzlösung, Saponin, Alkohol und Immunamboceptoren wurde folgende Versuchsanordnung eingehalten: Frisches Hammelblut wurde vorsichtig durch Schütteln mit Glasperlen defibriert, wiederholt in 8proz. Rohrzuckerlösung gewaschen, mit

dieser Lösung auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt und schließlich im Verhältnis 1:4 in der Rohrzuckerlösung aufgeschwemmt. Saccharoselösung wurde gewählt, da Vorversuche zeigten, daß Kochsalz die Hämolyse durch salzsaures Chinin — dieses Salz erwies sich für unsere Versuche als das geeignetste — in ganz erheblichem Maße zu steigern vermag. Wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist, vermag z. B. eine halbprozentige Lösung von Chininum muriaticum in Kochsalz — bei Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel — einen Tropfen der 25 proz. Blutaufschwemmung in einer Stunde bei 37° glatt zu lösen, während das entsprechende Röhrchen im Saccharoseversuch noch gar keine Veränderung nach dieser Zeit aufweist und erst nach 24stündigem weiteren Stehen bei Zimmertemperatur eine noch immer inkomplette Lyse erscheinen läßt.

Tabelle I.

Chin. muriat. %	1/2 Stunde 37°	1 Stunde 37°	24 Std. Zimmertemperatur	Bemerkungen
2	+++ Spur gelöst	—	—	} Aufschwemmung u. Verdünnung in 8 proz. Rohrzuckerlösung
1	+++	Spur gelöst	—	
0,5	+++	+++	+	
0,25	+++	+++	±	
2	—	—	—	} Aufschwemmung u. Verdünnung in 0,85 proz. Kochsalzlösung
1	—	—	—	
0,5	+++	—	—	
0,25	+++	+++	—	

In obigen Versuchen wurden stets 2 ccm der betreffenden Chininlösung in physiologischer Kochsalzlösung bzw. 8 proz. Rohrzuckerlösung fortlaufend mit Kochsalz- bzw. Rohrzuckerlösung verdünnt und dann ein Tropfen der 25 proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zugesetzt, welche vorher gleichfalls in der betreffenden Lösung gewaschen und verdünnt worden war. Diese Tabelle, wie auch die folgenden, gibt nur ein Beispiel vieler gleichsinniger Versuche, welche übereinstimmend die beschleunigende Wirkung des Kochsalzes bei der Chininhämolyse zeigten, eine Erscheinung, welche ja bei Hämolyse durch andere Agenzien, durch Tetanolysin (Arrhenius und Madsen) und u. a. auch bei fermentativen Vorgängen manche Analogien erkennen läßt. Es sei hervorgehoben, daß in Versuchen mit relativ höherer Chininkonzentration bei Gegenwart von Kochsalz störende Niederschläge wohl durch Entstehung von Doppelverbindungen auftreten können.

Das Verhalten mit Chinin vorbehandelter Blutkörperchen gegen hypotonische Kochsalzlösung, Saponin und Alkohol war nun ein durchaus verschiedenes, je nachdem ob der Versuch — d. h. vor allem auch die Vorbehandlung der Erythrocyten mit Chinin — bei Gegenwart von Kochsalz oder in Rohrzuckerlösung angestellt wurde. In Rohrzuckerlösung gewaschene Hammelblutkörperchen, welche verschieden lange Zeit bei verschiedener Temperatur bis zu 2stündigem Aufenthalt bei 37° in 0,2—0,002proz. Lösung von Chin. muriat. in Saccharoselösung vorbehandelt wurden, zeigten weder gegen hypotonische Kochsalzlösung noch gegen Saponin und Alkohol ein von den Kontrollen verschiedenes Verhalten. Ganz anders gestaltete sich der Versuch, wenn die Vorbehandlung in physiologischer Kochsalzlösung und Chinin in entsprechender Verdünnung erfolgte und der Versuch schließlich in physiologischer Kochsalzlösung angestellt wurde. Hier zeigte sich, daß eine deutliche Herabsetzung der Resistenz der mit Chinin vorbehandelten roten Blutkörperchen gegen die hypotonische Lösung zu erkennen war. Die folgende Tabelle soll wieder ein Beispiel einer solchen Versuchsanordnung geben.

Tabelle II.

NaCl 0,86%	H <sub>2</sub> O	Kontrolle		0,02% Chininlösung		0,002% Chininlösung	
		10'	24h	10'	24h	10'	24h
0,9	0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,8	0,2	+++	++	+++	++	+++	++
0,7	0,3	+++	+	±	±	+	+
0,6	0,4	—	—	—	—	—	—
0,5	0,5	—	—	—	—	—	—

Zu allen Röhrcchen wurde nach Aufstellung der Verdünnungen, je ein Tropfen der 25proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung aus der gleichen Capillare hinzugefügt, und zwar in die Kontrollröhrcchen Blutkörperchen, welche in gleicher Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung unter gleichen Bedingungen standen waren, in die mit 0,02% und 0,002% bezeichneten Röhrcchen Blutkörperchen, die mit der betreffenden Lösung von Chin. muriat. in physiologischer Kochsalzlösung in Kontakt waren. Die Zeit betrug hier wie bei den Kontrollen 2 Stunden, die Temperatur 37°. Die vorbehandelten Blutkörperchen wurden nachher mit physiologischer Kochsalzlösung auf der Zentrifuge gewaschen, um die Übertragung von Chininspuren mit dem

Lösungsmittel zu vermeiden. Auch die nicht behandelten Kontrollblutkörperchen wurden der gleichen Prozedur unterzogen, um Täuschungen durch Schädigung der Erythrocyten durch das Waschen zu vermeiden.

Das Ergebnis der Prüfung gegen eine in Vorversuchen aus- titrierte 0,005 proz. Saponinlösung in physiologischer Kochsalz- lösung unter ganz analogen Versuchsverhältnissen zeigt folgendes Protokoll.

Tabelle III.

Saponinlösung . . .	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	Alle Röhren nach 1 Stunde bei Zim- mertemp. abgelesen.
Physiolog. Kochsalz- lösung . . . . .	—	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	
Kontrollblut . . .	—	—	—	—	+	+++	+++	+++	+++	+++	
0,02% Chininblut	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,002% Chininblut	—	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

Es ergibt sich somit eine deutliche Erhöhung der Resistenz der mit Chinin vorbehandelten roten Blutkörperchen bei der Saponinhämolyse gegenüber der Kontrolle.

Demgegenüber zeigte die Untersuchung mit Chinin vorbehandelter Hammelblutkörperchen keine Änderung in der Resistenz bei der Alkoholhämolyse. Hier trat sowohl in den vorbehandelten Blutkörperchen als in den Kontrollröhrchen gleichmäßige Lyse bei Ablesung nach 10 Minuten bei Zimmertemperatur bei der entsprechenden Alkoholverdünnung auf.

Der analoge Versuch mit menschlichen Blutkörperchen fiel in gleichem Sinne aus, d. h. auch hier wurden die in verdünnter Chininlösung bei Gegenwart von Kochsalz gehaltenen roten Blutkörperchen weniger resistent gegen hypotonische Kochsalzlösungen, resistenter gegen Saponin, während sie den Ausfall der Alkoholhämolyse nicht wesentlich veränderten. Für die Untersuchung der Empfindlichkeit mit Chinin vorbehandelter roter Blutkörperchen gegen Immnhämolyse wurden Hammelblutkörperchen und Serum von mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Kaninchen gewählt. Auch hier zeigten nur die bei Gegenwart von Kochsalz sensibilisierten Erythrocyten wenigstens bei den angegebenen Versuchsbedingungen eine gesteigerte Empfindlichkeit, während in den kochsalzfreien Versuchen eine Beschleunigung der Hämolyse gegenüber den Kontrollen nicht zu erkennen war.

Demgegenüber erscheint es jedoch bemerkenswert, daß die Immunhämolysc durch Chinin gehemmt wird, wenn man den Versuch in der Weise anstellt, daß bei Verwendung nicht vorbehandelter roter Blutkörperchen Chininlösung in entsprechender Verdünnung zugesetzt wird, wie folgende Zahlen zeigen:

Tabelle IV.

$\frac{1}{2}$  ccm des Kaninchenamboceptors in  $2\frac{1}{2}$  fach lösender Dosis wird mit einem  $\frac{1}{2}$  ccm frischen Meerschweinchenkomplemente (1:10),  $\frac{1}{2}$  ccm einer 5proz. nicht vorbehandelten Hammelblutkörperchenaufschwemmung und schließlich  $\frac{1}{2}$  ccm einer fortlaufend verdünnten 2proz. Lösung von salzsaurem Chinin in physiologischer Kochsalzlösung aufgestellt und das Resultat nach kompletter Lösung der Kontrollen ohne Chininzusatz nach Ergänzung mit der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung abgelesen.

0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,05	0,01
+++	+++	+++	-	-	-	-

In dieser wie in den übrigen Tabellen bedeutet - komplette Lyse, ++ bis + inkomplette Lyse, +++ keine Veränderung.

Daß es sich hierbei nur um eine Hemmung, eine vorübergehende Schädigung handelt, zeigt die Beobachtung nach weiteren 12 Stunden, bei welcher alle Röhrcchen komplette Lyse zeigen.

Die Hemmung der Hämolysc ist hier wohl sowohl auf Schädigung des Komplements als auf solche des Amboceptors zurückzuführen. Wie speziell darauf gerichtete Untersuchungen zeigen, wurde z. B. Kaninchenamboceptor einerseits mit physiologischer Kochsalzlösung, andererseits mit 0,2-, 0,02-, 0,002proz. Chininlösung in Kochsalz im Verhältnisse 1:100 verdünnt, 24 Stunden am Eis stehengelassen und dann in entsprechender Verdünnung ausgewertet; es konnte ein Herabrücken des Titers gegenüber der Kontrolle gefunden werden.

Im Anschluß an obige Versuche wurde auch das Verhalten der Blutkörperchen eines durch längere Zeit mit Chinin behandelten Kaninchens in gleicher Richtung studiert.

Ein 1700 g schweres, männliches Kaninchen wurde in der Zeit vom 5. IV. 1919 bis zum 24. V. 1919 in ein- bis zweitägigen Intervallen mit 0,5proz. Lösung von Chininum sulfuricum in physiologischer Kochsalzlösung in Mengen von 0,2 ccm bis 4 ccm vorbehandelt. Es erhielt auf diese

Weise 0,535 g Chinin<sup>1)</sup>. Die Prüfung der Resistenz der roten Blutkörperchen dieses Kaninchens zu verschiedenen Zeiten der Behandlung ergab eine Herabsetzung gegen hypotonische Kochsalzlösung und gegen Saponinlösung und keine Veränderung der Resistenz bei der Prüfung der Alkoholhämolyse. Auch der hämolysierenden Wirkung einer salzsauren Chininlösung gegenüber ließ sich kein Unterschied zwischen den Blutkörperchen des Kaninchens vor und während der Behandlung nachweisen.

Es wurden ferner die Blutkörperchen gegen die Normallysine in den Seris dreier nicht vorbehandelter Kontrollkaninchen geprüft, doch konnte auch hier den Blutkörperchen gesunder Kaninchen gegenüber kein Unterschied gefunden werden.

Neben Kochsalz, dessen deutlich beschleunigende Wirkung bei der Chininhämolyse bereits oben hervorgehoben wurde, wurde auch eine Reihe anderer Salze geprüft. Abgesehen von dem Allgemeininteresse der Frage schienen derartige Versuche notwendig, da ja gerade in den letzten Jahren durch die Untersuchungen Matkos die Aufmerksamkeit auf die Beziehungen des Harns von Gesunden und Malarikern zur Chininhämolyse gelenkt wurde und es wichtig ist, festzustellen, wieweit einzelne Harnbestandteile an sich die Hämolyse zu beeinflussen vermögen.

Die Chininlösung in Saccharose wurde so gewählt, daß dieselbe zu gleichen Teilen (0,5 ccm) mit Saccharoselösung bzw. 0,5 ccm der betreffenden Salzlösung vermischt, bei Zusatz von einem Tropfen der 25 proz. Hammelblutaufschwemmung in Saccharose in einer Stunde komplett, in einer halben Stunde nur spurenweise zu lösen vermochte.

Das Ergebnis der Wirkung der geprüften Verbindungen zeigt folgende Tabelle:

Tabelle V.

	1/4 Std. 37°	1 Std. 37°		1/2 Std. 37°	1 Std. 37°		1/2 Std. 37°	1 Std. 37°
Kontrolle	Spur Lyse	—						
$n_{/250} \cdot Na_2CO_3$	" "	—	$n_{/250} \cdot K_2CO_3$	+++	—	CaCl <sub>2</sub>	+++	—
$n_{/50} \cdot NaHCO_3$	" "	—	$n_{/50} \cdot KCl$	—	—	$n_{/500} \cdot (NH_4)SO_4$	+++	—
$n_{/350} \cdot Na_2SO_4$	+++	++	$n_{/100} \cdot n_{/350} \cdot KNO_3$	++	+	Harnstoff		—
$n_{/350} \cdot Na_2PO_4$	+++	—	$n_{/100} \cdot KNO_3$	++	—	$n_{/5} \cdot n_{/5}$	—	—
$n_{/50} \cdot n_{/50} \cdot NaNO_3$	—	—	$n_{/50} \cdot n_{/100} \cdot KJ$	±	—	$n_{/350} \cdot n_{/500}$	+++	±
$n_{/50} \cdot n_{/50} \cdot NaFl$	—	—	$n_{/50} \cdot n_{/100} \cdot KH_2PO_4$	+++	++			

<sup>1)</sup> Es sei bemerkt, daß das Versuchstier plötzlich 20 Sekunden nach einer stomachalen Gabe von 4 ccm der halbprozentigen Lösung — in den letzten 4 Tagen mußte das Chinin wegen Verödung der Venen mit dem Magenschlauch gegeben werden — unter anaphylaktoiden Zuständen einging. Die Sektion ergab ein negatives Resultat.

Nach 24stündigem weiteren Stehen bei Zimmertemperatur zeigten alle Röhrrchen komplette Lyse. Die Verdünnungen der Salzlösungen mußten mit Rücksicht auf Niederschlagsbildungen oder Verfärbungen, welche ein einwandfreies Ablesen der Versuche nicht gestatteten, wie in der Tabelle vermerkt, verschieden hoch gewählt werden.

Die oben angeführten Versuche wurden auch in der Weise angestellt, daß Blutkörperchenaufschwemmungen mit der betreffenden Salzlösung 2 Stunden bei Bruttemperatur in Kontakt gelassen wurden, um auf diese Weise zu sehen, ob der Grund des veränderten Verhaltens in erster Linie auf eine dauernde Veränderung der Blutkörperchen zurückzuführen sei. Es wurden hierauf die Blutkörperchen durch Waschen in Saccharoselösung gereinigt und auf ihr Verhalten gegen Chinin geprüft, jedoch ließ sich in diesem Fall weder Hemmung noch Förderung nachweisen.

Es zeigte sich, daß die wenigen untersuchten Salze — ausführlichere Zahlen sollen in einer späteren Mitteilung erfolgen — ein recht verschiedenes Verhalten erkennen lassen. Natrium- und Kaliumsalze können bald fördernd wirken, bald auch eine geringe Hemmung hervorrufen. Calcium hemmt, wenn auch nur wenig. Ein Befund, der dem Verhalten des Calciums in zahlreichen anderen Versuchsanordnungen entspricht und speziell auch in der Calciumhemmung bei der Saponinhämolyse (Mc-Callum) ein Analogon hat. Es sei auch an die Versuche von Eisler und Porthcim, welche sich mit dem Einfluß des Chinins auf die Saftströmung in den Blättern von *Elodea canadensis* beschäftigten, erinnert. Das Verhalten der Salze scheint hier allerdings von dem bei der Chininhämolyse gefundenen Wirkungen abzuweichen, namentlich tritt bei Gegenwart von Kochsalz und Chlorkalium, in den Eisler-Porthcim'schen Versuchen eine schwache, der Konzentration der Lösung entsprechende Hemmung der Chiningiftwirkung auf.

Harnstoff scheint auf die Chininhämolyse bei stärkerer Konzentration einen fördernden Effekt zu haben, bei höherer Verdünnung zu hemmen. Dieses Verhalten des Harnstoffs in relativ konzentrierterer Lösung wurde auch schon seinerzeit von Eisenberg beobachtet.



Ein ähnliches gegensätzliches Verhalten wie beim Harnstoff konnte, wie die Tabelle zeigt, auch beim Chlorkalium festgestellt werden.

•  
**Zusammenfassung.**

Es konnte zunächst die Angabe Rusznyaks hinsichtlich der Wirkung des Chinins bei der Säure- und Laughämolyse sowie der Wirkung dieser Agenzien auf mit Chinin vorbehandelte Erythrocyten bestätigt werden. Ferner wurde eine Reihe von Substanzen auf ihre hemmende oder fördernde Wirkung bei der Chininhämolyse untersucht. Es erscheint namentlich die beschleunigende Wirkung des Kochsalzes für den Ablauf der Chininhämolyse von Bedeutung zu sein. Mit Chinin vorbehandelte rote Blutkörperchen zeigen bei Gegenwart von Kochsalz eine Herabsetzung der Resistenz gegen Wasser und gegen Immnhämolysine, eine Steigerung gegen Saponin und keine Veränderung bei der Alkoholhämolyse, Befunde, welche gegenüber den Beobachtungen Rusznyaks einer Verstärkung der Wasser- und Saponinhämolyse bei Gegenwart von Chinin hervorzuheben sind.

# Über die Wirkung metallischen Kupfers und Silbers auf Diastase.

Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten oligodynamischen  
Phänomene.

Von  
A. Luger.

(Aus der II. med. Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 18. Februar 1921.)

Die durch Behring später erweiterten Beobachtungen Millers, daß Goldplättchen auf die Entwicklung von Bakterien hemmend einwirken, sowie die bekannten Versuche Naegelis, welcher die Wirkung gekupferten Wassers auf Algen studierte, wurden in der Folgezeit in den verschiedensten Versuchsanordnungen an verschiedenen Objekten wiederholt.

Neben der bacteriociden Wirkung, welche wohl die eingehendste Bearbeitung erfahren hat (Behring, Doerr, Ficker, Saxl, Luger u. a.), wurde ein hämolsierender Effekt blanker Metalle (Wollmann, Hausmann, Doerr) sowie gekupfelter Kochsalzlösungen (Hess und Reitler, Luger) gefunden. Es ergab sich ferner eine schädigende Einwirkung auf Protozoen (Israel und Klingmann, Löhner), vielleicht auch auf filterbare Virusarten (Bertschy, Mayer), auf Hefen (Spiro), auf höhere Pflanzen (Köhler) und Metazoen (Bullot). Baumgarten und Luger haben in mehreren Publikationen Beobachtungen über eine schädigende Einwirkung metallischen Kupfers und Silbers auf Fermente (Diastase und Trypsin) und auf Toxine (Tetanus- und Diphtherietoxin) mitgeteilt. Luger, Händel und Segall konnten analoge Befunde in Versuchen mit Blutkatalase erheben. Gerade die letzterwähnten Versuchsanordnungen, das Studium der Einwirkung blanker Metalle auf Fermente schien nun geeignet zu sein, mit Rücksicht auf die verhältnismäßige Einfachheit der reagierenden Komponenten, die in den letzten Jahren durch die Publikationen Saxls zur Diskussion gestellte Theorie der oligodynamischen Phänomene zu klären. Daß die fermenteschädigende Wirkung der Metalle und, wie gleich hinzugefügt werden soll, der Metallsalze den seit Nägeli geltenden Kriterien für oligodynamische Phänomene gerecht wird, geht

aus der schon seinerzeit von Baumgarten und Luger gefundenen Tatsache hervor, daß nicht nur die Metalle selbst, sondern auch destilliertes Wasser, noch mehr Kochsalzlösung, welche bestimmte Zeit bei bestimmter Temperatur mit den genannten Metallen in Kontakt waren, auf den Ablauf des fermentativen Prozesses hemmend einwirken. Das gleiche gilt für Gläser, in welchen Schwermetallsalzlösungen oder Wasser + Metall längere Zeit gestanden waren, sowie für Wasser, welches längere Zeit in so vorbereiteten Gläsern nach gründlichster mechanischer Reinigung aufbewahrt wurde. Es ist klar, und ich habe in früheren Publikationen wiederholt darauf verwiesen, daß in Versuchen mit Bakterien die Verhältnisse oft so kompliziert und unübersichtlich sind, daß bei der großen Zahl der hier mitspielenden Faktoren manchmal eine exakte Deutung des zugrunde liegenden Vorganges kaum möglich ist, wenn auch in einzelnen Versuchen gerade das Studium des Verhaltens der Bakterien gegenüber der Einwirkung von Metallen und „oligodynamischen“ Schwermetallsalzlösungen zu eindeutigen Ergebnissen im Sinne der Lösungstheorie geführt hat. Es ist klar, daß z. B. der an sich schädigende Einfluß des destillierten Wassers, manchmal auch des Leitungswassers, der Kochsalzlösung, mit welchen Medien von vielen Autoren gearbeitet wurde, zu Irrtümern führen kann, vor welchen bei den gewiß bestehenden individuellen Differenzen der einzelnen Mikroorganismen selbst entsprechende Kontrollen nicht immer schützen können. Bei Versuchen in festen oder flüssigen zureichenden Nährmedien bedingt andererseits wieder die Vielheit der anwesenden Salze, der Eiweißgehalt und die Gegenwart von Eiweißbauprodukten eine solche Fülle von Möglichkeiten, daß die Vorgänge im einzelnen kaum vollständig zu durchblicken sind, wenn auch in bestimmten Versuchsanordnungen die Hauptreaktion ungestört ablaufen kann. Es sei in diesem Zusammenhang an die Versuche mit Metallkombinationen erinnert (Thiele und Wolff, Saxl). Hierzu kommen gewiß auch die Stoffwechselprodukte der Bakterien selbst, wenn sie auch nicht vielleicht die Bedeutung für das Zustandekommen der oligodynamischen Phänomene haben, wie es Behring angenommen hat. Es ist ferner zu berücksichtigen, daß, wie M. Jakobý in seinen Studien zur allgemeinen Vergiftungslehre hervorgehoben hat, bei der Einwirkung von Giften auf die Zellstruktur der Bakterien verschiedene Typen in Betracht kommen (grobe Zerstörung, Hemmung der Fortpflanzung, direkte chemische Reaktion der Gifte mit fertigen Fermenten usw.). Typen, die bei den gebräuchlichen Arten der Anstellung der Desinfektionsversuche wohl kaum auseinandergehalten werden können.

Es schien mir naheliegend, die durch die grundlegenden Studien einer Reihe von Autoren über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Fermente (Hata, Jakobý, Euler und Svanberg u. a.) gewonnenen Erfahrungen auf sog. oligodynamische Lösungen zu übertragen, um so einen neuen einwandfreien Beweis für Lösungsvorgänge als alleinige Ursache der oligodynamischen Phänomene zu erbringen.

Im folgenden sollen die Ergebnisse meiner diesbezüglichen Studien, insbesondere die Möglichkeit einer Reaktivierung

der durch Metalle, durch „oligodynamische“ Lösungen und Gläser geschädigten Diastase zum Gegenstand haben, und zwar wurde der Einfluß bestimmter Salze auf vorher mit metallischem Silber und Kupfer inaktivierte oder teilweise geschädigte Diastase und andererseits der Ablauf des diastatischen Abbaues bei Gegenwart der genannten Metalle und der unten angeführten Salze studiert.

Zur Verwendung gelangte ein Parke-Davissches Präparat von Takadiastase. Gewogene Mengen des Diastasepulvers wurden in bestimmtem Verhältnis in destilliertem Wasser aufgeschwemmt, durch sorgfältiges Zerreiben mit dem Glasstabe in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilt, mit Toluol überschichtet und nach mehrstündigem Stehen am Eis filtriert. Bei den nicht zu vermeidenden Verlusten und der daraus resultierenden Ungleichmäßigkeit der Wirkung der Fermentlösungen wurde im folgenden von genaueren quantitativen Angaben der Fermentmengen abgesehen, da ja der Vergleich des unter gleichen Verhältnissen stattfindenden Stärkeabbaues in den Kontrollröhrchen einen genügenden Anhaltspunkt bietet. Im allgemeinen wurde eine Verdünnung von annähernd 1:1000 gewählt. Die Stärkelösung wurde aus löslicher Stärke in der üblichen Weise dargestellt. In den meisten Fällen gelangte ein Kahlbaumsches Präparat zur Verwendung. Die Glasgefäße, welche bei diesen Versuchen benützt wurden, wurden stets gründlich in konzentrierter Salzsäure, dann in fließendem und schließlich in destilliertem Wasser gereinigt, ein Vorgehen, das bei allen „oligodynamischen“ Versuchsanordnungen nicht zu vermeiden ist, wenn man groben Irrtümern begegnen will. Glasgefäße oder Eprouvetten, welche schon einmal mit Schwermetallsalzlösungen längere Zeit in Kontakt waren, sollen am besten für diesen Zweck nicht mehr benützt werden. Bei zeitlich länger ausgedehnten Versuchen sind mit Rücksicht auf die Alkaliabgabe des Glases Jenaer Glassorten zu verwenden. Es kann auch die Benützung sorgfältig paraffinierter Gläser empfohlen werden. Die verwendeten Kupfer- und Silberdrähte wurden ebenfalls peinlich gereinigt und jede Berührung mit dem Finger vermieden. Im übrigen erfolgte die Anstellung des Versuches und die Ablesung der Resultate nach der von Wohlgemuth ausgearbeiteten Technik. In den folgenden Protokollen, welche stets nur ein Beispiel für eine Reihe gleich-

sinniger Versuche darstellen, sollen der Übersicht halber  $+++$  tiefblaue Farbe nach Jodzusatz, also keinen Stärkeabbau,  $++$  eine Spur Abbau, dann von  $++$  bis  $-$  in abfallender Reihe die Unterschiede in den einzelnen Röhrchen bis zur vollständigen Entfärbung bedeuten. Im allgemeinen wurde nach erfolgtem Kontakt ein Tropfen  $\frac{n}{10}$ -Jodlösung zugesetzt, in den Versuchen bei Gegenwart jodbindender Salze mußte natürlich zunächst durch einen Überschuß von Jod die Absättigung erzielt werden, um einen brauchbaren Farbumschlag zu erhalten. Die verwendeten Metallmengen sollen, da ja die Oberfläche in erster Linie bei unserer Versuchsanordnung in Betracht kommt, durch ihre Größenmaße (Oberfläche), nicht durch das Gewicht charakterisiert werden.

**Versuch 1:** 150 ccm einer Diastaselösung, welche bis zu einer Verdünnung von  $10^4$  die doppelte Menge 1 proz. Stärkelösung in 2 Stunden bei  $37^\circ$  abzubauen vermochte, werden in 3 gleiche Teile geteilt. 1 Kölbchen bleibt als Kontrolle, die 2 anderen Proben werden mit blankem Kupferblech (12 cm: 8 mm, 1 mm dick) bzw. mit einer blanken Silberspirale (10 cm lang, ca.  $\frac{1}{2}$  mm dick) versetzt. Nach 12stündigem Stehen am Eis werden diese 3 Diastaselösungen auf ihre Wirksamkeit geprüft.

	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$
D (Kontrolle)	—	—	—	+
D (Cu $12^b$ )	+++	+++	+++	+++
D (Ag $12^b$ )	+	++	++	++
Stärkekontrolle	+++			

Die Diastaselösung wurde somit durch den 12stündigen Kontakt mit Kupfer bzw. Silber empfindlich geschädigt.

**Versuch 2:** Diastaselösung wird auf analoge Weise wie im vorherigen Versuch durch 36 Stunden im Kontakt mit Kupfer geschädigt und der Stärkeabbau durch dieselbe bei Gegenwart von CNK, NaCl,  $K_2S$ ,  $Na_2S_2O_3$  in wässriger Lösung in den aus der Tabelle ersichtlichen Verdünnungen untersucht. Die Kontrolldiastaselösung sowie die gekupferte Diastase gelangen in einer Verdünnung von  $10^4$  zur Verwendung. Der Versuch wird nach 2stündigem Aufenthalt im Brutofen und nach Jodzusatz abgelesen.

	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$	$10^8$	
+ (CNK)	$\pm$	—	—	—	++	+++	D (Kontrolle) $\pm$
+ ( $Na_2S_2O_3$ )	—	—	—	—	+	++	D (Cu $36^b$ ) +++
+ ( $K_2S$ )	—	—	++	+++			Stärkekontrolle +++
D (Cu $36^b$ )	5%	0,05%	0,005%	0,0005%			
+ (NaCl)	—	++	++	+++			

**Versuch 3:** Der analoge Versuch wird mit Silber vorbehandelter Diastase angestellt.

		10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	D (Kontrolle) ±	
D (Ag 36 <sup>h</sup> ) +	{	CNK	++	+	++	++	++	D (Ag 36 <sup>h</sup> ) ++
		Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	+	+	++	++	++	Stärkekontrolle +++
		K <sub>2</sub> S	-	+	++	++	++	
			5%	0,05%	0,005%	0,0005%		
		NaCl	+	+	+	++		

Versuch 4: Destilliertes Wasser wurde 4 Wochen in einem Jenaer Glaskolben gut verschlossen im Lichte bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Ein Vorversuch zeigte, daß nicht vorbehandelte, frische Diastaselösung durch Zusatz einer gleichen Menge derart mit Silber vorbehandelten Wassers in ihrer Wirksamkeit wesentlich geschädigt wurde. Das gleiche Resultat war zu erzielen, wenn das Wasser mit dem Silberdraht 48 Stunden bei 60° in Kontakt blieb. Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis des Stärkeabbaues bei Zusatz derartig vorbehandelten Wassers bei Gegenwart der bezeichneten Salzlösungen.

D (Kontrolle) -; Stärkekontrolle +++; D + H<sub>2</sub>O (Ag 48<sup>h</sup>) ± ± ±.

		10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
D + H <sub>2</sub> O (Ag 48 <sup>h</sup> ) +	{	CNK	+++	++	++
		Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	±	±	±
			5%	0,5%	0,05%
		NaCl	±	+++	+++

Versuch 5: Der analoge Versuch mit „gekupferten Wasser“ bei gleicher Versuchstechnik ergab:

D (Kontrolle) -; Stärkekontrolle +++; D + H<sub>2</sub>O (Cu 48<sup>h</sup>) ± ± ±.

		10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
D + H <sub>2</sub> O (Cu 48 <sup>h</sup> ) +	{	CNK	+++	++	++
		Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	+	+	++
			5%	0,5%	0,05%
		NaCl	±	±	±

In den Versuchen 4 und 5 gelangten 1 ccm Diastaselösung, 1 ccm „gekupferten“ bzw. „gesilberten“ Wassers und 2 ccm destilliertes Wasser in den Kontrollen, bzw. 1 ccm destilliertes Wasser und 1 ccm der entsprechenden Salzverdünnung in den Versuchsрöhrchen zur Anwendung.

Versuch 6: Die Versuchsbedingungen wurden hier in der Weise modifiziert, daß die Diastaselösung nicht mit Metall vorbehandelt wurde, sondern daß ein Kupfer- bzw. Silberdraht in das Stärke-Diastasegemisch + destilliertes Wasser, bzw. + der betreffenden Salzlösung gestellt und nunmehr der Stärkeabbau nach 1/2 Stunde bei 37° beobachtet wurde.

D (Kontrolle) -; Stärkekontrolle +++; D + Kupferdraht ± ±.

		10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
D (Kupferdraht) +	{	CNK	+++	+++	±
			5%	0,5%	0,05%
		NaCl	+++	+++	±

D (Kontrolle) —; Stärkekontrolle +++; D + Silberdraht + .

		10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
D (Silberdraht) +	{	CNK	+++	+++	+
			5%	0,5%	0,05%
		NaCl	+++	+++	++

**Versuch 7:** 10fach verdünnte, gesättigte wässrige Sublimatlösung wurde 14 Tage bei Zimmertemperatur in Glaskölbchen am Lichte stehen gelassen. Dann wurde das Wasser entfernt, die Kölbchen gründlich mechanisch und im fließenden Wasser gereinigt, die Kölbchen neuerlich mit destilliertem Wasser gefüllt und wieder 2 Wochen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde eine dem Versuch 4 und 5 analoge Reihe aufgestellt.

D (Kontrolle) —; Stärkekontrolle +++; D + H<sub>2</sub>O(HgCl<sub>2</sub>) +++ .

D + H <sub>2</sub> O (HgCl <sub>2</sub> )		
NaCl 5%	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 10 <sup>2</sup>	CNK 10 <sup>4</sup>
+	+	+

**Versuch 8:** Analog der von Jacoby seinerzeit angegebenen Versuchsanordnung wurde eine dicke Diastaseaufschwemmung mit metallischem Kupfer (12 cm: 8 mm, 1 m dick) versetzt und 1 Woche am Eis stehen gelassen. Hierauf wird das Kupfer entfernt, die Diastase filtriert und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Aus dem resultierenden trockenen Diastasepulver wird eine Lösung mit destilliertem Wasser im Verhältnisse 1: 500 hergestellt, welche gegenüber der gleichen Verdünnung einer ebenso behandelten, jedoch nicht mit Kupfer versetzten Diastaselösung eine deutliche Abschwächung der Wirkung erkennen läßt.

2 ccm der gekupferten Diastaselösung werden wieder mit 1 ccm Lösung und 2 ccm destillierten Wasser bzw. mit 2 ccm der genannten Salzlösungen versetzt und nach 1 Stunde bei 37° abgelesen.

D (nicht vorbehandelt) —; Stärkekontrolle +++; D (Cu) +++ .

		10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
D (Cu) +	{	CNK	+	±	++	+++
		Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	—	±	±	++
			5%	0,5%	0,05%	0,005%
		NaCl	+	+	++	+++

Der Versuch zeigt also, daß auch hier die durch Kupfer geschädigte Diastase durch Zusatz der betreffenden Salze reaktiviert werden konnte.

Überblicken wir die Resultate obiger Versuche, welche, wie gesagt, nur eine Auswahl einer Reihe gleichsinniger Versuchsanordnungen zeigen, so geht daraus, wie ich glaube, mit Sicherheit hervor, daß die durch Kontakt mit blanken Metallen, durch Kontakt mit „oligodynamischen“ Wasser geschädigte Diastase durch Zusatz der in Rede stehenden Salze mehr oder weniger

wirksam gemacht werden konnte. Dasselbe gilt für den Kontakt mit Wasser, welches durch längeres Stehen in „oligodynamischen“ Gefäßen selbst „oligodynamisch“ geworden war.

Versuch 7 zeigt dies für mit Sublimatlösung vorbehandeltes Glas. Das gleiche Resultat war aber auch mit Kupfer- und Silber- vorbehandlung zu erzielen. Man muß sich, wie ich glaube, in Übereinstimmung mit den Arbeiten früherer Autoren und im Gegensatz zu den Arbeiten Saxls vorstellen, daß Spuren der Metalle in Lösung gehen, als solche beim direkten „oligodynamischen“ Versuch wirksam sind, in Versuchen mit Gläsern am Glas adsorbiert oder im Glas, wie die Analysen von Kieser beweisen, chemisch gebunden werden, um bei neuerlichem Kontakt mit Wasser dieselben wieder abzugeben. Die Wirkungsweise der komplexbildenden Salze muß man sich im Sinne der Ausführungen von Spiro, Jacoby u. a. wohl so vorstellen, daß die dissoziierten Metallionen durch die erfolgte Bindung unwirksam werden und daß andererseits die Affinität zu diesen Salzen wohl eine größere ist als zu dem Ferment, für welches ja gleichfalls eine ähnliche komplexartige Bindung mit den Metallteilchen angenommen wird. Der Ausfall des Versuches bei Gegenwart des Metalles während des Reaktionsablaufes und der vermehrten Schädigung der Fermente bei Zusatz der in Rede stehenden Salzlösungen in dieser Versuchsanordnung entspricht durchaus dem seinerzeit von Spiro in seinen Versuchen mit Hefe entwickelten Gedankengang. Der völlige Parallelismus der Wirkung „oligodynamischen“ Wassers und verdünnter Metallsalzlösungen geht auch daraus hervor, daß der Effekt nicht nur von der Menge, sondern auch von der Art des Zusatzes abhängt, daß man auch in der „oligodynamischen“ Versuchsanordnung, wie in einer weiteren Mitteilung gezeigt werden soll, ein Analogon des Danysz-schen Phänomens beobachten kann, welches ja schon seinerzeit von Pauli zu dem unterschiedlichen Verhalten der sofortigen bzw. sukzedanen Mischungen kolloidaler Lösungen in Beziehung gebracht wurde. Wenn man hierzu noch die Ergebnisse der Arbeiten der letzten Jahre berücksichtigt — ich verweise auf die Versuche von Bechhold, Bail, Doerr, Salus, Süpfle, Streck, Rosenkranz, Weltmann u. a., sowie die eigenen Beobachtungen über das Vorkommen Liesegangscher Figuren im „oligodynamischen“ Bakterienplattenversuch —, so kann kaum ein



Zweifel bestehen, daß die sog. „oligodynamischen“ Phänomene durch Lösungsvorgänge zu erklären sind und daß die Saxl notwendig erscheinende Annahme einer „bisher unbekanntes Energie“ nicht gerechtfertigt erscheint. Es sei jedoch hervorgehoben, daß sich diese Schlußfolgerung zunächst nur auf die „oligodynamische“ Versuchsanordnung im Sinne Naegelis und der anderen Autoren bezieht, daß jedoch die Frage, ob Energien anderer Art in anderer Versuchsanordnung etwa auf der photographischen Platte (Aktinautographie im Sinne von Kahlbaum und Stefens u. a.) in Erscheinung treten, dadurch nicht tangiert erscheint.

---

## **Ergänzungen zu der Arbeit „Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide?“ von E. Herzfeld und R. Klinger<sup>1)</sup>.**

Von  
**Emil Abderhalden.**

(Physiologisches Institut der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 21. Februar 1921.)

Herzfeld und Klinger haben versäumt, einige wichtige, mit ihrer Fragestellung in engster Verbindung stehende Tatsachen mitzuteilen; nämlich:

I. Das Auftreten von Fermenten im Blut, die Rohrzucker spalten können, hat bekanntlich zum erstenmal Ernst Weinland<sup>2)</sup> festgestellt und zwar nach länger dauernder subcutaner Zufuhr des genannten Zuckers bei jungen Hunden.

II. In der gleichen Arbeit teilt Weinland mit, daß Inulin ohne Wirkung ist.

III. Die Versuche von Weinland sind von mir und meinen Mitarbeitern Brahm<sup>3)</sup>, Kapfberger<sup>4)</sup>, Grigorescu<sup>5)</sup> und Wildermuth<sup>6)</sup> wiederholt worden. Es ergab sich, daß die Resultate unregelmäßig waren. Einerseits wurde eine spezifische Wirkung vermißt, und mehrfach gelang es trotz aller Bemühungen nicht, Saccharase im Blut nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker nachzuweisen. In späteren Versuchen, die in der IV. Auflage der Abwehrfermente und im Lehrbuch der Physiologischen Chemie, Band 2, III. und namentlich IV. Auflage, Berücksichtigung gefunden haben, ist ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Ergebnisse mit Kohlenhydraten

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 114, 27. 1921.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Biol. 47, 279. 1906.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 44, 429. 1910.

<sup>4)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 69, 23. 1910.

<sup>5)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 90, 419. 1914.

<sup>6)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 90, 388. 1914.

und insbesondere mit Rohrzucker keine einheitlichen sind. Es sind, von der Annahme, daß die im Blute auftretende Saccharase aus Zellen stammen könnte, die dieses Ferment an den Darm abgeben und von der Vermutung ausgehend, daß die Saccharase im Darm fehlen kann, wenn Rohrzucker in der Nahrung nie zugeführt wird, eine Reihe von Versuchen der folgenden Art ausgeführt worden: Hunde erhielten 6—10 Wochen lang jeden Tag 25—50 g Rohrzucker. Es wurden dann die Versuche mit parenteraler Rohrzuckerzufuhr wiederholt. Auch hier waren die Ergebnisse schwankend. Zu diesen Fütterungsversuchen wurden Tiere gewählt, die bei parenteraler Rohrzuckerzufuhr negativ reagiert hatten. Im ganzen sind zehn Tiere so behandelt worden. Bei dreien davon ließ sich nach der Periode mit Rohrzuckerfütterung Saccharase im Blut nachweisen, nachdem wiederholt Rohrzucker subcutan eingespritzt worden war. Bei den übrigen sieben Tieren zeigte das Blutserum kein Spaltungsvermögen für Rohrzucker. (Vergleiche hierzu Abwehrfermente, 4. Aufl, S. 73).

Kurz vor Ausbruch des Krieges waren neue Versuche im Gange, um festzustellen, worauf die unregelmäßigen Resultate bei parenteraler Rohrzuckerzufuhr beruhen. Es sollte vor allen Dingen erforscht werden, wieviel von dem subcutan zugeführten Rohrzucker im Harn erscheint. Auch hier waren nämlich die Ergebnisse bei früheren Versuchen wechselnd gewesen. 85—96% des zugeführten Rohrzuckers wurden im Harn wieder aufgefunden. Es war nun von größtem Interesse, festzustellen, was aus dem nicht durch die Nieren zur Ausscheidung gelangten Rohrzucker wird. Es ist natürlich an und für sich gleichgültig, ob die Saccharase, die normalerweise jenseits des Darmes in den Geweben nicht anzutreffen ist, im Blutplasma ihre Wirkung entfaltet oder innerhalb der Lymphe oder innerhalb von Zellen, die normalerweise jenes Ferment nicht besitzen. Alle diese Arbeiten sind mitten in der Ausführung unterbrochen worden. Es besteht auch jetzt keine Möglichkeit, Versuchstiere zu halten.

IV. Zahlreiche Versuche sind mit Raffinose ausgeführt worden. Das Ergebnis war regelmäßig negativ<sup>1)</sup>.

V. Röhmann und Kumagai<sup>2)</sup> haben bekanntlich in mehreren Arbeiten, die in dieser Zeitschrift erschienen sind, die Beob-

<sup>1)</sup> Abwehrfermente, 4. Aufl., S. 77.

<sup>2)</sup> P. Kumagai, Diese Zeitschr. 57, 380. 1913.

achtung mitgeteilt, daß nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker das Serum neue Eigenschaften gewinne, und zwar sollen synthetisierende Fermente auftreten. Kumagai (S. 388, l. c.) konnte das Auftreten von Saccharase im Blute nach parenteraler Zufuhr von Rohrzucker bestätigen. Herzfeld und Klinger nehmen zu diesen Versuchen keine Stellung, ja sie erwähnen sie ebensowenig wie die von Weinland.

Aus diesen Darlegungen ergibt sich, daß Herzfeld und Klinger in ihrer Arbeit keine bisher unbekanntem Befunde mitteilen. Es kommt noch hinzu, daß schon mehrere Forscher in den Jahren 1914—1920 Versuche veröffentlicht haben, aus denen hervorgeht, daß das Auftreten von Saccharase nach Einspritzung von Rohrzucker, nicht immer und vielleicht sogar selten gelingt. Leider stehen mir die betreffenden Originalarbeiten nicht zur Verfügung. Es handelt sich um Arbeiten von italienischen und amerikanischen Forschern. Das Wesentliche ist jedoch, daß ich selbst stets berichtet habe, daß es nicht möglich ist, bei parenteraler Zufuhr von Rohrzucker das dieses Disaccharid spaltende Ferment im Blute regelmäßig und mit Sicherheit hervorzurufen. Somit konnte ich unmöglich die Lehre aufgestellt haben, daß nach parenteraler Zufuhr beliebiger, zusammengesetzter Produkte Fermente im Blut auftreten, die diese zu zerlegen vermögen.

In einer der ersten Arbeiten, die sich an den Befund von Proteasen und Peptasen nach parenteraler Zufuhr von Eiweißstoffen bzw. Peptonen anschloß, habe ich am Schluß folgendes zum Ausdruck gebracht: „...möchte jedoch ausdrücklich hervorheben, daß ich dieses Gebiet keineswegs für mich reservieren möchte, sondern vielmehr im Interesse eines möglichst vielseitigen Ausbaues wünsche, daß von verschiedenen Seiten aus die Bedeutung der gemachten Befunde festgestellt wird. Nur auf diesem Wege wird es möglich sein, durch einseitig angestellte Versuche hervorgerufenen Irrtümern vorzubeugen“<sup>1)</sup>. Diese Bemerkungen zeigen, daß mir jede Nachprüfung der Untersuchungen auf dem Gebiete der Abwehrfermente, jede Erweiterung und jede berechtigte Kritik sehr willkommen ist. Ich kann nicht finden, daß die Lehre von den Abwehrfermenten in irgendeiner Weise im Widerspruch mit bekannten Beobachtungen steht. Im Gegenteil lassen

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chemie 62, 249. 1909.

sich die gemachten Feststellungen an längst bekannte Erscheinungen zwanglos anschließen. Nach den von mir gegebenen, über die Vorstellung von Hamburger (artfremd, arteigen, körperfremd, körpereigen) hinausgehenden Begriffe blutfremd, bluteigen, zellfremd, zelleigen und dabei gleichzeitig körpereigen, ist z. B. das bei der Blutgerinnung auftretende Fibrin als fremdartig für den Körper zu betrachten. Man kann hier zweifelhaft sein, ob man es als körperfremd oder aber nur als blut- bzw. zellfremd betrachten soll. Vielleicht ist das Wesentliche bei der Blutgerinnung eine Zustandsänderung und dann wäre der Begriff *zustandsfremd* angebracht<sup>1)</sup>. Wir wissen, daß das im Körper entstandene Fibrin an Ort und Stelle zum Abbau gelangen kann. Ebenso beobachten wir, daß Eiweißausscheidungen, die in Körperhöhlen bei Entzündungen usw. zustande kommen, durch Hydrolyse beseitigt werden können. Es bedeutet nur einen Schritt weiter, anzunehmen, daß auch im Blute selbst auftretende, blutfremde Produkte hochmolekularer, zusammengesetzter Natur durch fermentativen Abbau in Spaltprodukte übergeführt werden können, die keinen besonderen Charakter mehr besitzen und von den Körperzellen verwandt werden können. Ich habe stets betont, daß die sog. Abwehrfermente wahrscheinlich nicht neugebildet werden, sondern vielmehr Leukocyten oder bestimmten Körperzellen entstammen. Das außerordentlich Lückenhafte auf diesem Forschungsgebiet, soweit es andere Stoffe als Eiweißstoffe anbetrifft, habe ich stets hervorgehoben. Ich verweise nochmals auf die stets gegebene Darstellung im Verhalten des tierischen Organismus gegenüber der parenteralen Zufuhr von Kohlenhydraten.

Bei den Versuchen von Herzfeld und Klinger klafft eine große Lücke. Sie führen in der Einleitung an, „daß die meisten fermentativ wirksamen Flüssigkeiten keineswegs eine so schnelle und tiefgreifende Aufspaltung zustande bringen, als es der bisherigen Annahme entspricht“ (S. 27). Logischerweise hätten nun die Autoren statt nur auf Traubenzucker unbedingt auf höhere Abbaustufen fahnden müssen, denn es bleibt die Möglichkeit, daß die verwendeten Polysaccharide in höhere Spaltprodukte als Maltose und Glucose zerlegt worden sind. Ferner bleibt der schon oben erwähnte Einwand bestehen, daß die zugeführten

<sup>1)</sup> Vgl. Emil Abderhalden, Der körper-, blut- und zellfremde Zustand. Arch. f. d. ges. Physiol. 185, 322. 1921.

Produkte nicht im Blut, sondern anderswo zum Abbau kamen. Fortschritte hätte die Arbeit von Herzfeld und Klinger gebracht, wenn sie sich die Frage vorgelegt hätten, was aus den eingespritzten Produkten geworden ist. Bleiben diese unverändert im Blut? Die beiden Forscher Herzfeld und Klinger bemängeln den Ausdruck „Abwehrfermente“, weil er ein teleologisches Gepräge habe! Sie meinen, daß schon dieser Ausdruck hätte Bedenken hervorrufen müssen. Die nach parenteraler Zufuhr bestimmter Stoffe im Blutplasma beobachteten Fermente sind zuerst Schutzfermente genannt worden. Ich habe diesen Namen aufgegeben, weil mit dem Wort Schutzferment etwas ausgesagt wird, was vielleicht gar nicht zutrifft. Ich suchte nach einem neuen Namen. Der Ausdruck „Abwehrfermente“ war mir persönlich nie besonders sympathisch, weil er wieder eine Funktion bzw. einen Zweck zum Ausdruck bringt. Ein neutraler Name wäre mir lieber gewesen. Ich habe aber eine geeignete Bezeichnung nicht finden können. Es kommt ja auch nicht auf den Namen an, und es ist für die Forschung ganz unwesentlich, ob man einmal zum Ausdruck bringt, daß ein Ferment „die Aufgabe hat“, oder zum Beispiel sagt „die Verdauung habe die Aufgabe“ usw., das und das durchzuführen. Das Wesentliche ist, daß ohne Voreingenommenheit geforscht wird, und daß Vorstellungen, die sich an bestimmte Beobachtungen knüpfen, sofort fallen gelassen werden, wenn die Forschung Ergebnisse bringt, die sich mit ihnen nicht vereinigen lassen.

---

# Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle.

Von  
Friedrich Boas.

[Aus dem Botanischen Institut der Landw. Hochschule Weihenstephan\*.]

(Eingegangen am 22. Februar 1921.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Für die Vorgänge der Stoffaufnahme nehmen im Anschluß an die von Quinke<sup>1)</sup> inaugurierte, von Overton<sup>2)</sup> weiter begründete Lipoidtheorie eine Reihe von Autoren wie Czapek<sup>3)</sup>, Kisch<sup>4)</sup>, Höber<sup>5)</sup>, Vernon<sup>6)</sup>, Porges und Neubauer<sup>7)</sup>, Watermann<sup>8)</sup>, mit einigem Vorbehalt auch Nathanson<sup>9)</sup> die Mitwirkung von lipoiden Kolloiden an oder geben wenigstens die Möglichkeit ihrer Mitwirkung zu wie Pauli<sup>10)</sup>. Pfeffer, welcher der Plasmahaut Eiweißnatur zuschreibt, gibt in seiner Pflanzenphysiologie (Bd. 2, S. 342, Anmerkung 2) die Möglichkeit der regulatorischen Mitwirkung von Lipoiden beim Stoffaustausch der Zelle zu, nimmt also keinen durchaus ablehnenden Standpunkt den Gedankengängen der Lipoidtheorie gegenüber ein.

Im Gegensatz zu diesen Auffassungen verneint mit besonderem Nachdruck Ruhland<sup>11)</sup> seit Jahren die Tatsächlichkeit einer Lipoidhaut. Er kann aber doch nicht umhin, ebenso wie Pfeffer, mit der Möglichkeit zu rechnen, daß in gewissen Fällen die in der Zelle zweifellos weitverbreiteten fettartigen Körper das Eindringen mancher Verbindungen begünstigen bzw. hemmen könnten. [Ruhland<sup>11a)</sup>, S. 54.] In der folgenden Arbeit glaube ich nun eine Anzahl derartiger Fälle der Beteiligung von Lipoiden bei dem Stoffaustausch der Zelle nachgewiesen zu haben, so daß die Lipoidtheorie trotz aller Ableh-

\*) Eine vorläufige Mitteilung der hier dargestellten Ergebnisse siehe F. Boas in Ber. deutsch. bot. Ges. **38**, 350—353. 1921.

nungen in der letzten Zeit doch eine gewisse Berechtigung hat. Daß es im übrigen keineswegs angängig ist, die diosmotischen Eigenschaften der Zelle allgemein auf eine so einfache Formel zu bringen, wie sie die „Lipoidhypothese“ bildet, darin kann Ruhland wohl beigestimmt werden.

E. P. Verkade<sup>12)</sup> hat in allerjüngster Zeit eine kurze Kritik des Wertes des landläufigen Begriffes der Öllöslichkeit gegeben, die ohne weiteres als berechtigt anzusehen ist. Auch J. Loeb<sup>13)</sup> hat mit folgenden Worten die Lipoidtheorie bekämpft: „Die weitverbreitete Annahme, daß die Lipide der Zellmembran die Aufnahme und Abgabe von Stoffen durch die Zelle bestimmen, stößt auf die unüberwindliche Schwierigkeit, daß der Stoffaustausch der Zelle auf Wasser und wasserlösliche und nicht auf lipoidlösliche Stoffe eingestellt ist.“

Diese anscheinend glänzende Abführung der Lipoidtheorie übersieht die tatsächliche Notwendigkeit, die Zelle nach außen einerseits einigermaßen abzuschließen, um sie nicht jedem beliebigen Einflusse der Außenwelt hemmungslos preiszugeben, andererseits gleichzeitig mit dem Abschluß eine gewisse Salzeempfindlichkeit zu gewährleisten, die für den Stoffaustausch unerlässlich ist. Eine derartige Empfindlichkeit gegen Salze besitzt aber in hohem Maße eine Lipidoberfläche, keineswegs aber eine reine Eiweißmembran. Denn soweit die Modellstudien im Reagensglas ein Urteil zulassen, sind Eiweißlösungen viel stabiler als Lipide gegenüber Salzeinflüssen. Eine physikalisch chemische Erklärung der Stoffaufnahme wird durch die Annahme einer Eiweißhaut jedenfalls nicht erleichtert, durch die Annahme von Lipiden aber immerhin teilweise gefördert, wie die folgenden Untersuchungen zeigen. Die anscheinend glänzende Abführung der Lipoidtheorie durch J. Loeb stellt sich demnach als ein Trugschluß heraus.

Bei anderer Gelegenheit hat übrigens Loeb<sup>14)</sup> den Lipiden der Plasmahaut bzw. ihrer Lösung als Mittel zur Entwicklungsanregung einen eindeutigen Einfluß zuerkannt.

Unter den Gegnern der Lipoidtheorie sei auch Loewe<sup>15)</sup> angeführt, der für das abweichende Verhalten von Cholesterin gegenüber den gewöhnlichen Lipiden die Klasse der Semilipide geschaffen hat.

An der tatsächlich spezifischen Beschaffenheit der Plasmaoberfläche gegenüber dem Innenplasma kann kein Zweifel sein. Der besondere Bau der Plasmahaut ist eine logische Forderung, und wenn Lipide in der Zelle vorhanden sind, dann müssen sie in bestimmten Mengen auch in der Plasmaoberfläche vorkommen. Ob man sich die Plasmahaut nun als einen festen Verschuß der Zelle oder mehr wie Ruhland im Anschluß an Bechholds<sup>16)</sup> Anschauung eines Ultrafilters von poriger Beschaffenheit denkt, ist für die folgenden Untersuchungen gleichgültig. Denn die ganze Absicht der vorliegenden Arbeit geht dahin, in dem zum



Teil etwas orthodoxen Streit der Meinungen, hier Lipoidtheorie, hier Eiweißtheorie einen eindeutigen positiven oder negativen Beweis dafür zu bringen, ob Lipide bei der Stoffaufnahme und Stoffabgabe eine Rolle spielen. Zur Zeit ist bekanntlich die Lipoidtheorie stark in Mißkredit geraten, man vergleiche z. B. nur das hierher tendierende Werk von Winterstein. Eine Klärung in dem Streit der Meinungen könnte nun eintreten, wenn der Einfluß eines ganz spezifisch auf Lipide, nämlich Lecithin und Cholesterin wirkenden Stoffes studiert wird. Ein spezifisches Reagens auf Lipide, besonders Lecithin und Cholesterin, ist Saponin. Denn Saponin greift nach einer Reihe bekannter Untersuchungen Lecithin und Cholesterin an, indem es den kolloidalen Zustand der Plasmahautlipide durch Lösung, chemische Bindung oder Fällung verändert, auf jeden Fall die Lecithin-Cholesterinbindungen, die z. B. mit Eiweiß vorhanden sein können, aufhebt. Eine Lösung einer abdichtenden Lipoidhaut, eine Fällung\*) einer Lipoidhaut, führt zu einer Erhöhung der Permeabilität. Die Saponinwirkung auf pflanzliche Zellen muß daher in einer Steigerung der Durchlässigkeit bestehen, wenn in der Plasmaoberfläche, in Plasmaporen und Plasmakanälen sich Lecithin oder Cholesterin oder beide zusammen vorfinden.

Das berühmte Beispiel einer derartigen Wirkung auf die Plasmahautlipide ist die Saponinhämolyse der roten Blutkörperchen und die weitgehend studierte Beziehung zwischen Lecithin, Cholesterin und Saponin in der tierischen Physiologie. Es sei hier nur, soweit die Wechselbeziehungen zwischen Saponin, Lecithin und Cholesterin in Frage kommen, auf die grundlegenden Arbeiten von Ransom<sup>18)</sup> und Windaus<sup>19)</sup> verwiesen.

Wenn sich nun bei der Behandlung pflanzlicher Zellen mit Saponin eine ähnliche Beziehung feststellen läßt, d. h. Permeabilitätssteigerung, dann ist auch für die pflanzliche Zelle die Mitwirkung von Lipiden — und sei sie rein passiv — bei der Stoffaufnahme erwiesen und für die Annahme einer reinen Eiweißhaut kein Grund mehr vorhanden. Daß sich die Zelllipide in der

\*) Daß eine Fällung eine Erhöhung der Permeabilität hervorruft, hat Winterstein (mit Muskeleiweiß) nachgewiesen und schon Lepeschkin und Traube im Gegensatz zu Höber angenommen. Vgl. Winterstein, Die Narkose. Berlin 1919, S. 273.

Plasmaoberfläche ansammeln müssen, ist nach dem Gibbsschen Satze schon wegen der großen Oberflächenaktivität der Lipide, z. B. Lecithin und Cholesterin\*), unerlässlich.

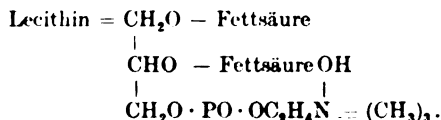
Die Lipide, wie Lecithin und Cholesterin, werden nun aber nicht bloß von Saponin hinsichtlich ihres kolloidalen Zustandes weitgehend verändert, sondern auch Salze, besonders Neutralsalze, wirken in nahezu spezifischer Weise ein, so daß unter Beachtung gewisser Vorsichtsmaßregeln auch aus dem Verhalten der Salze zu pflanzlichen Zellen auf das Vorhandensein von Lipiden geschlossen werden kann, wenn auch nur mit gewissen Vorbehalten. Es ergibt sich also aus dieser kurzen Darlegung die Nötigung, die Wirkung von Saponin, von Salzen und der Kombination Saponin-Salz auf die pflanzliche Zelle zu untersuchen, denn unter dem Einfluß des Saponins verändert sich auch in weitgehendem Maße die Salzempfindlichkeit der Plasmaoberfläche und der Zelle.

Für das Studium der Saponin-, Lecithin- und Cholesterinbeziehungen haben wir — abgesehen von den Arbeiten von *Ranson*, *Windaus* u. a. — sehr gute chemische und kolloidchemische Grundlagen in den Arbeiten von *Kobert*<sup>20)</sup>, *Kisch*<sup>4)</sup> und in ganz hervorragendem Maße von *Porges* und *Neubauer*<sup>7)</sup>. Wir sind also bei den folgenden Untersuchungen jederzeit in der Lage, Vergleiche zwischen dem Ausfall des Zellversuches und dem Ergebnis des Reagensglasversuches zu ziehen. Daß diese Vergleiche oft trotz aller auffallenden Ähnlichkeit doch mit Vorsicht verwertet werden müssen, mag gleich hier an dieser Stelle betont werden, weil die Lipide in der Zelle doch wohl nicht in genau demselben Zustande anzunehmen sind, wie im Reagensglasversuch.

Das uns hier interessierende kolloidchemische Verhalten der beiden wichtigen Plasmahautkolloide Lecithin und Cholesterin\*\*) sei nun in folgendem kurz dargestellt.

\*) Vgl. betreffs Cholesterin die Feststellung von *Czapek*, Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911, S. 67.

\*\*) Über Lecithin und Cholesterin der Hefe vergleiche man die Arbeiten von *Hoppe-Seyler*, *Sedlmayr*, *Roos* und *Hinnsberg*, auch *Löw* und *Nägeli*, die sich bei *Lafar*, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. I, S. 283, 1904—7, und bei *Euler* und *Lindner*, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung, 1915, S. 71, 1914, zusammengestellt finden. Hefe-Lecithin scheint ein Dipalmitincholinlecithin zu sein.



Lecithin stellt also ein Triglycerid dar, in dem das Wasserstoffatom zweier Hydroxylgruppen durch ein Fettsäureradikal (Öl-, Palmitin- und Stearinsäure), das der dritten Hydroxylgruppe durch das Radikal einer esterartigen Verbindung der Phosphorsäure mit einem stickstoffhaltigen Bestandteil, nämlich Cholin, ersetzt ist.

Lecithin ist ein stark quellungsfähiges — hydrophiles — Kolloid von starker Oberflächenaktivität. Es bildet mit Wasser ziemlich haltbare Emulsionen, die von Saponin deutlich aufgehellt werden. Kobert (l. c. S. 48) spricht von einer Lösung des Lecithins, wenn Saponin im Überschuß vorhanden ist.

In der Zelle findet sich Lecithin nach Porges und Neubauer in einem verdichteten Zustande — muß daher für lipoidunlösliche Stoffe undurchlässig sein. Wenn nun Saponin die verdichtete Lipoidhaut angreift, auflockert, aufhellt, löst oder sich sonst wie mit Lecithin verbindet — dann tritt eine starke Erhöhung der Permeabilität ein. „Es scheint nicht unwahrscheinlich, daß diese (verdichtete, der Verf.) Zustandsform durch verhältnismäßig geringfügige Änderungen der Zusammensetzung des umgebenden Mediums Modifikationen erleidet, die eine veränderte Permeabilität nach sich zieht.“ (Porges und Neubauer l. c., S. 175.)

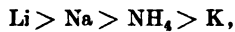
Solche Änderungen können hervorrufen

1. Saponin durch Lösung, Auflockerung oder chemische Bindung (Aufhellung im Reagensglas);
2. Salze (und andere Elektrolyte) durch Fällungen oder sonstige Zustandsänderungen — Dispersitätsänderungen — des kolloidalen Zustandes der Lipoidkomponente.

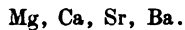
Wenn demnach gleichzeitig Saponin und Salze auf die Hautlipoide wirken, dann muß die Zustandsänderung unter dem Einfluß der beiden angreifenden Teile — Saponin und Salz — so stark werden, daß infolge des überaus erleichterten Eindringens von Salzen in die Zelle schwere Schäden in der Zelle die Folgen sind. Diese Annahme werden wir in den folgenden Untersuchungen bestätigt finden.

Salze wirken nun durch die Kationen und durch die Anionen ändernd auf den Kolloidzustand des Lecithins ein (aber auch auf Eiweiß).

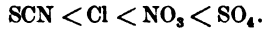
Im Reagensglasversuch fallen die einwertigen Kationen nach der folgenden bekannten lyotropen Kationenreihe:



die zweiwertigen weniger ausgesprochenen nach der Reihe:



Die Anionen wirken nach folgender Reihe in zunehmendem Maße fallend auf lipoide (und eiweißähnliche) Kolloide ein:



Da der kolloidale Zustand der Plasmamembran feststeht, wird man also mit gutem Grunde bei entsprechender Versuchsanstellung ähnliche Anionen- und Kationenreihen bei dem Studium des Salzeinflusses auf die Hefezelle wieder zu finden hoffen können. Nach Analogie der Saponinwirkung darf die Salzwirkung wenigstens wahrscheinlich auf Zustandsänderungen der Oberflächenlipide bezogen werden, wenn auch andere Wirkungen der Salzeinflüsse nicht abgelehnt werden sollen.

Das andere wichtige Lipid ist



Cholesterin findet sich vielfach zusammen mit Lecithin vor. Es ist im Gegensatz zu Lecithin wenig quellungsfähig, stellt also ein hydrophobes Kolloid dar; trotzdem ist es sehr stark oberflächenaktiv, wie Czapek (l. c. S. 67) festgestellt hat. Saponin verbindet sich nach Kobert (l. c., S. 50) mit Cholesterin zu einem Cholesterinsaponin. Porges und Neubauer stellten hingegen bei ihrer Arbeitsweise fest, daß noch von 0,2 proz. Saponin Cholesterin gefällt wird. Salze fallen nach denselben lyotropen Reihen wie bei Lecithin, doch sind hier im allgemeinen größere Salzmengen nötig als bei Lecithin. Nur Aluminiumsulfat fällt noch in den kleinen Konzentrationen von  $n/2000$  sehr stark. Es ist das ein bemerkenswerter Unterschied gegenüber Lecithin.

Lecithin und Cholesterin kommen meist miteinander (in Bindung) vor. Eine Änderung im Kolloidzustand des einen Bestandteiles muß daher die Änderung der ganzen Lipoidphase zur Folge haben. Aus der spezifischen Saponinwirkung auf die beiden Lipide muß demnach auf das Vorhandensein von Lipoiden in der Plasmaoberfläche geschlossen werden.

Aus der Salzwirkung kann auf Lipide geschlossen werden, weil die Lipide Lecithin und Cholesterin schon von Salzkonzen-

trationen verändert werden, bei welchen eine Eiweißhaut noch lange nicht verändert wird, soweit aus Reagensglasversuchen ein Schluß auf die Verhältnisse in der Zelle zulässig ist. Daß die Plasmahaut aus ziemlich salzempfindlichen Stoffen bestehen muß, ist eine logische Forderung, wenn die Stoffaufnahme und -abgabe einigermaßen physikalisch-chemisch verstanden werden soll, denn dann müssen schon ziemlich kleine Salzmengen eine Änderung des Dispersitätsgrades der Plasmahaut hervorrufen, weil die Zellen der Organismen an natürlichen Standorten meist von verdünnten Salzlösungen (Nährlösungen) umgeben sind, und daher aus entwicklungsgeschichtlichen Gründen das Plasma auf eine gewisse Salzempfindlichkeit eingestellt ist. Dies trifft bei einer Lipoidhaut zu, die Eiweißhaut Loebs erfordert ganz andere Salzkonzentrationen um eine Permeabilitätsänderung zu erzielen. Wir sehen schon aus dieser Überlegung, daß der eingangs erwähnte Loebsche Satz wohl blendend aussieht, aber auch nicht einigermaßen zwingend ist. Im folgenden wird im allgemeinen unter dem Namen Oberflächenslipide die Lecithin-Cholesterinbindung verstanden, da ich nicht zu entscheiden wage, inwieweit im einzelnen eine Lecithin- oder Cholesterinreaktion vorliegt. Daß in dem Lipoidkomplex auch noch andere Bindungen sein können, ist damit nicht ausgeschlossen.

Für das Vorkommen von Lecithin und Cholesterin bei Pilzen und Hefen in der Plasmahaut sprach sich Br. Kisch<sup>4)</sup> aus. Er fand nämlich, daß die Herabsetzung der Oberflächenspannung der Plasmahaut auf die Hälfte des Wertes Wasser-Luft Hefezellen und Schimmelpilze irreversibel schädigt. Da nun Lecithin- und Cholesterinemulsionen dieselbe Oberflächenspannung, nämlich 0,5 des Luft-Wasserwertes, haben müssen, wenn sie schädlich wirken sollen, so hat sich Kisch für das Vorkommen von Lecithin und Cholesterin in der Plasmahaut ausgesprochen. Durch diese Feststellung ist eine Lipoidhaut mindestens wahrscheinlich gemacht.

Wenn nun weiter nachgewiesen wird, daß Saponin einseitig auf Lipide, besonders Lecithin und Cholesterin, wirkt, dann ist der Schluß von der Saponinwirkung auf das Vorhandensein einer Lipoidhaut zwingend.

Bis jetzt ist eine Saponinwirkung auf Eiweiß nicht

festgestellt, die der auf Lecithin analog wäre\*). Bei der Saponinhämolyse bleibt ein deutlicher Rest — das eiweißhaltige Stroma — zurück, wie Neufeld und Händl (zitiert nach Höber l. c., S. 426) nachgewiesen haben und wie man sich ohne weiteres im Mikroskop überzeugen kann. Auch bei Hefezellen bleibt bei entsprechender Versuchsanstellung ein hyaliner Rest übrig. Da auch Bechhold\*\*) brieflich die Auffassung teilt, daß eine analoge Saponin-Eiweißbeziehung nicht gegeben ist, wie die Beziehung Saponinlipoid, so ist damit der Schluß auf eine Lipoidhaut aus der Saponinwirkung durchaus eindeutig.

Die weitere Untersuchung der Salzwirkung neben der Saponinwirkung kann dazu verwendet werden, das Vorhandensein von Lipoiden in der Plasmahaut beweisen zu helfen, da eine Eiweißmembran von viel höheren Salzkonzentrationen verändert wird als sie im Leben der Zelle gewöhnlich vorkommen oder eine Rolle spielen. Diese Oberflächenlipide nehmen am Stoffaustausch in bedeutendem Maße teil, wie in folgenden Abschnitten gezeigt wird.

#### I. Teil.

Die vorliegende Arbeit zerfällt in drei Teile, indem im ersten Teil der Einfluß des Saponins und der Salze auf den Verlauf der alkoholischen Gärung und das Wachstum der Hefe festgestellt wird. Der zweite Teil befaßt sich mit dem Austritt von Anthocyan und Gerbstoff aus Zellen höherer Pflanzen, ebenfalls unter dem Einfluß von Saponin und Salzen. Im dritten Teil wird die Wirkung des Narkoticums Chloralhydrat auf die Hefezelle näher untersucht.

#### Versuche mit Hefezellen.

##### Zur Methodik.

Zur Verwendung kam gut gewaschene Weihenstephaner Betriebshefe (untergärig), die stets vor der Verwendung noch mit

---

\*) Die Versuche von Ramsden nach Bechhold (Die Kolloide in Biologie und Medizin 1920, S. 36) mit Saponin-Eiweißgemischen ergeben, daß offenbar zwischen Saponin und Eiweiß keine Reaktion eintritt, da sich beide aus einem Gemisch durch Schütteln trennen lassen.

\*\*) Vgl. hierzu auch Bechhold, H. und W. Kraus, Diese Zeitschr. 109, 227. 1920.

destilliertem Wasser nachgewaschen wurde, um sie möglichst von Salzen und organischen Stoffen zu befreien. Die Gärung fand in Erlenmeyerkölbchen von 100 ccm Inhalt statt. Die Kölbchen standen ohne Verschuß meist bei Zimmertemperatur. Die entwickelte Kohlensäure wurde gewöhnlich durch Wägung festgestellt, die Genauigkeit der Wägung betrug  $\pm 0,02$  g. In einer großen Reihe von Vergleichsversuchen\*), die hier meist nicht erwähnt sind, wurde der Verlauf der Gärung auch in Gärungssaccharometern beobachtet.

### Versuche mit Hefe in salzreicher Lösung.

a) Vorarbeiten: Die Einwirkung von Saponin auf Hefe ist bis jetzt noch wenig untersucht worden, obwohl das merkwürdige hämolytische Verhalten des Saponins zu roten Blutkörperchen Anlaß genug gewesen wäre, auch die Saponinwirkung auf pflanzliche Zellen eingehend zu studieren. Im Jahre 1912 hat J. Lundberg<sup>21)</sup> den Einfluß des Saponins Cyclamin auf Hefe untersucht und eine deutliche Hemmung der Gärungsgeschwindigkeit festgestellt sowohl bei frischer Hefe als bei Trockenhefe.

b) Eigene Versuche: Zur Verwendung kann Saponinum puriss. albiss. Merk, ferner Sap. puriss. Schuchardt. Beide Präparate bestehen in der Hauptsache aus Quillayasapotoxin, wie die Prüfung mit Ammonsulfat im Anschluß an Koberts (l. c., S. 21 ff.) Feststellung ergab.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen sollen nunmehr die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen folgen. Fast alle Versuche sind in mehreren Reihen nebeneinander ausgeführt worden; die in der vorliegenden Arbeit angeführten stellen eine Auswahl aus der großen Anzahl der durchgeführten Versuche dar.

### Versuche mit Rohrzucker.

Versuch 1: Gäransatz.

a) 25 ccm gewaschene dickbreiige Hefe versetzt mit 5 ccm 5proz. Saponin; nach 10 Minuten Zusatz von 20 ccm 25proz. Rohrzuckerlösung.

b) Kontrollversuch ohne Saponin (5 ccm dest. Wasser).

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  bei Zimmertemperatur nach

	2	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	6	8	10	25	30	Stunden
1a)	0,09	0,28	0,52	0,73	0,85	1,38	1,56	Saponinprobe
1b)	0,03	0,15	0,23	0,48	0,58	1,12	1,31	Vergleichsprobe

\*) Ausdrücklich sei bemerkt, daß neben den hier wiedergegebenen Versuchen noch zahlreiche andere zu Vergleichszwecken ausgeführt wurden, um ein möglichst einwandfreies Ergebnis zu erzielen.

Nach diesem Versuche beträgt die Förderung der Gärung durch Zugabe von 0,55% Saponin nach:

2	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	6	8	10	25 Stunden
200	86,6	126	52	46,5	23%

In Versuch 2 wurde die Saponinmenge auf 1,25% erhöht, die Hefengabe auf 10 ccm eingeschränkt, während die Gärtemperatur 33° C betrug. Auch unter diesen wesentlich veränderten Bedingungen ist eine deutliche Förderung der Gärung zu erkennen.

Versuch 2: Gäransatz.

a) 10 ccm Hefe, 10 ccm 5 proz. Saponin, nach 30 Minuten Zusatz von 20 ccm 12,5 proz. Rohrzuckerlösung.

b) Kontrolle (Zusatz von 10 ccm aqu. dest.).

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	2	3	4	5	7	9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden
2a)	0,21	0,41	0,46	0,55	0,79	0,89
2b)	0,17	0,27	0,36	0,42	0,67	0,80

Die maximale Gärungsförderung beträgt in diesem Versuch 51,8% nach 3 Stunden.

In den Versuchen 1 und 2 konnte Saponin 10–30 Minuten auf die Hefe einwirken, ehe der Rohrzuckerzusatz erfolgte. In Versuch 3 erfolgte der Rohrzuckerzusatz unmittelbar nach der Saponingabe. In diesem Falle ist die Saponinwirkung nur noch gering, aber nach den vorausgehenden Versuchen doch so deutlich, daß sie noch als außerhalb der Fehlerquellen liegend erkannt werden kann.

Versuch 3.

Gäransatz wie bei Versuch 2. Rohrzuckerzusatz unmittelbar nach der Saponingabe. Temperatur 33° C.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	2	3	4	5	7	9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden
3a)	0,28	0,46	0,51	0,60	0,81	0,93 (1,25% Saponin)
3b)	0,26	0,41	0,49	0,56	0,70	0,90 (Kontrolle)

Nach 9<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden ist hier eine maximale Gärungsförderung von nur 12,8% zu beobachten. (Hemmung die durch Zuckerwirkung. Vgl. hierzu Versuch 7.)

### Versuche mit Maltose und Dextrose\*).

Weitere Versuche mit Rohrzucker anzuführen, erübrigt sich, um so mehr, als bei den später zu behandelnden Salzversuchen noch reichlich Gelegenheit gegeben ist, Saponinwirkung bei Rohrzuckergegenwart zu erwähnen. Schon um dem an sich nicht hoch anzuschlagenden Einwände zu begegnen, die bis jetzt konstatierte Saponinwirkung könnte einzig auf einer Aktivierung der Invertase beruhen, folgen nunmehr einige Versuche mit Maltose. Diese Versuche wurden im Henkelschen Katalaseapparat anstellt, um der hohen Kosten wegen an Zucker zu sparen.

\*) Die reinsten Präparate des Handels kamen zur Verwendung.



**Versuch 4: Gäransätze.**

- a) 5 ccm Hefe, 5 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm 9proz. Maltose.  
 b) 5 ccm Hefe, 3 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm 9proz. Maltose.  
 c) 5 ccm Hefe, 5 ccm Wasser, 5 ccm 9proz. Maltose.

Es sind entwickelt Kubikzentimeter  $\text{CO}_2$  bei einer Temperatur von  $21^\circ\text{C}$  nach:

	27	37	47	57	67	77	Minuten
4a)	1,8	4	6	8	10	12	} Saponin
4b)	2,5	5	7,5	11	13	15,5	
4c)	1,4	2,5	3,5	5,5	6,8	8,5	

Ein unter ähnlichen Bedingungen mit Dextrose angestellter Versuch ergab folgendes Resultat.

**Versuch 5: Gäransätze.**

- a) 5 ccm Hefe, 5 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm 10proz. Dextrose.  
 b) 5 ccm Hefe, 5 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm 10proz. Dextrose.  
 c) 5 ccm Hefe, 5 ccm Wasser, 5 ccm Dextrose.

Es wurden entwickelt Kubikzentimeter  $\text{CO}_2$  nach:

	25	42	45	50	60	65	70	75	Minuten
5a)	3	6,5	7,5	8	15	17	19,5	} Saponin	
5b)	3	6,5	7,5	—	—	16,5	18		19,5
5c)	1	2	2,5	3,5	7,0	8,0	9,5		*10,5

In beiden Fällen, also sowohl mit Maltose als mit Dextrose, wurde eine beträchtliche Förderung der Gärung durch Saponin erzielt. Infolge des starken Schäumens dieser Saponinversuche wurde aber stets der gewichtsanalytischen Bestimmung der Vorzug vor den Gärversuchen im Katalaseapparat oder Gärungs-saccharometer gegeben. An der Förderung der Gärung durch Saponin kann aber auch bei den zwei letzten Versuchen kein Zweifel sein, da man schon mit bloßem Auge den geradezu stürmischen Verlauf der Gärung im Gegensatz zur Kontrollgärung beobachten kann.

**Einfluß der Saponinkonzentration.**

Im allgemeinen hat sich gezeigt, daß die Gärungsförderung durch Saponin der Saponinkonzentration parallel geht, jedenfalls kann, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht, die Saponinwirkung nicht als Katalyse betrachtet werden, es handelt sich, wie ja aus der Einleitung, schon hervorgeht, um eine chemische Beziehung zwischen Saponin und Plasmahautlipoid.

Den Einfluß der Saponinkonzentration auf die Gärung und gleichzeitig die hervorragende Übereinstimmung der Versuche zeigt die folgende Tabelle.

Versuch 6: Gäransätze.

10 ccm Hefe.

- a) Kontrolle, 20 ccm aqua dest.
- b) 20 ccm 5 proz. Saponin
- c) 5 ccm 5 proz. Saponin
- d) 2 ccm 5 proz. Saponin
- e) 10 ccm 5 proz. Saponinum crudum\*)
- f) 5 ccm 5 proz. Saponinum crudum

Zugabe von 20 ccm  
15proz. Rohrzuckerlösung  
nach 5 minutiger Einwir-  
kung des Saponins.  
Gesamtvolumen 50 ccm  
(durch Wasser ergänzt).

Es wurden entwickelt Gramm nach:

	1	6	9	Stunden
a)	0,05	0,57	0,75	Kontrolle
	0,04	0,55	0,73	
b)	0,09	0,73	0,89	2% Saponin
	0,09	0,73	0,89	
c)	0,12	0,67	0,85	0,5% Saponin
	0,10	0,70	0,83	
d)	0,10	0,63	0,79	0,2% Saponin
	0,10	0,63	0,79	
e)	0,07	0,95	1,15	Saponinum crudum
	0,09	0,82	1,04	

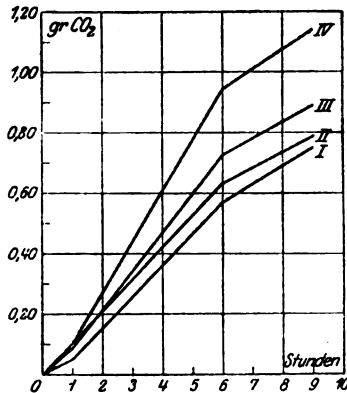


Abb. 1.

- I. Gärung ohne Zusatz. Versuch 6a.
- II. Gärung bei Gegenwart von 0,2% Saponin. Versuch 6d.
- III. Gärung bei Gegenwart von 2% Saponin. Versuch 6b.
- IV. Gärung mit Zusatz von 1% Saponin. Versuch 6c.

Die Gärungsförderung nimmt deutlich mit der Saponinmenge ab. Besonders stark wirkt Saponinum crudum Merk; worauf dies beruht, kann nicht angegeben werden. Vergleiche hierzu Schaubild 1.

\*) Verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. Hei-  
duschka, Dresden.

### Einfluß des Zustandes der Hefe.

Nach zahlreichen Beobachtungen ist es nicht gleichgültig, ob man ruhende oder gärende Hefe mit Saponin behandelt. Die sog. Vorbehandlung spielt bekanntlich in der Literatur über die Physiologie der Hefe eine große Rolle, es braucht hierauf nicht weiter eingegangen zu werden. Im Versuch 7 wurde die Hefe in einem Falle 20 Minuten mit Saponin behandelt (7a), im zweiten Falle wurde erst nach Beginn der Gärung Saponin zugesetzt. Die erhaltenen Unterschiede sind sehr deutlich, wie die folgende Zusammenstellung zeigt.

Versuch 7: Gäransätze.

- a) 10 ccm Hefe, 10 ccm Saponin (5proz.), 10 ccm H<sub>2</sub>O; Rohrzucker (20 ccm) nach 20 Minuten zugesetzt.
- b) 10 ccm Hefe, 20 ccm Rohrzucker von 15%; Saponin nach Angärung.
- c) 10 ccm Hefe, 20 ccm Wasser, 20 ccm Rohrzucker; als Kontrolle.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	3 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>	20	Stunden	
7a)	0,26	0,84	}	Saponin vor der Zuckerzugabe zugesetzt
	0,26	0,82		
7b)	0,22	0,79	}	Saponin nach Angärung zugesetzt
	0,22	0,80		
7c)	0,17	0,72	}	Kontrolle
	0,19	0,73		

Die volle Wirkung des Saponins wird also durch vorherige Zugabe von Zucker deutlich gehemmt, wenn gleich gegenüber der Kontrolle noch eine kräftige Gärungsförderung in allen Fällen zu beobachten ist\*).

Diese Beobachtung erscheint mir aus zwei Gründen als bemerkenswert.

Durch die Angärung entsteht Alkohol und alkoholische Lecithinlösungen sind stabiler als wässrige. Analog können wir annehmen, daß durch den Alkohol der Gärung die Saponinwirkung an der nun stabileren Lipoidhaut nicht mehr voll zur Geltung kommt.

Die andere Annahme ist die, daß die Lipoide eine Bindung mit Zucker eingehen und auf diese Weise am Zuckertransport in die Zelle beteiligt sind. Durch diese Betätigung der Lipoide — Zucker-Lipoidverbindung — wäre dann ebenfalls der Saponinwirkung einigermaßen entgegengewirkt. Welche Annahme die wahrscheinlichere ist,

\*) Vgl. hierzu den ganz ähnlich verlaufenen Versuch 3.

lasse ich dahingestellt\*). Wir werden später bei der Besprechung der Saponin-Salzwirkung ähnliche Erscheinungen wieder finden.

Bisher wurde durchaus mit untergäriger Hefe gearbeitet; es darf ganz kurz erwähnt werden, daß mit obergäriger Hefe (Freisinger Weizenbierhefe) ganz ähnliche Resultate erhalten wurden. Da diese Versuche, die mit Dextrose als Zucker durchgeführt wurden, nichts Neues ergaben, kann von einer Wiedergabe eines Versuchsprotokolls abgesehen werden.

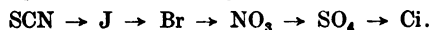
### Versuche in salzhaltiger Lösung.

#### 1. Salze allein.

Bevor die Saponin-Salzwirkung auf Hefe dargestellt wird, ist es zweckmäßig, zuerst die reinen Salzwirkungen auf gärende Hefezellen von kolloidchemischen Gesichtspunkten aus einer kurzen Untersuchung zu unterziehen.

Arbeiten über die Wirkung von Salzen auf die alkoholische Gärung liegen in großer Anzahl von seiten der Theoretiker wie von seiten der Gärungspraktiker vor. Die fördernde Wirkung von Kaliumnitrat auf die Gärung haben Fernbach und A. Langenberg<sup>22)</sup> betont; E. Drabble und D. G. Scott<sup>23)</sup> untersuchten die Chloride und Nitrate von Natrium und Kalium, ohne eine merkliche Wirkung beobachtet zu haben. E. Kaiser<sup>24)</sup> fand, daß Mangannitrat stärker wirkt als Kaliumnitrat. Eine ausgedehnte Untersuchung über Salzwirkung verdanken wir H. Lange<sup>25)</sup>. Zahlreiche Angaben finden sich ferner bei Henneberg<sup>26)</sup>, Euler und Kassel<sup>27)</sup> fanden die gärungsfördernde Eigenschaft von Formiaten, und Hägglund<sup>28)</sup> gab in allerjüngster Zeit eine Darstellung der Wirkung von Alkalisulfiten und Sulfaten.

Alle diese Arbeiten sind mehr oder minder kasuistischer Natur und tragen zur vorliegenden Fragestellung nichts bei. Da die Plasmahaut als Kolloid aufzufassen ist, und zwar wohl in der Hauptsache als hydrophiles Lipoid, so müssen die Salze genau nach den bekannten lyotropen Reihen\*\*) die Plasmahaut verändern. Nehmen wir z. B. eine Lipoidhaut an, so müssen die Anionen in folgender Reihenfolge die Gärung begünstigen:



\*) Doch erscheint mir die letztere Annahme die wahrscheinlichere zu sein.

\*\*) Auch die Wachstumsverhältnisse folgen lyotropen Reihen, wie sich bei *Aspergillus niger* sehr schön zeigen läßt. (Unveröffentlichte Versuche.)

Denn eine Lecithinemulsion wird nach derselben Reihenfolge gefällt, wobei Rhodanide wirkungslos sein können oder Lecithinemulsionen geradezu aufhellen. Wir dürfen nun annehmen, daß einer Fällung im Reagensglasversuch eine Erhöhung der Permeabilität entspricht, was z. B. bei Hefe erhöhten Zuckerumsatz zur Folge haben wird.

#### a) Versuche mit Alkalisalzen.

Es sollen nun im folgenden die Salzversuche kurz dargestellt werden.

##### Versuch 8.

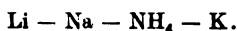
- |  |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| a) 10 ccm Hefe, 20 ccm dest. Wasser                  | } | + 10 ccm dest. Wasser |
| b) 10 ccm mol. $\text{LiNO}_3$                       |   |                       |
| c) 10 ccm mol. $\text{KNO}_3$                        |   |                       |
| d) 10 ccm mol. $\text{NaNO}_3$                       |   |                       |
| e) 10 ccm mol. $\text{NH}_4\text{NO}_3$              |   |                       |
| f) Je 5 cm $\text{LiNO}_3 + \text{NaNO}_3$           |   |                       |
| g) Je 5 ccm $\text{LiNO}_3 + \text{NH}_4\text{NO}_3$ |   |                       |

Nach guter Durchmischung Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	2	4 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	20 $\frac{1}{2}$	Stunden
a)	0,00	0,29	0,44	0,92	Kontrolle
b)	0,04	0,13	0,44	0,89	$\text{LiNO}_3$
c)	0,10	0,29	0,57	1,11	$\text{KNO}_3$
d)	0,08	0,24	0,45	1,06	$\text{NaNO}_3$
e)	0,08	0,26	0,49	1,04	$\text{NH}_4\text{NO}_3$
f)	0,08	0,22	0,28	0,75	$\text{LiNO}_3\text{NaNO}_3$
g)	0,06	0,26	0,45	0,92	$\text{LiNO}_3\text{NH}_4\text{NO}_3$

Es ordnen sich also die Salze, in  $\frac{m}{5}$ -Lösung angewendet, nach steigender Förderung der Gärung in folgender Reihe an:



Die Lithiumwirkung wird durch zugesetztes Natriumsalz deutlich verstärkt, dagegen durch Ammonsalz aufgehoben. Nach 7 $\frac{1}{2}$  Stunden ist bei allen Salzen (mit Ausnahme der Kombination Lithium-Natrium) jede schädigende Wirkung aufgehoben, wenn die salzarme Probe als Vergleichsgrundlage angenommen wird.

Wendet man statt der  $\frac{m}{5}$ -Lösungen  $\frac{m}{10}$  an, so ändert sich an dem Gesamtbild nichts Grundsätzliches, wie der folgende Versuch zeigt.

**Versuch 9.**

Gäransätze wie 8. Die Salzkonzentration halb so groß als in Versuch 8.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	2	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	20	Stunden
	0,10	0,29	0,44	0,92	Kontrolle
	0,10	0,29	0,44	0,89	LiNO <sub>3</sub>
	0,12	0,36	0,54	1,12	KNO <sub>3</sub>
	0,11	0,35	0,57	1,11	NaNO
	0,11	0,33	0,54	1,11	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>

In m/10-Lösung entfaltete in den ersten 7 Stunden auch Lithiumnitrat keine schädigende Wirkung mehr. Von einem deutlichen Unterschied der Salzwirkung kann hier nicht mehr gesprochen werden, da die Unterschiede zu gering werden, mit Ausnahme der nach 20 Stunden beträchtlichen Differenz zum Nachteile des Lithiumnitrates.

Nach der Festlegung der Kationenreihe soll auch noch im Interesse des Verständnisses der Salzwirkung, als eines Kolloidvorganges, kurz die Anionenwirkung geschildert werden. Für diesen Zweck wurden folgende Ammonsalze verwendet: Rhodan- ammon, Chlorammon, Ammonsulfat, Ammonnitrat und Ammoncitrat. Genau wie in Versuch 9 wurden 10 ccm Hefe mit einer Mischung bestehend aus 10 ccm molaren Ammonsalzes und 10 ccm destillierten Wassers übergossen und gut durchgemischt. Nach 15 Minuten wurden 20 ccm Rohrzuckerlösung (15%) zugesetzt.

**Versuch 10.**

Es wurden Gramm CO<sub>2</sub> entwickelt nach:

	1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	5	21	Stunden
	0,06	0,19	0,41	0,99	Kontrolle
	0,04	0,22	0,42	0,99	
	0,06	0,17	0,25	0,99	NH <sub>4</sub> SCH
	0,06	0,18	0,26	0,98	
	0,07	0,26	0,41	1,14	NH <sub>4</sub> Cl
	0,06	0,27	0,42	1,15	
	0,12	0,32	0,48	1,16	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	0,10	0,32	0,46	1,17	
	0,07	0,22	0,35	1,07	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
	0,06	0,21	0,33	1,10	
	0,09	0,36	0,46	1,19	NH <sub>4</sub> Ci*
	0,09	0,37	0,48	1,21	

Für die Fällung von Lecithin (aber auch ebenso von Eiweiß) gilt die allgemeine lyotrope Anionenreihe:



Diese Regel finden wir hier bei der Anwendung von Ammonsalzen genau wieder. Da die Saponinwirkung auf Lipide bezogen werden muß, kann in dem Verhalten der Salze nach den bekannten lyotropen Reihen eine indirekte Bestätigung des Schlusses von der Saponinwirkung auf das Vorkommen von Lipoiden in der Plasmahaut erblickt werden. Daß die Salzwirkung nur bedingt in obigem Sinne verwertet werden kann, wurde schon in der Einleitung ausdrücklich betont.

#### b) Versuche mit Erdalkali-Salzen.

Die Wirkung der Erdalkalisalze auf den Verlauf der Gärung stuft sich nach folgender Kationenreihe ab

Ba, Ca, Mg.

Auf gewöhnliche Eiweißlösungen wirken die Erdalkalisalze irreversibel fällend ein: wäre dies bei Hefe der Fall, so dürfte eine Hemmung der Gärung zu erwarten sein, was der folgende Versuch nicht bestätigt. Nach Porges und Neubauer (l. c. S. 157) fällen die Erdalkalisalze Lecithin und Cholesterin ziemlich stark. „Ein bemerkenswerter Unterschied im Vergleich zu der Eiweißfällung liegt in der niedrigen unteren Fällungsgrenze der Erdalkalien, die an die Reaktionen der sog. Suspensionskolloide erinnert“ (Porges und Neubauer l. c., S. 166), d. h. schon kleine Salzmengen wirken fällend. Nach dieser kleinen kolloidchemischen Übersicht über das Verhalten der Lipide zu Erdalkalisalzen sollen nun die Ergebnisse des Heferversuches dargestellt werden.

#### Versuch 11.

Zu 10 ccm Hefe kamen:

- |   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 20 ccm dest. Wasser                            |                           |
| 2. 9 ccm 4,2 proz. Kochsalzlösung + 11 ccm Wasser |                           |
| 3. 6 ccm 4,2 proz. Kochsalzlösung + 14 ccm Wasser |                           |
| 4. 4 ccm 4,2 proz. Kochsalzlösung + 16 ccm Wasser |                           |
| 5. 9 ccm 10 proz. Chlorbariumlösung*)             | } + dest. Wasser wie oben |
| 6. 6 ccm 10 proz. Chlorbariumlösung               |                           |
| 7. 4 ccm 10 proz. Chlorbariumlösung               |                           |
| 8. 9 ccm 5 proz. Chlorcalciumlösung*)             | } + dest. Wasser wie oben |
| 9. 6 ccm 5 proz. Chlorcalciumlösung               |                           |
| 10. 4 ccm 5 proz. Chlorcalciumlösung              |                           |
| 11. 9 ccm 6,1 proz. Magnesiumchloridlösung*)      |                           |
| 12. 4 ccm 6,1 proz. Magnesiumchloridlösung        |                           |

\*) Wasserfreies Salz.

Nach 10 Minuten erfolgte Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	1 1/2	3	5	21	Stunden
1.	0,08	0,15	0,34	1,06	CO <sub>2</sub> (Kontrolle)
2.	0,08	0,24	0,37	1,17	} NaCl
3.	0,06	0,19	0,26	1,07	
4.	0,06	0,21	0,30	1,10	
5.	0,09	0,20	0,41	1,22	} BaCl <sub>2</sub>
6.	0,09	0,23	0,38	1,18	
7.	0,11	0,25	0,40	1,12	
8.	0,08	0,20	0,34	0,95	} CaCl <sub>2</sub>
9.	0,10	0,23	0,33	1,07	
10.	0,08	0,19	0,29	0,95	
11.	0,06	0,19	0,30	0,90	} MgCl <sub>2</sub>
12.	0,08	0,23	0,41	1,07	

Es wirkt nach dieser Übersicht BaCl<sub>2</sub> erkennbar stärker permeabilitätssteigernd als NaCl, die beiden anderen Salze fallen deutlich gegenüber Chlorbarium ab, so daß sich die folgende Reihe ergibt:



Jedenfalls kann aus dieser Versuchsreihe keine Giftwirkung erkannt werden, die doch vorhanden sein müßte, wenn die Plasmaoberfläche eiweißähnlicher Natur wäre und mindestens bei dem stoffwechselfremden Chlorbarium auftreten dürfte.

Bei der Eiweißfällung verhalten sich Magnesiumsalze durchaus wie Alkalisalze, dagegen bei der Einwirkung auf Lecithin durchaus wie Erdalkalien. Diese letztere Erscheinung kommt nach meiner Meinung in dem folgenden Versuch ganz ausgesprochen zur Erscheinung.

Versuch 12: Gäransätze.

Zu 10 ccm Hefe kamen:

- |   |   |  |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>a) 20 ccm Wasser</li> <li>b) 10 ccm n-NaCl + 10 ccm Wasser</li> <li>c) 7 ccm m-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 13 ccm Wasser</li> <li>d) 15 ccm m-MgSO<sub>4</sub> + 5 ccm Wasser</li> <li>e) 10 ccm 3proz. Saponin + 10 ccm Wasser</li> <li>f) 10 ccm n-NaCl + 10 ccm Saponin</li> <li>g) 6 ccm m-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Saponin und Wasser</li> <li>h) 15 ccm m-MgSO<sub>4</sub> + 10 ccm Saponin</li> </ul> | } | 20 ccm Rohrzuckerlösung von 15%<br>Gesamtvolumen<br>50 ccm |
|---|---|--|



Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	1	3	4	5 $\frac{1}{2}$	20	Stunden
a)	0,02	0,15	0,21	0,26	0,89	Kontrolle
b)	0,01	0,16	0,20	0,28	0,95	$\frac{m}{5}$ -NaCl
c)	0,03	0,15	0,24	0,33	1,02	$\frac{7}{50}$ -m- $\text{Na}_2\text{SO}_4$
d)	0,03	0,19	0,31	0,42	1,06	$\frac{15}{50}$ -m- $\text{MgSO}_4$
e)	0,03	0,17	0,27	0,33	0,93	Saponin
f)	0,00	0,04	0,07	0,10	0,48	NaCl Saponin
g)	0,00	0,05	0,09	0,11	0,50	$\text{Na}_2\text{SO}_4$ Saponin
h)	0,02	0,06	0,09	0,13	0,47	$\text{MgSO}_4$ Saponin

Es wirkt nach dieser Übersicht Magnesiumsulfat nicht wie ein Alkalisalz, wie es zu erwarten wäre, wenn die Salzwirkung sich auf Eiweiß erstrecken würde.

Von den Erdalkalisalzen wirkt am stärksten Chlorbarium; es übertrifft erkennbar die Kochsalzwirkung. Dagegen sinken Chlorcalcium und Chlormagnesium erheblich ab, bedingen aber mindestens eine geringe Förderung der Gärung gegenüber der salzarmen Kontrolle. Die Abstufung nach der Reihe  $\text{Ba} > \text{Ca} > \text{Mg}$  ist deutlich.

Da nunmehr die Wirkung der Kationen und Anionen in großen Umrissen festgelegt und als Kolloidvorgang an Lipidoberflächen aufzufassen sein dürfte, denn die Saponinwirkung zeigt auf diese Auffassung hin, soll in dem folgenden Teil der kombinierte Einfluß von Saponin und osmotisch wirksamen Verbindungen, nämlich Alkali-, Erdalkali- und Aluminiumsalzen und schließlich auch Nichtelektrolyten zur eingehenden Darstellung kommen.

## 2. Saponinwirkung kombiniert mit Salzen.

### a) Mit Alkalisalzen.

Daß Saponin für sich angewendet gärungsfördernd wirkt, wurde in zahlreichen Versuchen gezeigt. Ebenso wirken die meisten geprüften Neutralsalze. Dagegen vernichtet eine Saponin-Salzmischung die gärungsfördernde Wirkung der an sich günstig wirkenden Komponenten Saponin und Salz. Dabei kann die Salzkonzentration recht gering sein und doch zu beträchtlicher Schädigung der Zelle im Verein mit Saponin führen. Infolge der Lockerung der den hemmungslosen Salzeintritt hindernden Lipide der Plasmaoberflächen dringen nunmehr die Salze schnell in

die Zelle ein, was zur Zerstörung der Plasmastruktur führt. Diese Wirkung läßt sich auch unter dem Mikroskop gut verfolgen, besonders wenn man die Zellen nach einer bei Gegenwart von Saponin und Salz stattgefundenen Gärung untersucht. Die meisten Zellen sind länglich, spitz, klein, mit wässrigem hyalinen Plasma ohne Vakuolen, sehr viele geschrumpft und tot.

Den Verlauf der Gärung in einer Salz-Saponinmischung zeigt Versuch 12 a.

Versuch 12a. Gäransätze.

a) 25 ccm Hefe, 5 ccm 5proz.  $\text{NaNO}_3$  + 5 ccm dest. Wasser.

b) 25 ccm Hefe, 5 ccm 5proz. Saponin + 5 ccm 5proz.  $\text{NaNO}_3$ .

Nach Durchmischen Zusatz von 20 ccm 25proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	2	$3\frac{3}{4}$	6	8	10	20	30	Stunden
a)	0,07	0,18	0,43	0,64	0,82	1,10	1,73	( $\text{NaNO}_3$ )
b)	0,00	0,00	0,05	0,07	0,10	0,16	0,26	( $\text{NaNO}_3$ + Saponin).

Ein Zusatz von 0,45% Natriumnitrat\*) hemmt in den ersten Stunden die Gärung völlig; nach 8 Stunden beträgt die Hemmung 800% und nach 25 Stunden ist sie noch annähernd gleich groß. Es wirkt also Natriumnitrat zusammen mit Saponin schon in hypotonischer Lösung überaus schädlich, osmotische Schäden der zugesetzten Salzmengen können also nicht zur Erklärung herangezogen werden.

Wie Natriumnitrat wirken alle Neutralsalze. Für Chlornatrium wird dies durch die Ergebnisse des Versuches 13 bestätigt.

Versuch 13: Gäransatz.

a) 10 ccm Hefe, 10 ccm 5proz. Saponin.

b) 10 ccm Hefe, 10 ccm Saponin + 1,5% Chlornatrium.

Nach 10 Minuten Zusatz von 20 ccm einer 12,5proz. Rohrzuckerlösung. Gesamtvolumen 40 ccm.

Es werden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	2	3	4	5	7	$9\frac{3}{4}$	Stunden
13a)	0,28	0,46	0,51	0,60	0,81	0,93	(Saponin)
13b)	0,00	0,03	0,08	—	0,18	0,26	(Saponin + 1,5% NaCl).

Nach  $9\frac{3}{4}$  Stunden beträgt die Hemmung der Gärung noch 257%. Bei dieser Gelegenheit mag ganz kurz erwähnt werden, daß osmotische Einflüsse der 1,5proz. Kochsalzlösung keine Rolle spielen können, denn bei der Darstellung der Salzwirkung wurde

\*) = 0,71% vor der Zugabe von 20 ccm Rohrzuckerlösung.

z. B. gezeigt, daß 1,17% Kochsalz, für sich allein angewendet, die Gärung lebhaft anregt. Übrigens zeigt der folgende Versuch, daß Kochsalz noch in  $\frac{n}{20}$ -Konzentration erkennbar schädlich wirkt, wenn Saponin gleichzeitig vorhanden ist.

Versuch 14: Gäransätze.

- |   |   |
|---|---|
| a) 10 ccm Hefe, 5 ccm dest. Wasser            | } 20 ccm einer 10 proz. Rohruckerlösung |
| b) 5 ccm 5 proz. Saponin, $\frac{n}{8}$ -NaCl |   |
| c) 5 ccm Saponin, $\frac{n}{20}$ -NaCl        |   |

Es werden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

14a)	0,08	0,32	0,57	Kontrolle
14b)	0,04	0,16	0,32	Saponin + $\frac{n}{8}$ -NaCl
14c)	0,06	0,28	0,50	Saponin + $\frac{n}{20}$ -NaCl

Die Gärungshemmung durch  $\frac{n}{20}$ -NaCl beträgt rund 14% und liegt erkennbar außerhalb der Fehlergrenzen.

Wie die erwähnten Salze wirkt ferner das komplexe Salz Ferrocyankali. Dies zeigt Versuch 15.

Versuch 15: Gäransatz.

- 10 ccm Hefe, 20 ccm dest. Wasser.
- 10 ccm  $\frac{m}{2}$ -Ferrocyankali + 10 ccm Wasser.
- 5 ccm  $\frac{m}{2}$ -Ferrocyankali + 15 ccm Wasser.
- 5 ccm Saponin + 5 ccm  $\frac{m}{2}$ -Ferrocyankali + 10 ccm Wasser.
- 10 ccm Saponin + 10 ccm Ferrocyankali.

Rohrzuckerzusatz nach 10 Minuten — 20 ccm einer 15 proz. Lösung.

Es werden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	3	$4\frac{3}{4}$	6	$7\frac{1}{2}$	22	Stunden
15a)	0,15	0,24	0,31	0,41	0,74	Kontrolle
15b)	0,09	0,13	0,16	0,25	0,62	$\frac{m}{10}$ -Ferrocyankali
15c)	0,17	0,19	0,33	0,42	0,79	$\frac{m}{20}$ -Ferrocyankali
15d)	0,02	0,02	—	—	0,12	Saponin
15e)	0,00	0,00	—	—	0,09	Ferrocyankali

Aus dieser Versuchsreihe ist ersichtlich, daß Ferrocyankali in  $\frac{m}{10}$ -Lösung hemmend, in  $\frac{m}{20}$  ebenr erkennbar fördernd auf die Gärung wirkt, daß aber in Kombination mit Saponin die Gärung, wie bis jetzt stets, innerhalb der ersten Stunden ganz ausbleibt und erst nach längerer Zeit ganz schwach einsetzt.

Die Gärung wird aber durch die Kombination Saponin-Salz keineswegs in allen Fällen stark gehemmt, wie die bis jetzt erwähnten Versuche zeigen. Der Einfluß der Saponin-Salzwirkung wird durch den physiologischen Zustand der Hefe oft weitgehend gehemmt. Namentlich wird gut-ernährte glykogenreiche Hefe durch Saponin-Salzgemische wesent-

lich weniger geschädigt als ältere schlechternährte glykogenarme Hefe. Das Glykogen scheint dabei keine Rolle zu spielen, es eignet sich nur seiner leichten Sichtbarkeit wegen besonders gut zur Charakterisierung des Zustandes der Hefe. Die eigentliche Ursache dürfte in dem schwankenden Lipoidgehalt der Zellen gelegen sein. Ältere Zellen sind bekanntlich stärker „fettartig“ als jüngere. Demgemäß könnte in älteren Zellen Saponin energischer angreifen als in jüngeren, d. h. die Saponinwirkung auf die Gärleistung fällt bei einer jüngeren „fettarmen“ und glykogenreichen Zelle daher nur schwach aus im Gegensatz zu älteren Zellen, wo Saponin infolge höheren Lipoidgehalts die Permeabilität beträchtlich steigern kann.

Die Richtigkeit dieser Annahme wird durch folgenden Versuch bestätigt. Hefe wurde in zwei Teile geteilt; ein Teil wurde vier Tage unter Wasser aufbewahrt, der andere wurde durch Zugabe von Bierwürze glykogenhaltig gemacht. Nach sehr gutem Waschen wurde der folgende Versuch 16 durchgeführt.

Versuch 16: Gäransätze.

- a) 10 ccm Hefe, 5 ccm 5 proz. Saponin + 5 ccm n-NaCl.
- b) Saponin allein ohne NaCl.

Mit 15 proz. Rohrzuckerlösung gemischt ergab die Gärung in Einhornschen Gärungssaccharometern folgendes Bild:

Glykogenreiche Hefe (fettarme):

- 16a) Gärungsbeginn nach 10 Minuten.
- 16b) Unterschied in der Gärung gering.

Glykogenarme Hefe (fettreichere):

- 16a) Gärungsbeginn nach 1 Stunde 15 Minuten.
- 16b) Gärungsbeginn nach 10 Minuten.

Eine geringere Einwirkung der Salz-Saponinkombination kommt auch in dem folgenden Versuch zur Geltung (vgl. hierzu auch den früheren Versuch Nr. 7), wenn man Hefe angären läßt und dann erst Salz-Saponin zugibt. Die Versuche lassen sich mit der Annahme erklären, daß der bei der Gärung entstehende Alkohol die Lipoidhaut gegen Saponin und Saponin-Salzeinwirkung stabilisiert oder daß Zucker mit den Plasmahautlipoiden eine saponin- und salzresistentere Bindung eingeht. Demgemäß ist dann der Saponin- und Salzeinfluß geringer als gegenüber einer Lipoidhaut ruhender Hefe. Diese Versuche sprechen also direkt für das Vorhandensein von Lipoiden und ihre Beteiligung bei der Stoffaufnahme.

Versuch 17 soll die hier kurz geschilderten Annahmen erläutern.

Versuch 17: Gäransätze.

### I. Ruhende Hefe:

a) 10 ccm Hefe, 10 ccm 5 proz. Saponin, 10 ccm Aqua dest.	} Nach 20 Min. Zusatz von 20 ccm 15 proz. Traubenzucker- lösung
b) 10 ccm Hefe, 10 ccm Rohsaponin, 10 ccm Aqua dest.	
c) 10 ccm Hefe, 10 ccm Saponin, 10 ccm n-NaCl	
d) 10 ccm Hefe, 10 ccm Rohsaponin, 10 ccm NaCl	
d),) 10 ccm Hefe, 20 ccm Aqua dest. Kontrolle	

### II. Gärende Hefe.

e) 10 ccm Hefe, 20 ccm Traubenzuckerlösung	} Nach der Angärung Zu- satz v. 10 ccm Sap. + 10 ccm n-NaCl
f) 10 ccm „ 20 ccm „	

Es werden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	2	19	Stunden	
a)	0,14	0,96	Saponin allein	} Ruhende Hefe
b)	0,15	1,09	Rohsaponin allein	
c)	0,02	0,10	Saponin NaCl	
d)	0,09	1,02	Rohsaponin NaCl	
d),)	0,09	0,92	Kontrolle (Wasserzusatz)	
e)	—	0,69	(Dauer der Angärung 70 Minuten)	
f)	—	0,57	(Dauer der Angärung 45 Minuten)	

Es beträgt demnach die Gärungshemmung nicht vorbehandelter Hefe nach 19 Stunden 99%, bei vorbehandelter aber nur 55% bzw. 91%.

Die Tatsache, daß hier Dextrose verwendet wurde, ist belanglos. Im übrigen ist hier auch durch Wägung festgestellt, daß hinsichtlich der verschiedenen Zuckerarten kein Unterschied in der Saponinwirkung besteht.

Bemerkenswert ist, daß bei Verwendung von Rohsaponin, das natürlich sehr unrein ist, sich die Salzwirkung nur in geringem Maße geltend macht. Dies könnte entweder auf dem Vorhandensein zweiwertiger Salze oder auf der Anwesenheit von Katalysatoren im Sinne Neubergs<sup>32)</sup> beruhen, welche letztere die Gärung durch Hefesäfte und durch lebende Hefe oft beträchtlich aktivieren. Diese Möglichkeit zwingt nun dazu, die Saponinwirkung von dem Gesichtspunkte aus noch kurz zu betrachten, ob die ganze Saponinwirkung nicht unter die Katalysatoren Neubergs fällt. Bekanntlich hat Neuberg mit M. Sandberg und anderen Mitarbeitern nachgewiesen, daß alle Aldehyde, Thioaldehyde, Ketone, Nitrokörper, mineralische Schwefel- und Selenverbindungen sowie

kolloidalen Schwefel\*) und andere leicht reduzierbare Verbindungen, eben wegen ihrer leichten Reduzierbarkeit, als Aktivatoren der Gärung eine Rolle spielen. Bei der Saponinwirkung ist nun die Beziehung Lipoid-Saponin zu exakt gegeben, als daß diese Beziehung übersehen werden könnte. Auch zeigt das mikroskopische Bild einer mit Saponin und Salz behandelten Hefe so weitgehende Veränderungen, daß es sich hier um Strukturänderungen im Plasma handeln muß und daß allein eine Wirkung im Sinne eines Neubergschen Katalysators nicht in Betracht kommen kann. Auch die Kombination mit einem leicht reduzierbaren Gärungsanreger wie Natriumthiosulfat unterscheidet sich in keiner Hinsicht von der Wirkung eines nichtreduzierbaren Salzes wie Chlornatrium in Verbindung mit Saponin. Diese Wirkung von Natriumthiosulfat neben Saponin zeigt der folgende Versuch 17a. In diesem Versuche wurde zum Vergleiche noch Chlornatrium und das alkalisch reagierende Natriumsulfid mit untersucht. Die Konzentrationen der verwendeten Lösungen waren zwar nicht isotonisch untereinander, doch spielen osmotische Einflüsse hier keine nennenswerte Rolle.

Versuch 17a: Gäransätze.

In 10 ccm (nur mit Leitungswasser gewaschener) Hefe kamen:

1. 20 ccm destilliertes Wasser.
2. 10 ccm Wasser, 10 ccm mol. Natriumthiosulfat.
3. 55 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm  $H_2O$ , 10 ccm  $Na_2S_2O_3$ .
4. 15 ccm  $H_2O$ , 5 ccm mol.  $Na_2SO_3$ .
5. 5 ccm 5proz. Saponin, 15 ccm  $H_2O$ , 5 ccm mol.  $Na_2SO_3$ .
6. 10 ccm  $H_2O$ , 10 ccm mol. NaCl.
7. 5 ccm 5proz. Saponin, 5 ccm  $H_2O$ , 10 ccm mol. NaCl.

Nach Durchmischen erfolgte Zusatz von 20 ccm 15proz. Traubenzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $CO_2$  nach:

	2	4	5 $\frac{1}{2}$	22	Stunden
1.	0,09	0,20	0,24	0,78	Dest. Wasser
2.	0,08**)	0,17	0,20	0,70	$\frac{m}{5}$ - $Na_2S_2O_3$
3.	0,01**)	0,03	0,04	0,17	$\frac{m}{5}$ - $Na_2S_2O_3$ + Saponin
4.	0,03	0,08	0,11	0,55	$\frac{m}{10}$ - $Na_2SO_3$

\*) Schon R. Schander hat auf die günstige Wirkung des Schwefels hingewiesen. 2. Jahresber. der Vertreter f. angew. Botanik. 1903/04. 85. Vgl. auch Zentralbl. f. Bakt. 2. Abtlg. 14, 139. 1905.

\*\*\*) Lebhaftige Entwicklung von  $H_2S$ .

	2	4	5 $\frac{1}{2}$	22	Stunden
5.	0,02	0,02	0,02	0,33	$\frac{m}{10}$ -Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> + Saponin
6.	0,11	0,26	0,30	0,86	$\frac{m}{5}$ -NaCl
7.	0,04	0,09	0,12	0,60	$\frac{m}{5}$ -NaCl + Saponin

Nach diesem Versuch ist also kein Unterschied in der Salzwirkung bei Gegenwart von Saponin vorhanden, gleichgültig, ob man das leicht reduzierbare, als Wasserstoffacceptor dienende Thiosulfat oder das nicht reduzierbare Chlornatrium anwendet. Es liegt demnach keine Veranlassung vor, die Saponinwirkung in eine Reihe mit den Katalysatoren Neubergs zu bringen. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß die Saponinwirkung auf die Hefezelle durchaus einheitlich aufgefaßt werden muß; aber der ausschlaggebende Faktor bei der Saponinwirkung ist die Veränderung des kolloidalen Zustandes der Plasmalipoide.

Damit ist die Saponin-Salzwirkung, soweit einwertige Kationen in Betracht kommen, ausführlich genug dargestellt. Es sollen nun kurz die Wirkungen zwei- und dreiwertiger Kationen in Kombination mit Saponin geschildert werden.

#### b) Mit Erdalkalisalzen.

##### Versuch 18: Gäransatz.

- 10 ccm Hefe, 20 ccm Aqua destillata.
- 10 ccm Saponin, 10 ccm Wasser.
- 6 ccm mol. BaCl<sub>2</sub> + 14 ccm Wasser.
- 10 ccm Saponin, 6 ccm mol. BaCl<sub>2</sub>, 4 ccm Wasser.
- 10 ccm Saponin, 10 ccm n-NaCl.

Nach 20 Minuten Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung. Angärung bei 33° C, nach 1 Stunde Zimmertemperatur.

Es werden entwickelt Gramm nach:

	1 $\frac{1}{2}$	4	6 $\frac{1}{2}$	8	24	Stunden
a)	0,04	0,25	0,33	0,51	1,14	Kontrolle
b)	0,08	0,41	0,61	0,75	1,20	Saponin
c)	0,07	0,26	0,44	0,55	1,24	BaCl <sub>2</sub>
d)	0,04	0,10	0,14	0,16	0,52	Sap. BaCl <sub>2</sub>
e)	0,03	0,03	0,05	0,07	0,18	Sap. NaCl

Es wirkt also die Kombination Saponin-BaCl<sub>2</sub> beträchtlich weniger giftig als die Kombination NaCl. Diese Verhältnisse sind im Schaubild 2 noch einmal erläutert.

Es beträgt nämlich die Hemmung gegenüber der Kontrolle durch:

	Saponin-BaCl <sub>2</sub>	Saponin-NaCl
Nach 4 Stunden . . . . .	150%	733%
Nach 8 Stunden . . . . .	218%	628%
Nach 24 Stunden . . . . .	163%	470%

Bariumchlorid regt die Gärung\*) stark an, fast stärker als Natriumchlorid, so daß es nicht allzu stark auffällt, wenn die Kombination Saponin-Bariumchlorid ebenfalls weniger hemmend auf die Gärung einwirkt als Saponin - Chlornatrium. (Vgl. hierzu ferner Versuch 20.)

c) Mit Salzmischungen in sehr geringer Menge.

In den bis jetzt erwähnten Versuchen kamen nur einheitliche Salzlösungen in  $\frac{m}{20}$  bis  $\frac{m}{5}$ -Konzentration zur Anwendung. Diese Salzlösungen wirken im Vereine mit Saponin sehr giftig. Bei Verwendung eines Salzgemisches ist aus physiologischen Gründen eine starke Abschwächung der Salz-Saponinwirkung zu erwarten. Daher soll im folgenden kurz ein Salzgemisch in seiner Wirkung auf die Permeabilität untersucht werden. Ein natürliches, physiologisch äquilibriertes Salzgemisch haben wir im Fluß- oder Leitungswasser vor uns. Die Zusammensetzung und hervorragende Wirkung des verwendeten Leitungswassers ist aus den folgenden Angaben ersichtlich.

In 1000 ccm Wasser\*\*) finden sich:

Abdampfrückstand . . . . .	0,395 g
Kalk . . . . .	0,114 g
Magnesia . . . . .	0,051 g
Schwefelsäureanhydrid . . . . .	0,021 g
Chlor . . . . .	0,014 g
Salpetersäure . . . . .	0,014 g

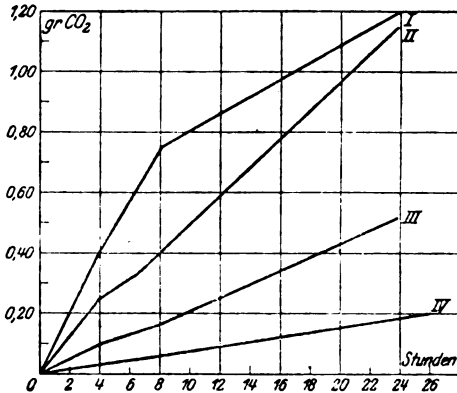


Abb. 2.  
 I. Saponinprobe. Versuch 18 b.  
 II. Kontrolle. Versuch 18 a.  
 III. Saponin-NaCl-BaCl<sub>2</sub>. Versuch 18 d.  
 IV. Saponin-NaCl. Versuch 18 e.

\*) An dieser Stelle sei bemerkt, daß Chlorbarium auch bei den Zellsaftgärungen Buchners wenig hemmend oder geradezu fördernd wirkte. Vgl. hierzu: Buchner und Hahn, Die Zymasegärung. 1903. S. 168.

\*\*) Weihenstephaner Leitungswasser, analysiert in der Brautechnischen Versuchsstation.



Neben den Sulfaten, Nitraten und Chloriden des Kalkes und des Magnesiums findet sich ein weiterer Teil als Bicarbonat gebunden. Eine Ionenmischung dieser Art, die von den in den vorstehenden Versuchen verwendeten durch ihre geringe Konzentration sich unterscheidet, wirkt auch in Verbindung mit Saponin stark gärungsfördernd, wie der folgende Versuch 19 beweist.

Zu 10 ccm Hefe kamen:

- a) 25 ccm destilliertes Wasser.
- b) 25 ccm Leitungswasser.
- c) 15 ccm 1,8proz. Saponin (in aqua dest. gelöst) + 10 ccm destilliertes Wasser.
- d) 15 ccm 1,8proz. Saponin (in Leitungswasser gelöst) + 10 ccm Leitungswasser.

Dazu 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung. Gesamtvolumen 55 ccm. Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

a)	0,04	0,25	0,40	0,45	1,10	} Destilliertes Wasser
	0,03	0,26	0,41	0,46	1,10	
b)	0,06	0,36	0,54	0,59	1,24	} Leitungswasser
	0,05	0,34	0,50	0,58	1,21	
c)	0,08	0,35	0,54	0,61	1,20	} Saponin, dest. Wasser
	0,10	0,35	0,53	0,59	1,17	
d)	0,10	0,43	0,59	0,66	1,29	} Saponin, Leitungswasser
	0,09	0,42	0,59	0,68	1,26	

Die vorstehende Tabelle zeigt erstens die (meist) sehr weitgehende Übereinstimmung derartiger Gärungsversuche, zweitens die beträchtliche Förderung der Gärung durch den minimalen Salzgehalt des Leitungswassers gegenüber destilliertem und drittens, die Saponinwirkung, die auch bei Verwendung von Leitungswasser mit seinem Salzgehalt sehr deutlich ist.

Die Förderung der Gärung durch den Salzgehalt des Leitungswassers gegenüber destilliertem Wasser beträgt nach

$1\frac{3}{4}$	$4\frac{1}{2}$	7	8	22 Stunden
50	38	31	22	13%

Leitungswasser erhöht also im Vergleich mit destilliertem Wasser die Permeabilität beträchtlich, meist so stark oder sogar stärker als eine  $\frac{m}{10}$ -Kochsalzlösung. Bei dieser Erhöhung der Permeabilität könnte auch der Gehalt des Leitungswassers an Bicarbonaten eine Rolle spielen. In Verbindung mit Saponin bewirkt nun der Salzgehalt des Leitungswassers abermals eine

Permeabilitätssteigerung. Diese Tatsache scheint mir der Beweis dafür zu sein, daß Saponin nicht vitale Teile der Zelle verändert. Denn bei der starken Erhöhung der Permeabilität der Zelle durch Leitungswasser ist doch die Möglichkeit in besonderem Maße gegeben, daß Saponin in die Zelle eindringt und dann schädlich wirken könnte, wenn es vitale Teile der Plasmastruktur angreifen würde. Etwas derartiges kann aber nicht beobachtet werden; Saponin wirkt demnach nur auf nichtvitale Teile der Zelle ein. Neutralsalze dagegen scheinen zwei Angriffspunkte zu haben; nämlich erstens die Hautlipoide — führt zu einer Permeabilitätsänderung —, zweitens, als Folge des durch die Saponinwirkung überaus erleichterten Eindringens, die plasmatische Struktur der Zelle. Durch den Angriff auf vitale Teile der Zelle, durch die Änderung und Zerstörung der Plasmastruktur kommt dann die heftige Giftwirkung zustande, die für eine Salz-Saponinkombination bezeichnend ist. Die Wirkung der reinen Salzlösungen muß also scharf von der Wirkung des Saponins getrennt werden. Durch diese Ausführungen scheint mir nun bewiesen zu sein, daß die Salze durch eine Lipoidhaut am hemmungslosen Eintritt in die Zelle gehindert werden. Die Lipoidhaut wirkt demnach regulatorisch auf den Stoffaustausch ein, und da sie möglicherweise nicht zu jeder Zeit gleich stark sein dürfte\*), so sind damit mancherlei Regulationen des Stoffaustausches rein physikalisch-chemisch gegeben.

#### Entgiftung der Saponin-Salzkombination.

Aus allgemein physikalisch-chemischen Gründen, die unter dem Stichwort Ionenantagonismus zusammengefaßt werden, ist anzunehmen, daß eine entsprechende Ionenkombination die Saponin-Salzwirkung wird abschwächen können. Wie im folgenden gezeigt wird, gelingt dies auf dreifache Weise, nämlich durch Zugabe

1. zweiwertiger Kationen,
2. dreiwertiger Kationen,
3. durch Erhöhung des Säuregrades, also durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration.

---

\*) Vgl. hierzu z. B. Versuch 7.

Es ist bezeichnend für die Erscheinung des Ionenantagonismus, daß schon sehr kleine Mengen eines anderswertigen Kations oder von Wasserstoffionen eine nennenswerte Wirkung ausüben. Die folgenden Versuche werden dies bestätigen.

#### Die Entgiftung der Saponin-Salzwirkung durch zweiwertige Kationen.

Durch zweiwertige Kationen in geringer Menge wird die Giftwirkung der Saponin-Alkalisalzkombination in erkennbarem Maße aufgehoben. Diese Tatsache soll nunmehr an einigen Beispielen erläutert werden.

Versuch 20: Gäransätze:

- a) 10 ccm Hefe + (10 ccm n-NaCl + 5 ccm 3 proz. Saponin).
- b) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 2 ccm BaCl<sub>2</sub> (10 proz.).
- c) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 1 ccm BaCl<sub>2</sub> (10 proz.).
- d) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 1 ccm MgCl<sub>2</sub> (1 proz.).
- e) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 2 ccm MgCl<sub>2</sub> (1 proz.).
- f) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 3 ccm MgCl<sub>2</sub> (1 proz.).
- g) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm Saponin + 5 ccm MgCl<sub>2</sub> (1 proz.).

Alle Versuche durch Zusatz von dest. Wasser und 20 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung auf 50 ccm Gesamtvolumen ergänzt.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	4	6	17	18	30	33	46	Stunden
a)	0,06	0,07	0,10	0,12	—	0,14	0,27	Sap., NaCl
b)	0,10	0,20	0,55	0,68	0,73	0,82	—	Sap., NaClBaCl <sub>2</sub>
c)	0,16	0,23	0,58	0,70	0,76	0,78	—	
d)	0,03	—	0,09	0,13	0,15	—	0,28	} Sap., NaClMgCl <sub>2</sub>
e)	0,05	—	0,12	0,20	—	—	0,44	
f)	—	—	0,17	0,26	0,29	—	0,57	
g)	0,03	—	0,16	0,26	0,29	—	0,62	

Es entgiftet nach diesen Angaben schon 0,4 und 0,2% BaCl<sub>2</sub> derart, daß die Gärungsförderung gegenüber dem Vergleichskolben nach 8 Stunden 450—480%, nach 33 Stunden 700% beträgt.

Gegenwart von 0,02% MgCl<sub>2</sub> ist wirkungslos, hingegen wirken schon 0,04% beträchtlich entgiftend. Die Gärungsförderung beträgt nach 17 Stunden 70% und nach 46 Stunden 61%. Die Wirkung steigender Mengen, angewendet werden bis zu 0,1% MgCl<sub>2</sub>, drückt sich in einer Steigerung der Gärung aus. Diese Verhältnisse sind durch die Abbildung 3 nochmals veranschaulicht.

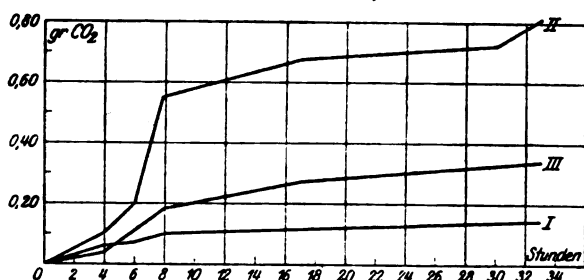


Abb. 8.

- I. Saponin-NaCl. Versuch 20 a.  
 II. Saponin-NaCl-BaCl<sub>2</sub>. Versuch 20 b.  
 III. Saponin-NaCl + 1/1000-Salzsäure. Versuch 28 b.

Einen Gesamtüberblick über die Bariumchloridwirkung zeigt Versuch 21.

Versuch 21: Gäransätze.

Zu 100 ccm Hefe kamen:

- a) 20 ccm destilliertes Wasser.
- b) 10 ccm n-NaCl, 10 ccm Wasser\*).
- c) 6 ccm mol. BaCl<sub>2</sub>, 14 ccm Wasser\*).
- d) 10 ccm n-NaCl, 1 ccm mol. BaCl<sub>2</sub>, 14 ccm Wasser.
- e) 10 ccm n-NaCl, 10 ccm 5 proz. Saponin.
- f) 10 ccm Saponin (5 proz.), 10 ccm Wasser.
- g) 10 ccm Saponin, 6 ccm mol. BaCl<sub>2</sub>, 4 ccm Wasser.
- h) 10 ccm Saponin, 10 ccm NaCl, 1 ccm BaCl<sub>2</sub>.

Nach 10 Minuten Zusatz von 25 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung. Angärung bei 33° C, nach 2 Stunden Fortdauer der Gärung bei Zimmertemperatur.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	1 1/2	4	6 1/2	8	24 Stunden
a)	0,04	0,25	0,33	0,51	1,14 Kontrolle
b)	0,06	0,28	0,47	0,60	1,30 m/5 NaCl
c)	0,07	0,26	0,44	0,55	1,24 BaCl <sub>2</sub> 1/50 mol.
d)	0,08	0,33	0,52	0,67	1,38 NaClBaCl <sub>2</sub>
e)	0,03	0,03	0,05	0,07	0,18 NaCl Saponin
f)	0,08	0,41	0,61	0,75	1,20 1% Saponin
g)	0,04	0,10	0,14	0,16	0,52 Saponin BaCl <sub>2</sub>
h)	0,05	0,14	0,23	0,29	0,80 Sap. BaCl <sub>2</sub> NaCl.

\*) Nahezu isotonische Lösungen. Eingestellt auf einen osmotischen Druck von 1% NaCl = 6,09; 1% BaCl<sub>2</sub> = 2,70 Atmosphären.

Es ergibt sich aus dieser Übersicht:

1.  $\text{BaCl}_2$  wirkt nahezu so stark gärungsfördernd als  $\text{NaCl}$ .\*).

2. Die Kombination  $\text{NaCl} + \text{BaCl}_2$  zeigt diese Eigenschaft besonders stark.

3. Saponin- $\text{BaCl}_2$  wirkt von Anfang an weniger schädlich als Saponin- $\text{NaCl}$ .

4. Schon  $\frac{1}{50}$  mol.  $\text{BaCl}_2$  entgiftet die Saponin-Chlor-natriumlösung weitgehend.

5. Die gärungsfördernde Wirkung des Saponins allein ist anfangs stärker als die der Neutralsalze Barium- und Natriumchlorid; im späteren Verlauf der Gärung kehrt sich dieses Verhältnis um.

Diese Verhältnisse kommen im Schaubild 4 sehr

deutlich zur Darstellung.

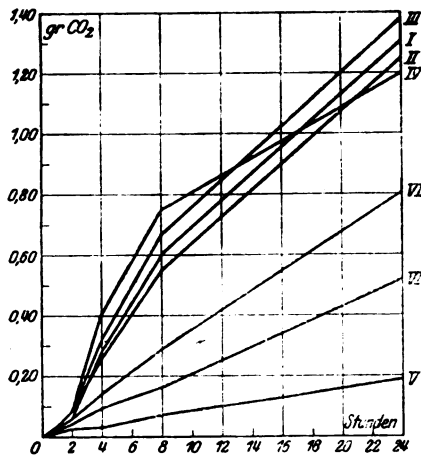


Abb. 4.

- I.  $\frac{m}{5}$ - $\text{NaCl}$ . Versuch 21 b.
- II.  $\frac{1}{100}$  mol.  $\text{BaCl}_2$ . Versuch 21 c.
- III.  $\frac{m}{5}$ - $\text{NaCl} + \frac{1}{100}$  mol.  $\text{BaCl}_2$ . Versuch 21 d.
- IV. 1 % Saponin. Versuch 21 f.
- V. Saponin- $\text{NaCl}$ . Versuch 21 e.
- VI. Saponin- $\text{BaCl}_2$ . Versuch 21 g.
- VII. Saponin,  $\frac{m}{5}$ - $\text{NaCl}$ ,  $\frac{1}{100}$  mol.  $\text{BaCl}_2$ . Versuch 21 h.

#### Die Entgiftung der Salz-Saponinwirkung durch dreiwertige Kationen.

Als Salz mit dreiwertigem Kation wurde Aluminiumsulfat verwendet. Die Wirkung der Aluminiumsalze auf die Zelle ist von Szücs<sup>29)</sup>, Fluri<sup>30)</sup> u. a.\*\*) studiert worden und stellt ein nicht ganz einfaches Problem dar.

Das Verhalten der Aluminiumsalze zu den Zellhautlipoiden Lecithin und Cholesterin ist im Reagensglasversuch nach Porges und Neubaer sehr bezeichnend. Lecithin wird von Aluminiumsulfat nur in normal und  $\frac{1}{5}$  normaler Lösung getrübt, während Cholesterin noch von  $\frac{n}{2000}$  Aluminiumsulfat stark gefällt wird.

Nach dieser Vorbemerkung soll der folgende Versuch 22 die Aluminiumwirkung erläutern.

\*) Bei anderen Versuchen (Nr. 11) konnte festgestellt werden, daß  $\text{BaCl}_2$  etwas stärker gärungsfördernd wirkt, oder mindestens so stark wirkt als  $\text{NaCl}$ .

\*\*) Ohne Interesse ist die Arbeit von Zickes, Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation Nr. 7 und 8. 1913.

**Versuch 22: Gäransätze.**

Zu 10 ccm Hefe kamen:

- a) 20 ccm destilliertes Wasser.
- b) 10 ccm n-KCl + 10 ccm H<sub>2</sub>O.
- c) 10 ccm n-KCl + 10 ccm 3 proz. Saponin.
- d) 10 ccm n-KCl + 10 ccm 3 proz. Saponin + 2 ccm  $\frac{m}{2}$  Aluminiumsulfat.
- e) 8 ccm n-KCl + 2 ccm  $\frac{m}{2}$  Aluminiumsulfat.
- f) 10 ccm  $\frac{m}{2}$  Aluminiumsulfat + 10 ccm H<sub>2</sub>O.
- g) 5 ccm  $\frac{m}{2}$  Aluminiumsulfat + 15 ccm H<sub>2</sub>O.
- h) 3 ccm  $\frac{m}{2}$  Aluminiumsulfat + 17 ccm H<sub>2</sub>O.
- i) 10 ccm Aluminiumsulfat + 10 ccm Saponin.
- k) 5 ccm Aluminiumsulfat + 10 ccm Saponin + 5 ccm H<sub>2</sub>O.

Nach Umschütteln erfolgte Zusatz von 20 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	2 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	4 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	6	7	8 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 Stunden	
a)	0,07	0,16	0,22	0,29	0,39	0,48	0,97	Kontrolle
b)	0,11	0,21	0,29	0,43	0,58	0,65	1,15	$\frac{m}{5}$ KCl
c)	0,01	0,05	0,07	0,14	0,19	0,25	0,71	KCl + Sapo.
d)	0,07	0,16	0,26	0,38	0,50	0,65	1,10	KCl, Sap., Alum.
e)	0,07	0,11	0,21	0,28	0,44	0,53	1,05	KCl Alum.
f)	0,07	0,11	0,15	0,19	0,25	0,35	0,82	Aluminiumsulfat
g)	0,07	0,11	0,15	0,21	0,32	0,43	0,93	
h)	0,05	0,11	0,13	0,22	0,27	0,37	0,92	
i)	0,06	0,15	0,22	0,32	0,46	0,58	1,08	
k)	0,05	0,14	0,19	0,30	0,39	0,51	1,03	Saponin

Zu dieser Versuchsreihe vgl. man Schaubild 5.

Die vorstehenden Versuchsergebnisse sind insofern auf den ersten Anblick befremdend, als sie eine völlige Umkehrung der bis jetzt beobachteten Verhältnisse darstellen. Bis jetzt wurde beobachtet, daß die Kombination Salz-Saponin gärungshemmend wirkt, während hier die Kombination Aluminiumsalz-Saponin keinerlei Hemmung der Gärung erkennen läßt. Im Zusammenhang mit den folgenden Feststel-

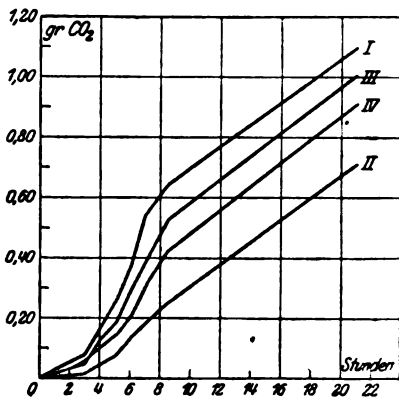


Abb. 5.

- I. KCl, Aluminiumsulfat, Saponin. Versuch 22 d.
- II. KCl, Saponin. Versuch 22 c.
- III. Saponin-Aluminiumsulfat. Versuch 22 k.
- IV. Aluminiumsulfat allein. Versuch 22 g.

lungen dürften die Ergebnisse der Aluminiumversuche ohne weiteres klar sein.

Nach der vorstehenden Tabelle wirkt Aluminiumsulfat beträchtlich gärungshemmend (nach weiteren hier nicht anzuführenden Versuchen ist diese Hemmung noch bei  $m/200$  sehr deutlich zu erkennen).

Aluminiumsulfat und Saponin dagegen bedingen eine Förderung der Gärung, die recht bedeutend ist. Dies dürfte zum Teil darauf beruhen, daß die Giftwirkung der Kombination Salz-Saponin durch Erhöhung des Säuregrades beträchtlich abgeschwächt wird, wie weiter unten gezeigt wird. Aluminiumsulfat ist nun stark sauer, demgemäß ist der Einfluß der erhöhten Acidität hier als entgiftender Faktor zu erwarten und auch tatsächlich vorhanden.

Die Zugabe eines Alkalisalzes zu Aluminiumsulfat erhöht ebenfalls die Gärleistung und entgiftet die Aluminiumwirkung. Dieses anscheinend sehr stabile System wird dann durch weitere Zugabe von Saponin nicht mehr verändert oder doch nur so, daß sogar eine geringe Förderung der Gärung zu beobachten ist.

Die heftige Aluminiumwirkung scheint sich in erster Linie auf Eiweiß zu erstrecken und die sämtlichen Zusätze zu Aluminiumsalz hemmen dann den Angriff des Aluminiumsalzes auf Eiweiß. Eine Wirkung auf das Zelleiweiß führt zu einer allgemeinen Lähmung wichtiger Funktionen und damit zu starker Hemmung der Gärung. Ähnlich heftig wie Aluminiumsalze wirken Narkotica, die auch zu Eiweißfällungen führen, wie wir später sehen werden. Auch nach dieser Analogie möchte ich die Aluminiumwirkung auf Eiweiß beziehen. Wenn bis zur angewendeten Konzentration vom  $m/200$  Aluminiumsalz sog. unregelmäßige Reihen, die für die Aluminium-Eiweißbeziehung bezeichnend sind, nicht gefunden wurden, so mag das an der heftigen Aluminiumwirkung auf das Zelleiweiß liegen. Da der Eiweißgehalt gegenüber dem Lipidgehalt der Zelle durchaus dominiert, so kann bei der komplizierten Aluminiumwirkung kein Schluß auf die Lipoidtheorie gezogen werden.

**Die Entgiftung durch Säure, d. h. durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration.**

Die Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentrationen\*) wurde herbeigeführt

- a) durch Zugabe von Salzsäure und
- b) durch Anwendung des sauren Kaliumphosphates ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).

Die erzielten Ergebnisse zeigt der Versuch 23.

Versuch 23: Gäransätze.

Zu 10 ccm Hefe kamen

- a) 10 ccm n-NaCl, 5 ccm 3proz. Saponin.
- b) Wie a + 1 ccm  $\frac{n}{10}$ -Salzsäure.
- c) Wie a + 0,5 ccm  $\frac{n}{10}$ -Salzsäure.

Nach 10 Minuten Zugabe von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	4	6	8	17	33	46	Stunden
a)	0,06	0,07	0,10	0,12	0,14	0,27	Sap. NaCl
b)	0,04	—	0,19	0,27	0,34	0,82	Sap. NaCl $\frac{n}{500}$ -Salzsäure
c)	0,05	—	0,17	0,22	0,32	—	Sap. NaCl $\frac{n}{1000}$ -Salzsäure

(Vgl. hierzu Schaubild 3.)

Es ist nach diesen Angaben in hohem Maße bezeichnend, daß schon  $\frac{n}{500}$ -Salzsäure kräftig entgiftend wirkt, auch  $\frac{n}{1000}$  ist nicht viel weniger wirksam; dabei ist noch zu bedenken, daß ein Teil der Wasserstoffionen infolge der  $\frac{n}{5}$ -Salzkonzentration unwirksam werden muß.

Wenn nun freie Säure entgiftend wirkt, so müssen demgemäß auch saure Salze sich ähnlich verhalten und alkalisch reagierende Salze um so giftiger bei Gegenwart von Saponin wirken. Dies trifft genau zu, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch 24: Gäransätze.

- a) 10 ccm Hefe, 10 ccm  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (10proz.), 10 ccm Wasser.
- b) Wie a + 5 ccm Saponin (3proz.) + 5 ccm Wasser.
- c) 10 ccm Hefe, 10 ccm  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (10proz.), 10 ccm Wasser.
- d) Wie c + 5 ccm Saponin (3proz.) + 5 ccm Wasser.

Nach 10 Minuten Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.

\*) Betreffs der Wirkung von Säuren auf die Hefengärung siehe die allgemeine Zusammenfassung von J. Hägglund, Hefe und Gärung in ihrer Abhängigkeit von Wasserstoff- und Hydroxylionen. Sammlung chem.-techn. Vorträge. Stuttgart 1914. — Säuren in gewissen kleinen Konzentrationen wirkungsfördernd, in größeren Konzentrationen sehr schädlich.



Es werden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	4	20	24	Stunden
a)	0,40	0,90	1,08	( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
b)	0,05	0,18	0,27	(Saponin $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
c)	0,49	0,93	1,05	( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
d)	0,19	0,56	0,68	(Saponin $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )

Wie man aus den Zahlen ersieht, macht sich der Unterschied in der Reaktion der beiden Phosphate erst bemerkbar, wenn gleichzeitig Saponin vorhanden ist, indem das alkoholisch reagierende Salz bedeutend ungünstiger wirkt als das saure Phosphat.

### Kombination von Saponin und Nichtleitern.

Bis jetzt wurde Saponin in Mischung mit Elektrolyten untersucht. Im folgenden Versuch wird Saponin mit Harnstoff, Acetamid und Glykokoll kombiniert. Dieser Versuch hat auch insofern ein besonderes Interesse, als z. B. bei der bekannten Saponin-hämolyse der roten Blutkörperchen Nichtleiter gleichmäßig die Hämolyse hemmen\*). Wir werden sehen, daß bei Hefezellen diese Verbindung bei Gegenwart von Saponin ganz analog keine nachteiligen Wirkungen ausüben.

Versuch 25: Gäransätze.

- a) 20 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ .
- b) 10 ccm m-Acetamid + 10 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ .
- c) 10 ccm Harnstoff + 10 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ .
- d) 10 ccm m-Glykokoll + 10 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ .
- e) 10 ccm Acetamid + 10 ccm 5proz. Saponin.
- f) 10 ccm Harnstoff + 10 ccm 5proz. Saponin.
- g) 10 ccm Glykokoll + 10 ccm 5proz. Saponin.
- h) 10 ccm n-Chlorammon + 10 ccm Saponin.
- i) 10 ccm n-Chlorammon + 10 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ .

Nach Umschütteln Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohrzuckerlösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	1	3	5	7	Stunden
a)	0,05	0,14	0,24	0,33	Kontrolle
b)	0,06	0,14	0,20	0,30	Acetamid
c)	0,03	0,12	0,23	0,31	Harnstoff
d)	0,04	0,17	0,28	0,38	Glykokoll
e)	0,08	0,19	0,28	0,38	Acetamid Saponin
f)	0,07	0,20	0,31	0,40	Harnstoff Saponin
g)	0,04	0,18	0,31	0,41	Glykokoll Saponin
h)	0,00	0,05	0,08	0,14	Chlorammon Saponin
i)	0,02	0,20	0,32	0,46	Chlorammon

\*) Nach Miculicich in Höber, Physikal. Chem. der Zelle und der Gewebe, S. 493.

Es wird nach dieser Tabelle Harnstoff und Acetamid überhaupt wirkungslos gegenüber der Kontrolle; Glykokoll fördert die Gärung gerade erkennbar, während Chlorammon, das zum Vergleiche mit angesetzt wurde, die Gärung nach 3 Stunden um 42%, nach 5 Stunden um 33% und nach 7 Stunden um 39% fördert. Der Einfluß des Elektrolyten auf die Lipoidhaut tritt sofort hervor!

In Mischung mit Saponin tritt die Saponinwirkung, nämlich Förderung der Gärung, deutlich auf; diese Förderung beträgt nach

3	5	7 Stunden
35	40	26% Acetamid Saponin
66	34	29% Harnstoff Saponin
5,8	10	7,8% Glykokoll Saponin

Es ist sehr charakteristisch, daß bei den nennenswert dissoziierten Glykokoll die Saponinwirkung ausläßt.

Infolge der Unwirksamkeit der verwendeten Nichtelektrolyten auf die Lipoidhaut kommt in der Kombination Saponin-Nichtleiter auch keine Wirkung zustande, wie wir sie bei der Kombination Saponin-Elektrolyt durchaus gefunden haben.

Der vorliegende Versuch ist nun insofern vielleicht zu beanstanden, als die Lösung der Kombination Nichtleiter-Saponin nicht isosmotisch ist mit der Vergleichsgärprobe Chlorammon-Saponin. Es beträgt nämlich der osmotische Druck der Harnstofflösung 4,2 Atmosphären, der der Chlorammonlösung 7 Atmosphären, wenn wir bloß die Harnstoff- und Chlorammonkonzentration in Betracht ziehen. Beide Werte sind als hypotonisch zu betrachten. Um diesen Einwand der Ungleichheit der Versuchsbedingungen nun aufzuheben, wurden in dem folgenden Versuch isotonische und außerdem etwas stärkere Konzentrationen verwendet. Es wurden folgende Gärungsansätze verwendet.

Versuch 26.

Zu 10 ccm gewaschener Hefe kamen:

- a\*) 10 ccm n-Natriumnitrat und 10 ccm destilliertes Wasser.
- b\*) 10 ccm  $\text{NaNO}_3$  + 10 ccm 3,5 proz. Saponinlösung.
- c) 15 ccm 10 proz. Harnstofflösung und 10 ccm Wasser.
- d\*) 10 ccm 10 proz. Harnstofflösung und 10 ccm Wasser.
- e) 5 ccm 10 proz. Harnstofflösung und 15 ccm Wasser.
- c<sup>1</sup>) d<sup>1</sup>) e<sup>1</sup>) die gleiche Harnstoffmenge wie bei c—e und 10 ccm 3,5 proz. Saponinlösung.
- f) 10 ccm Saponin + 10 ccm Wasser.

Nach 10 Minuten erfolgte Zusatz von 20 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung.

\*) Isotonische Lösung.

Es wurden entwickelt Gramm  $\text{CO}_2$  nach:

	1	4	6 $\frac{1}{2}$	Stunden
a)	0,02	0,13	0,38	$\frac{2}{5}$ - $\text{NaNO}_3$
b)	0,00	0,07	0,18	$\text{NaNO}_3$ Saponin
c)	0,05	0,12	0,23	Harnstoff
d)	0,04	0,12	0,24	„
e)	0,04	0,12	0,24	„
c <sup>1</sup> )	0,04	0,19	0,35	Harnstoff Saponin
d <sup>1</sup> )	0,04	0,20	0,36	„ „
e <sup>1</sup> )	0,04	0,21	0,36	Saponin allein
f)	0,04	0,18	0,29	„ „

Nach diesem Versuche ist es also gleichgültig, ob Harnstoff in einer mit Natriumnitrat isotonischen oder hypertonen Konzentration in Verbindung mit Saponin angewendet wird. Der Nichtelektrolyt Harnstoff ist also vollkommen

wirkungslos, so daß Saponin neben dem osmotisch wirksamen Harnstoff seine volle Wirkung entfalten kann.

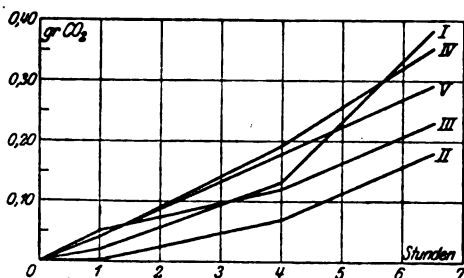


Abb. 6.

- I.  $\frac{2}{5}$ - $\text{NaNO}_3$ . Versuch 26 a.
- II.  $\text{NaCl}$ -Saponin. Versuch 26 b.
- III. 2,72 % Harnstoff. Versuch 26 d.
- IV. Harnstoff-Saponin. Versuch 26 d<sup>1</sup>.
- V. 0,7 % Harnstoff. Versuch 26 f.

Ergebnisse des vorstehenden Versuches sind in dem Schaubild 6 nochmals erläutert.

Bereits bei dieser Gelegenheit sei festgestellt, daß auch bei Zellen höherer Pflanzen der grundsätzliche Unterschied zwischen Elektrolyten und Nichtelektrolyten gefunden wird, solange man nicht zu stark hypotonische Lösungen anwendet.

### Das mikroskopische Bild nach der Gärung bei Gegenwart von Saponin.

Nach der Gärung sind die Zellen in den Gärgefäßen mit Saponin nicht von der Zelle der Kontrollkolben zu unterscheiden. Die Zellen sind rundlich, mit großer Vacuole versehen und meist nur mäßig mit Glykogen ausgestattet. Tote Zellen finden sich nur in geringer Menge.

Ganz anders sehen die Hefezellen aus, welche eine Salz-Saponinbehandlung überdauert haben. Sehr viele sind tot; die Mehrzahl der Zellen ist klein und länglich spitz, d. h. die Zellen sind ohne Turgor, entspannt; es fehlen die Vacuolen und das Plasma ist hyalin und wässrig. Diese Zellen erinnern einigermaßen an hämolysierte Blutkörperchen. Es sieht vielfach so aus, als ob nur ein Schatten der Zelle zurückgeblieben wäre. Bei genügender Salzkonzentration tritt also eine ausgesprochene Cytolyse durch Saponin ein. Diese Cytolyse beginnt rasch. Ich möchte daher an einem Beispiel die Verhältnisse kurz erläutern.

Schön vakuolisierte, glykogenarme Hefezellen kamen:

- a) In  $\frac{m}{6}$ -Natriumsulfat
- b) In  $\frac{m}{6}$ -Natriumsulfat + 1% Saponin.

Nach 3 Stunden wurden die Zellen mit hyalinem Plasma und die toten Zellen (durch Färbung mit Methylenblau) festgestellt. Es fanden sich:

- a) In  $\frac{m}{6}$ - $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :
 

Zellen ohne Vakuolen . . . . .	9,5%
Tote Zellen. . . . .	9,4%
- b) In  $\frac{m}{6}$ - $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 1% Saponin:
 

Zellen ohne Vakuolen mit hyalinem Inhalt . . . . .	34,4%
Tote Zellen. . . . .	40,0%

Die Zahlen für Zellen ohne Vakuolen stimmen mit den für tote Zellen gut überein. Für eine hungernde Hefe, die bei Zimmertemperatur 3 Stunden lang mit  $\frac{m}{6}$ - $\text{Na}_2\text{SO}_4$  behandelt wurde, sind 9,4% tote Zellen nichts Auffallendes. Dagegen sind 40% tote Zellen der mit Saponin- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  behandelten Hefe ein deutliches Zeichen für die cytolytische Wirkung der Salz-Saponinkombination.

#### Der Einfluß des Saponins auf das Wachstum der Zelle.

Saponin ist selbst in hoher Konzentration auf die Hefezelle ziemlich lange ohne deutliche Wirkung, so lange Salze in nennenswerter Menge fehlen. In 5proz. Saponinlösungen behält Hefe tagelang\*) ihre normale Form, die Vakuolen verändern sich nicht; jedenfalls läßt sich mikroskopisch eine Veränderung nicht nachweisen. Dies zeigt z. B. folgender Versuch: In sterile 5proz. Saponinlösung wurden mehrere Ösen Reinzuchtheife mit großen Vakuolen gegeben. Nach 2 Tagen war keine sichtbare Veränderung eingetreten. Nach 6 Tagen wurden nach sorgfältigem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit Verdünnungsplatten gegossen. Auf den Würze- und Hefewasserplatineplatten entwickelte sich Hefe rasch und in großer Menge. Die Zellen zeigten normale Formen.

\*) In 2proz. Saponinlösung war Hefe nach 6 Wochen noch stark wachstumsfähig nach Überimpfen in Würze.

Dagegen wird das Wachstum bei Gegenwart von schon ziemlich kleinen Salzmengen auch in sonst guten Nährlösungen durch Saponin sehr stark gehemmt, wie folgender Versuch zeigt:

25 ccm 10proz. gehopfte Würze wurde:

- a) mit 0,5% Saponin,
- b) mit 0,5% Chlornatrium,
- c) mit Saponin und Chlornatrium

versetzt und geimpft. Der Verlauf des Wachstums und der Gärung wurde refraktometrisch verfolgt. Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Datum	Würze allein,	Würze, Sapon,	Würze, Salz;	Würze, Salz Saponin	Ausgangswert
13. XI.	48,0	48,70	47,0	47,7	
16. XI.	45,2	49,0	45,8	48,0	
18. XI.	33,0	48,0	33,8	48,0	
22. XI.	33,0	37,4	33,7	38,2	

Schon äußerlich waren starke Unterschiede zu erkennen, indem in den Kontrollkolben und in der mit Salz versehenen Würze die Gärung am 17. XI. stark einsetzte; in dem Saponin-kolben begann sie am 19. XI. und in dem Saponin-Salzkolben erst am 20. XI. ganz träge. Von jeder Reihe standen 6 Kolben zum Ver-gleiche zur Verfügung, alle diese Kolben verhielten sich gleich.

*Mycoderma valida* wächst bei Gegenwart von Saponin ebenfalls schlecht, ganz ähnlich *Saccharomyces turbidans* und *Oidium lactis*.

*Mycoderma valida* wurde in folgender Nährlösung bei Zimmer-temperatur kultiviert:

3% Dextrose, 2% Maltose,  $\frac{1}{25}$ -Chlorammon, je 0,2% Magnesium-sulfat und saures Kaliumphosphat, 0,5% Saponin.

Datum	Verlauf des Wachstums Kontrollkultur	Versuchsbeginn 24. X. 1920 Saponinkultur
27. X.	starke, brüchige, glasige Decke	kein Wachstum
31. X.	Decke bricht durch	kein Wachstum
2. XI.	Wachstum beendet	kein Wachstum
10. XI.	Wachstum beendet	beugsame Bildung einer Bodensatz- vegetation.

Der Ausfall dieser Versuche bringt nichts Unerwartetes und bedarf keiner weiteren Erläuterung.

Saponin in Gegenwart nennenswerter Salzmengen ist eben sehr giftig, das hat Klebs<sup>31)</sup> schon vor Jahren bei *Sapro-legnia* beobachtet und findet hier für Hefe eine erweiterte Bestäti-gung.

### Übersicht der gewonnenen Ergebnisse.

1. Saponin fördert infolge der Änderung des kolloidalen Zustandes der Plasmahautlipoide im Sinne einer gesteigerten Permeabilität die Vergärung der wichtigsten Zucker durch Hefe beträchtlich.

2. Die Salze der ein- und zweiwertigen Kationen lassen in ihrer Wirkung auf die alkoholische Gärung eine Anionen- und Kationenreihe erkennen, die mit ihrer Einwirkung auf Lipoide — Lecithin und Cholesterin — annähernd übereinstimmt. Die Salzwirkung kann sich demnach auf die Lipoide der Plasmaoberfläche beziehen.

3. Aluminiumsalze (Sulfat und Nitrat) wirken in den angewendeten Konzentrationen hemmend auf die Gärung ein. (Angewendet bis  $\frac{1}{200}$ -Aluminiumsulfat.)

4. Saponin in Verbindung mit Salzen 1 oder 2wertiger Kationen führt rasch zum Tode der Zelle und zur Aufhebung jeder Gärung, wenn die Salze in einigermaßen stärkerer Konzentration ( $\frac{1}{5}$ ) anwesend sind.

5. Diese Wirkung wird durch Zusatz eines anderswertigen Kations in nennenswertem Maße aufgehoben\*). Auch Säuren bewirken eine Entgiftung der Salz-Saponin-Kombination.

6. Saponin und Aluminiumsalz kombiniert führt zu einer Steigerung der Gärung; vermutlich ist die saure Reaktion des Aluminiumsalzes hierfür verantwortlich.

7. Nichtelektrolyte kombiniert mit Saponin sind wirkungslos, d. h. die Saponinwirkung wird durch Nichtelektrolyte nicht beeinflusst. Diese Wirkungslosigkeit der Nichtleiter ist der Ausdruck der allgemeinen Wirkungslosigkeit der Nichtleiter bei kolloidalen Vorgängen.

8. Diese sämtlichen Ergebnisse deuten auf kolloidale Vorgänge in der Plasmahaut hin und erstrecken sich auf Änderung des

---

\*) Man vgl. hierzu die berühmten Fundulusversuche von J. Loeb; die von H. P. Ostwald über *Gammarus Pulex*, die Versuche von Osterhout und Benecke, die alle einen mehr oder minder ähnlichen Ionenantagonismus feststellten.

Gesamtübersicht über die hier kurz angeschnittenen Ähnlichkeitsfragen bei R. Höber, *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. 1914. 4. Aufl., 11. Kapitel: Die physiologischen Wirkungen von Elektrokombinationen.

Dispersitätsgrades der Hautlipoide. Soweit die Saponinwirkung in Betracht kommt, ist die Mitwirkung von Lipoiden an der Stoffaufnahme erwiesen, soweit die Salzwirkung zur Diskussion steht, ist die Anwesenheit von Lipoiden und ihre Mitwirkung bei der Stoffaufnahme wahrscheinlich.

9. Die im vorstehenden zusammengefaßten Ergebnisse sind ein weiterer Beweis für die große Ähnlichkeit im Bau tierischer und pflanzlicher Zellen (Hämolyse roter Blutkörperchen als Vergleichsgegenstand).

## II. Teil.

### Die Wirkung von Saponin auf die Zelle der höheren Pflanzen.

Für die Zellen der höheren Pflanzen können im allgemeinen dieselben Annahmen einer Lipoidhaut gemacht werden wie bei den niederen Pflanzen mit der Einschränkung, daß bei höheren Pflanzen schon eine Erniedrigung der Oberflächenspannung auf 0,69 des Wertes Wasser-Luft nach Czapek (l. c.) schädlich wirkt. Da Neutralfettemulsionen größter Stabilität diesen Wert haben, so möchte Czapek in der Plasmahaut das Vorhandensein von Neutralfetten in Verbindung mit fettsauren Salzen annehmen. Jedenfalls ergeben sich auch nach Kisch gewisse Unterschiede zwischen dem Verhalten der Plasmahäute höherer und niederer Pflanzen, daß Czapeks<sup>3\*)</sup> Annahme nicht als unwahrscheinlich zu bezeichnen ist. Für diese Annahme mag vielleicht die Tatsache verwertet werden, daß ölsaures Natrium stark von Saponin<sup>\*)</sup> gefällt wird. Wir werden im folgenden sehen, daß durch Saponin für sich, wie in Kombination mit Salzen, Anthocyane und Gerbstoffe aus den Zellen austreten als Folge einer Permeabilitätsveränderung durch Saponin und Salze. Die lipoide Natur der Plasmahaut ist damit ebenfalls gegeben, wobei es belanglos ist, ob man der Czapekschen Auffassung oder einer anderen mehr zustimmt, solange keine weiteren eingehenden Untersuchungen über die tatsächliche spezielle Zusammensetzung der Lipoidhaut vorliegen. Wie im vorstehenden schon angedeutet, tritt unter dem Einfluß von Saponin und Salzen Anthocyan und Gerbstoff aus. Dies sei nun an einer Reihe von Beispielen erläutert.

\*) Eigene Versuche.

### 1. Saponin kombiniert mit Elektrolyten.

#### Versuch 1.

Flächenschnitte aus den unteren Teilen des Blattstieles vom Blaukraut kamen nach gutem Auswaschen in folgende Lösungen:

- a) 5 ccm Saponin (5proz.) + 5 ccm destilliertes Wasser.
- b) 5 ccm Saponin + 5 ccm  $\frac{m}{2}$  Lösungen von Rhodanammon, Chlorammon, Chlornatrium, Chlorlithium und Ammonsulfat.

Nach 15 Minuten wurden die Lösungen von den Schnitten abgesehen und mit Lauge auf ausgetretenes Anthocyan geprüft. Da diese Prüfung ungemein empfindlich ist, so wurde meist in dieser Weise auf Exosmose geprüft.

Es färbten sich nach 15 Minuten die Lösungen mit Lauge:

- a) Saponin allein (+), geringe Gelbfärbung.
- b) Saponin-Rhodanammon ++, deutlich gelbgrün.
- c) Saponin-Chlorammon +++, stark gelbgrün.
- d) Saponin-Chlornatrium ++ } deutlich gelbgrün.
- e) Saponin-Chlorlithium ++ }
- f) Saponin-Ammonsulfat +, schwach gelbgrün.

Ein anderer Versuch mit Flächenschnitten von Blaukraut ergab folgendes Resultat:

#### Versuch 2.

Zusammensetzung der Lösung:

- a) 5 ccm  $\frac{m}{2}$   $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 5 ccm 5proz. Saponin.
- b) 10 ccm  $\frac{m}{4}$   $\text{NH}_4\text{Cl}$ .
- c) 10 ccm 2,5proz. Saponin.

Färbung der Lösung:	Färbung der Schnitte
a) blau nach 5 Minuten	entfärbt
b) farblos	blau
c) farblos	blau
nach 5 Minuten	} nach 7 Stunden

Mit stark herbstrotgefärbten Blättern des wilden Weines wurde der folgende Versuch angestellt.

Es wurden Mischen von je 5 ccm 5proz. Saponins mit 5 ccm einer n-Lösung folgender Salze hergestellt: Chlorammon, Ammonsulfat und Kaliumsulfat und mit Blattquerschnitten beschickt. Ebenso kam die gleiche Schnittmenge in destilliertes Wasser und in  $\frac{m}{2}$ -Lösungen von Chlornatrium, Ammonsulfat und Kaliumsulfat. Nach 20 Minuten wurde mit der Laugenprobe auf Anthocyan und mit Eisenchlorid auf Gerbstoff geprüft. Eine zweite Prüfung auf Gerbstoff fand nach 20 Stunden statt. Das Resultat zeigt uns die folgende Übersicht des Versuches 3.



## Versuch 3.

Zusammensetzung der Lösung	Laugenprobe nach 20 Minuten Gerbstoffaktion	Nach 20 Stunden Gerbstoffaktion
10 ccm aqua dest.	(+) eben er- kennbar gelb	(+) Spur
5 ccm n-NaCl + 5 ccm H <sub>2</sub> O	(+) hellgelb	++ stark grün
5 ccm Sap., 5 ccm H <sub>2</sub> O	+ gelb	++ stark grün
5 ccm Sap., 5 ccm n-NaCl	+++ sehr stark gelb	+++ sehr stark grün
5 ccm n-(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 5 ccm H <sub>2</sub> O	- farblos	+ grünlich
5 ccm (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 5 ccm Saponin	+ gelb	++ stark grün
5 ccm K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 5 ccm H <sub>2</sub> O	+ gelb	+ grünlich
5 ccm K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 5 ccm Saponin	++ stark gelb	++ stark grün

Man sieht nach 20 Stunden den Schnitten auch schon äußerlich die Einwirkung des Saponins usw. an, indem die Schnitte z. T. entfärbt sind. Dies zeigt noch eigens die folgende Übersicht.

Schnitte rot	Schnitte etwas entfärbt	Schnitte stark entfärbt
H <sub>2</sub> O	$\frac{n}{2}$ (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Saponin
$\frac{n}{2}$ -NaCl		Saponin-NaCl
$\frac{n}{2}$ -K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		Saponin-(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		Saponin-K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

Nach diesen Angaben tritt also:

1. Unter dem Einfluß des Saponins Anthocyan und Gerbstoff aus.
2. Verstärkt wird die Saponinwirkung durch Neutralsalze.
3. Neutralsalze für sich allein wirken durchaus schwächer als Saponin oder sind wirkungslos.

## 2. Saponin kombiniert mit Nichtleitern.

Saponin, kombiniert mit Elektrolyten, veranlaßt starken Anthocyanaustritt. Dagegen wirken Nichtleiter in hypertonischer Lösung zusammen mit Saponin deutlich schwächer, wie der folgende Versuch zeigt:

## Versuch 4.

Versuchsobjekt gewässerte Schnitte vom Blaukraut.

Zusammensetzung der Lösung	Anthocyanaustritt nach		
	1	1 $\frac{1}{2}$	2 Stunden
Destilliertes Wasser . . . . .	—	—	—
$\frac{n}{2}$ -NaCl . . . . .	—	—	—
14% Dextrose . . . . .	—	—	—
5% Harnstoff . . . . .	—	—	—
NaCl + 0,6% Saponin . . . . .	++	+++	+++ sehr stark
Dextrose + 0,6% Saponin . . . . .	(+) Spur	+	++ stark
Harnstoff + 0,6% Saponin . . . . .	+	++	++ stark.

Wendet man Nichtleiter in hypotonischer Lösung an, so scheinen sie geradezu die Saponinwirkung zu verzögern, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch 5.

Versuchsobjekt gewässerte Blaukrautschnitten.

Zusammensetzung der Lösung	1	Anthocyanaustritt nach	20 Stunden
Destilliertes Wasser . . . . .	—	5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	(+) Spur
Saponin (0,3%) . . . . .	—	?	++ stark
Rohrzucker (4,4%) . . . . .	—	?	(+) Spur
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (m/5) . . . . .	—	—	(+) Spur
Rohrzucker-Saponin . . . . .	?	?	(+) Spur
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -Saponin . . . . .	(+)	++ stark	+++ sehr stark

In hypotonischer Lösung hemmen Nichtleiter also geradezu die Saponinwirkung, während Elektrolyte nach wie vor wirksam sind.

Als Gesamtergebnisse der vorstehenden Versuche ergibt sich, daß zwischen Nichtleitern und Leitern ein grundsätzlicher Unterschied ist genau wie bei der Zelle der Hefe, wenn die Kombination Saponin-Elektrolyt (bzw. Nichtelektrolyt) auf die Zelle der höheren Pflanzen einwirkt.

Ob ein tatsächlicher Unterschied zwischen dem Verhalten der Zellen höherer Pflanzen und der Hefe besteht (die Kombination Zucker-Saponin schädigt Hefezellen nicht, dagegen die höherer Zellen, wenn eine große Zuckerkonzentration angewendet wird), möchte ich dahingestellt sein lassen.

3. Das mikroskopische Bild der Saponin-Salzwirkung.

Unter dem Mikroskope läßt sich die kombinierte Salz-Saponinwirkung an geeigneten Objekten außerordentlich schön verfolgen. Zu diesem Zwecke kamen Flächenschnitte von Tradescantia in folgende Lösung:

- a) m/5-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- b) m/5-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 2% Saponin.

Es wurde folgender Verlauf der Plasmolyse festgestellt:

Verlauf der Plasmolyse:

Zeit	m/5-Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	m/5-Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Saponin
9 <sup>h</sup> 00'	Beginn	
9 <sup>h</sup> 12'	Normale Plasmolyse: keine der 24 beobachteten Zellen geplatzt; Zellwand ungefärbt	9 Zellen diffus gefärbt, deren Protoplast geplatzt; die anderen Zellen noch normal
9 <sup>h</sup> 20'	Keine Änderung	Nur noch eine Zelle mit normaler Plasmolyse, alle anderen Zellen geplatzt, diffus gefärbt, Kerne und Wände stark gefärbt.
9 <sup>h</sup> 25'	Keine Änderung. — Nach Anstoßen mit Wasser normale Deplasmolyse	Sämtliche Protoplasten zerstört

Dieser Plasmolyseversuch läßt erkennen, daß die Elektrolytwirkung zur Plasmolyse führt und rascher auf den Protoplasten wirkt als Saponin, daß jedenfalls Saponin nicht in nennenswertem Maße in die Zelle eindringt und störend wirkt, sonst würde keine Plasmolyse mehr eintreten. Auf die Lipide der stark gespannten Plasmahaut erfolgt nunmehr der langsamere Saponinangriff und verändert die Hautschichten, die dann an den lädierten Stellen aufreißen und den Zellinhalt entleeren. Dieses Platzen der Protoplasten kann man überaus scharf erkennen und liefert den Beweis, daß die Saponinwirkung von außen her wirkt und nicht von innen heraus. Namentlich wenn man zum Zwecke einer erleichterten Vergleichung zwei Mikroskope gleichzeitig verwendet (für normale Plasmolyse und Saponinwirkung), bekommt man einen charakteristischen Einblick in die Saponinwirkung.

Als Gesamtergebnis der vorliegenden Arbeit ergibt sich:

1. Am Stoffaustausch der Zelle der niederen wie der höheren Pflanze sind Lipide beteiligt. Eine reine Eiweißnatur der Plasmaoberfläche ist unwahrscheinlich.

2. Die Saponin-Salzwirkung läßt eine bemerkenswerte Ähnlichkeit des Aufbaues der Zelle der Pflanze und der Tiere erkennen, wenn man die Hämolyse der roten Blutkörperchen, die Cytolyse von Infusorien\*) und das Verhalten von Hefezellen und Zellen höherer Pflanzen miteinander vergleicht. In allen Fällen führt eine kombinierte Saponin-Salzwirkung rasch zur Zerstörung der Zelle.

3. Die Wirkung physikalisch-chemischer Faktoren auf die Zelle, genauer auf die kolloidalen Zustände der Plasmaschichten, drückt sich in dem Wiedererkennen der lyotropen Anionen- und Kationenreihen aus und ist mehr als ein bloßer Zufall\*\*).

### III. Teil.

#### Die Wirkung von Chloralhydrat auf die Hefezelle.

Die Wirkung des Narkoticums Chloralhydrat mußte besonders aus dem Grunde einer näheren Untersuchung unterzogen werden,

\*) Eigene Versuche.

\*\*\*) Ich verweise hier auf die Untersuchungen von Lundegårdh (Kungl. Svensk. Akad. Handb. 47, 3. 1911), wo die Auffindung lyotroper Reihen noch mit großer Vorsicht behandelt wird; auch Ruhland (Zeitschr. f. Chemie und Industrie der Kolloide, Zeitschr. d. Kolloidchemie 12, 117. 1913) teilt hier die Anschauung, daß die Übereinstimmung zufällig sei. Demgegenüber möchte ich hier betonen, daß man auch bei Wachstumsversuchen mit *Aspergillus niger* scharf ausgesprochene lyotrope Reihen erhält (Ammonsalze als Stickstoffquelle).

weil sie in der Abführung der Lipoidtheorie durch Ruhland (l. c.) eine Rolle spielt. Ruhland hat nämlich in der neuesten Darstellung seiner Anschauung (Handwörterbuch der Naturwissenschaften Bd. X, Artikel Torgor, S. 101) besonders darauf hingewiesen, daß Swellengrebel<sup>33)</sup> mit Chloralhydrat Hefezellen dauernd plasmolysieren konnte. Da nun Chloralhydrat ein hervorragend lipoidlöslicher Stoff ist, so stehe dieser Befund Swellengrebels (l. c.) im Widerspruch mit der Lipoidtheorie, denn ein so ausgesprochener lipoidlöslicher Stoff dürfe nicht plasmolysieren.

Dieser Gedankengang könnte hingehen, wenn Chloralhydrat nicht ganz spezifische Nebenwirkungen entfalten würde. Es muß daher auffallen, daß weder Swellengrebel noch Ruhland die Giftwirkung des Chloralhydrates in Betracht gezogen haben. Schon aus diesem Grunde muß die Angabe Swellengrebels als verdächtig erscheinen. Es sei bei dieser Gelegenheit erwähnt, daß Lintner und Lüers<sup>34)</sup> bei ihren Chloralhydratversuchen die Giftwirkung des Chloralhydrates in Rechnung gestellt haben.

Die Nachprüfung der Chloralhydratwirkung auf Hefe ergab nun folgende Resultate: Behandelt man Hefe mit einer hypertonen Lösung von Chloralhydrat, so erhält man momentan „Plasmolyse“. Diese Plasmolyse ist aber sofort fixiert und geht daher durch Aussüßen mit Wasser nicht mehr zurück. Die Hefezellen sind, wie jeder, der sich einigermaßen mit Hefe mikroskopisch beschäftigt hat, sofort sieht, abgestorben; und die Prüfung mit Methylenblau bestätigt diesen Eindruck. Swellengrebel hat aber ganz recht mit seiner Angabe, daß die durch Chloralhydrat plasmolysierte Zelle nach 24 Stunden keine Deplasmolyse zeigt. An einer toten Zelle ist auch keine Deplasmolyse zu erwarten. Wendet man statt hypertonen Lösung hypotonische an, z. B. in einem bestimmten Falle 0,25 mol, so ändert sich an der Chloralhydratwirkung nur der Zeitfaktor. Nach 4—5 Stunden sind schon die meisten Zellen tot und zeigen mehr oder weniger deutlich „Plasmolyse“.

An einem Beispiel seien diese Angaben noch ganz kurz erläutert.

Plasmolyticum	Aussehen der Zelle nach 30 Minuten
0,5 mol. Chloralhydrat	Alle Zellen entspannt, spitz, Inhalt feinkörnig, geschrumpft, viele deutlich „plasmolysiert“, alle mit Methylenblau intensiv, färbbar, tot, keine Deplasmolyse nach Aussüßen mit Wasser.
0,5 mol. KCl	Zellen rundlich, Vakuolen erhalten, keine Schrumpfung, keine Plasmolyse, ca. 15% mit Methylenblau sich färbend. Nach 5 Stunden keine Plasmolyse, Zellinhalt gleichmäßig, ohne Vakuolen.

Aus dieser Übersicht ergibt sich also scharf, daß die osmotische Wirkung eines Neutralsalzes nicht mit der des Chloralhydrates zu vergleichen ist. Wenn auch Swellengrebel mit einer anderen Hefe gearbeitet hat, so kann das nur in dem Werte der plasmolytischen Grenzkonzentration sich geltend machen, aber das Gesamtergebnis nicht beeinflussen. Diese heftige Wirkung des Chloralhydrates beruht neben einer Einwirkung auf die Lipoide wohl auf einer Fällung der sonstigen Änderung des Zelleiweißes. Daß daher durch diese weitgehende Veränderung des vitalen Komplexes der Hefezelle auch die Gärung stark gehemmt wird, ist wohl zu erwarten. Zur weiteren Ergänzung der Tatsache der besonderen Giftwirkung des Chloralhydrates sei daher noch der folgende Gärversuch angeführt: Als Vergleichsgärung dienten zwei Versuche mit geringen Chlornatriumzusätzen. Ein Blick auf die folgende Tabelle zeigt sofort die auffallende Giftigkeit des Chloralhydrates und läßt die Angabe Swellengrebels ebenfalls als sehr verdächtig erscheinen.

#### Gäransätze.

Zu 10 ccm Hefe kamen:

- a) 13,2 ccm mol. Chloralhydrat, 6,8 ccm destilliertes Wasser.
- b) 10 ccm mol. Chloralhydrat, 10 ccm destilliertes Wasser.
- c) 5 ccm\*) mol. Chloralhydrat, 15 ccm destilliertes Wasser.
- d) 3 ccm mol. Chloralhydrat, 17 ccm destilliertes Wasser.
- e) 5 ccm n-NaCl, 15 ccm destilliertes Wasser.
- f) 3 ccm\*) n-NaCl, 17 ccm destilliertes Wasser.

Nach Durchmischung Zusatz von 20 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung.  
Es wurden entwickelt Gramm CO<sub>2</sub> nach:

	1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	4	5 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	7	23	Stunden
a)	0,00	0,00	0,00	0,02	0,05	1 <sup>3</sup> / <sub>50</sub> mol. Chloralhydrat
b)	0,00	0,02	0,02	0,02	0,04	1 <sup>1</sup> / <sub>5</sub> mol. Chloralhydrat

\*) Lösung c und f nahezu isotonisch.

	1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	4	5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	7	23	Stunden
c)	0,04	0,10	0,15	0,22	0,48	1 <sup>1</sup> / <sub>10</sub> mol. Chloralhydrat
d)	0,06	0,13	0,18	0,26	0,71	2 <sup>3</sup> / <sub>50</sub> mol. Chloralhydrat
e)	0,10	0,28	0,43	0,54	1,19	2 <sup>1</sup> / <sub>10</sub> -NaCl
f)	0,06	0,24	0,37	0,47	1,15	2 <sup>1</sup> / <sub>17</sub> -NaCl

Wie aus dieser Übersicht hervorgeht, ist die besondere Giftigkeit des Chloralhydrates außer allem Zweifel, schon 0,5 mol. Chloralhydrat hemmt die Gärung völlig. — Swellengrebl hat daher leicht mit 0,412 mol. Chloralhydrat dauernde Plasmolyse nach 24 Stunden erhalten können. Untersucht man die Hefe nach der Gärung, so ergeben sich folgende Verhältnisse:

	Osmotisch wirksame Substanz	Zahl der toten Zellen*)
a)	NaCl	} ca. 10%
	0,10 mol.	
	0,17 mol.	
b)	Chloralhydrat	
	1 <sup>3</sup> / <sub>50</sub> mol.	100%
	1 <sup>1</sup> / <sub>5</sub> mol.	100%
	1 <sup>1</sup> / <sub>10</sub> mol.	70%
	2 <sup>3</sup> / <sub>50</sub> mol.	60%

Die Angaben Swellengrebels erscheinen mir nach den vorliegenden Versuchen auf Beobachtung getöteter Zellen zu beruhen. Die theoretische Verwertung der Angabe Swellengrebels durch Ruhland zuungunsten der Lipoidtheorie ist mit dieser Feststellung wohl als erledigt zu betrachten. Damit entfällt einer der Hauptgegenbeweise Ruhlands gegen die Lipoidtheorie.

#### Literatur.

- 1) Quinke, G., Ann. d. Physik u. Chemie N. F. **35**, 580. 1888. —  
 2) Overton, E., Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich **40**, 1. 1895; **44**, 88. 1899. — 3) Czapek, F., Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen. Jena 1911. — 3a) Czapek, F., Eine Ergänzung hierzu und zugleich eine Abwehr unberechtigter Ausstellungen gab Czapek in: Intern. Zeitschr. f. physik.-chem. Biologie **1**, 122. 1914. — 4) Kisch, Br., diese Zeitschr. **40**, 152. 1912. — 5) Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 4. Aufl. 1914. — 6) Vernon, H. M., diese Zeitschr. **47**, 395. 1912. — 7) Porges, O., und E. Neubauer, diese Zeitschr. **7**, 151. 1908. — 8) Watermann, H. J., Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., II. Abt., **42**, 639. 1917. — 9) Nathanson, A., Jahrb. f. wissenschaft. Botanik **39**, 607. 1904. — 10) Pauli, Wo., Arch. f. d. ges. Physiol.

\*) Festgestellt durch Färbung mit Methylenblau.

- 136, 498. 1910. — <sup>11)</sup> Ruhland, W., Handwörterbuch der Naturwissenschaften 10, 98. 1915. Stichwort „Turgor“. Neueste Präzisierung des Ruhlandschen Standpunktes. — <sup>11a)</sup> Ruhland, W., Jahrb. f. wissenschaft. Botanik 46, 1. 1909. — <sup>12)</sup> Verkade, E. P., Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., II. Abt., 52, 273. 1920. — <sup>13)</sup> Loeb, J., diese Zeitschr. 47, 147. 1912. — <sup>14)</sup> Loeb, J., Arch. f. d. ges. Phys. 122, 196, 448. 1908. — <sup>15)</sup> Loewe, S., diese Zeitschr. 42, 150. 1912. — <sup>16)</sup> Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin. 3. Aufl. 1920. — <sup>17)</sup> Winterstein, H., Die Narkose. 1919. — <sup>18)</sup> Ransom, D., Deutsche med. Wochenschr. 27, 194. 1901. — <sup>19)</sup> Windaus, A., Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 238. 1909. — <sup>20)</sup> Kobert, R., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. 1904. — <sup>21)</sup> Lundberg, J. Arkiv f. Kemi, Geologi och Mineralogi 4, Nr. 32, 1–24. 1912. — <sup>22)</sup> Fernbach, A., und A. Langenberg, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 151, 726. 1910. — <sup>23)</sup> Drabble und G. D. Scott, Biochemical Journ. 2, 340. 1912. — <sup>24)</sup> Kaiser, E. C. R., Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 151, 816. 1910. — <sup>25)</sup> Lange, H., Wochenschr. f. Brauerei 417. 1907. — <sup>26)</sup> Henneberg, W., Gärungs bakteriologisches Praktikum. 1909. — <sup>27)</sup> Euler, H., und Kassel, Zeitschr. f. physiol. Chemie 86, 122. 1913. — <sup>28)</sup> Hägglund, E., diese Zeitschr. 103, 299. 1920. — <sup>29)</sup> Szücs, J., Jahrb. f. wissenschaft. Botanik 52, 209. 1913. — <sup>30)</sup> Fluri, M., Flora 99, 81. 1908. — <sup>31)</sup> Klebs, G., Jahrb. f. wissenschaft. Botanik 33, 71. 1899. — <sup>32)</sup> Neuberg, C., diese Zeitschr. 71, 75. 1918; Neuberg, C., und E. Schwenk, ebenda 71, 135. 1918; Neuberg, C., ebenda 88, 145, 1918; Neuberg, C., und M. Sandberg, ebenda 109, 290. 1920. Dasselbst weitere Literatur über die Arbeiten Neubergs und seiner Mitarbeiter. — <sup>33)</sup> Swellengrebl, N. H., Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., II. Abt., 14, 378. 1905. — <sup>34)</sup> Lintner, C., und H. Lüers, Zeitschr. f. physiol. Chemie 88, 122. 1913.

# **Drehungserscheinungen von Dextrose in Lösungen von tertiärem Natriumphosphat.**

**Die Mutarotation als analytische Methode.**

Von

**Hans Murschhauser.**

(Aus der akadem. Kinderklinik in Düsseldorf.)

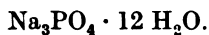
(Eingegangen am 25. Februar 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nach den jüngst von mir gemachten Beobachtungen über den Einfluß von Natriumcarbonat und sekundärem Natriumphosphat auf die Geschwindigkeit des Drehungsrückganges frisch bereiteter Dextroselösungen<sup>1)</sup> war ich zu der Anschauung gelangt, daß die Mutarotation ein Mittel zur Bestimmung und Vergleichung des Hydrolysegrades von Lösungen alkalisch reagierender Salze darstellen könnte.

Ehe ich nun dazu überging, die Beziehungen zwischen der Salzkonzentration der Lösungen und der Geschwindigkeitskonstante des Mutarationsverlaufes durch Ermittlung der elektrischen Leitfähigkeit der untersuchten Lösungen zu kontrollieren, untersuchte ich den Einfluß des tertiären Natriumphosphats auf den Geschwindigkeitsverlauf der Mutarotation wäßriger Dextroselösungen.

Das zu den Versuchen verwendete tertiäre Natriumphosphat war ein reinstes Kahlbaumsches Präparat und für den vorliegenden Zweck nochmals aus Leitfähigkeitswasser umkrystallisiert worden. Die Untersuchung ergab einen Wassergehalt des umkrystallisierten Salzes von 56,8%. Daraus berechnet sich folgende Zusammensetzung des Salzes:



---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. **106**, 23. 1920; **110**, 181. 1920.



Mit diesem Salze wurden unter Zugrundelegung des Äquivalentgewichtes von  $\frac{\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}}{3}$  die für die folgenden Versuche benötigten Lösungen bereitet. Die Dextrose war das in den früheren Versuchen bereits verwendete und als rein befundene Mercksche Präparat.

Die Versuche wurden in der früher bereits beschriebenen Weise ausgeführt, indem 5 g Dextrose zu 100 ccm in der Flüssigkeit (Leitfähigkeitswasser oder Lösungen von  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  in Leitfähigkeitswasser) gelöst und diese Lösungen, beginnend mit dem Moment des Lösens, in Intervallen von je 5 Minuten polarisiert wurden. Die schon beim Lösen angewandte Temperatur von  $20,4^\circ$  wurde während der ganzen Versuchsdauer mit peinlichster Sorgfalt eingehalten.

Zur Erreichung einwandfreier Ergebnisse wurde von den Erfahrungen, die wir in früheren analogen Versuchen gesammelt hatten, ausgiebig Gebrauch gemacht.

Die Salzkonzentration wurde innerhalb der Breite variiert, wie es bisher geschehen war, d. h. es wurde auf der einen Seite derjenige Konzentrationsgrad aufgesucht, bei dem eben noch eine Beschleunigung des Rotationsrückganges gegenüber destilliertem Wasser festgestellt werden konnte, andererseits die Grenze, bei der die Mutarotation innerhalb der zum Lösen usw. benötigten Zeit von 5 Minuten bereits abgelaufen war. Die Ergebnisse finden sich in den nachfolgenden Tabellen. In diesen bedeutet  $t$  die Anzahl Minuten, die vom Beginn des Lösens bis zu der betreffenden Ablesung verstrichen sind,  $T$  die Temperatur der Lösung,  $\alpha$  die abgelesene Drehung im 189,4 mm-Rohre,  $\alpha_D$  die daraus berechnete spezifische Drehung,  $\infty$  den Wert 24 Stunden nach begonnenem Lösen.  $C$  ist die nach der wiederholt angeführten Formel berechnete Geschwindigkeitskonstante der Mutarotation (s. S. 217).

Wie aus den Tabellen zu ersehen, beschleunigt das tertiäre Natriumphosphat den Mutarotationsrückgang von wäßrigen Dextroselösungen ebenso wie es sekundäres Natriumphosphat und Natriumcarbonat tun. Die Beschleunigung ist eine um so stärkere, je höher der Salzgehalt der Lösung ansteigt.

Der Verlauf der Mutarotation wäßriger Dextroselösungen und seine Beeinflussung durch den wechselnden Salzgehalt läßt sich am besten in einer graphischen Darstellung übersehen.

5 g Dextrose ad 100 ccm dest. Wasser.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	10,25	20,4	108,2	—	—
10	9,85	20,4	104,0	34,4	6,88
15	9,48	20,4	100,1	68,9	6,88
20	9,15	20,4	96,62	102,1	6,81
25	8,90	20,4	92,98	129,1	6,46
30	8,60	20,35	90,82	163,6	6,54
40	8,10	20,4	85,53	226,8	6,54
50	7,65	20,4	80,78	246,9	6,60
60	7,30	20,4	77,08	358,4	6,52
70	6,95	20,4	73,39	430,1	6,62
80	6,68	20,4	70,54	494,9	6,60
90	6,40	20,4	67,58	574,0	6,75
100	6,20	20,4	65,47	641,0	6,75
110	6,00	20,4	63,36	720,1	6,86
120	5,85	20,3	61,78	790,7	6,87
140	5,65	20,4	59,66	907,2	6,72
160	5,50	20,4	58,04	1021,9	6,69
180	5,38	20,4	56,81	1140,4	6,52
200	5,28	20,4	55,97	1273,0	6,53
220	5,22	20,4	55,12	1377,7	6,41
260	5,10	20,35	53,88	1720,2	6,74
280	5,08	20,3	53,64	1817,1	6,61
300	5,05	20,4	53,33	2021,1	6,85
320	5,02	20,4	53,01	—	—
340	5,00	20,4	52,80	—	—
$\infty$	5,00	20,4	52,80	—	—
Mittel: 6,66					

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{5000}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	10,10	20,4	106,65	—	—
10	9,68	20,35	102,22	37,3	7,46
15	9,30	20,4	98,20	74,1	7,41
20	8,98	20,4	94,82	107,7	7,18
25	8,62	20,4	91,02	148,9	7,45
30	8,30	20,4	87,64	189,1	7,56
35	8,08	20,4	85,32	219,0	7,3
40	7,80	20,4	82,36	260,4	7,44
45	7,60	20,4	80,25	292,6	7,32
50	7,40	20,4	78,14	327,4	7,28
60	7,00	20,45	73,90	406,5	7,39
70	6,70	20,45	70,74	477,1	7,34
80	6,42	20,45	67,79	555,3	7,40
90	6,20	20,45	65,46	628,4	7,39
100	—	—	—	—	—
110	5,80	20,4	61,24	804,7	7,66
120	5,68	20,4	59,97	875,1	7,61
130	5,58	20,4	58,92	944,1	7,55
150	5,38	20,4	56,81	1127,8	7,78
170	5,25	20,4	55,43	1309,6	7,94
190	5,15	20,4	55,38	1531,5	8,28
210	5,10	20,4	53,85	1707,6	8,33
230	5,05	20,4	53,32	2008,6	8,93
250	5,02	20,4	53,00	—	—
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—
Mittel: 7,62					

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{5000}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	10,05	20,4	106,12	—	—
10	9,60	20,4	101,37	40,5	8,1
15	9,20	20,4	97,14	80,0	8,0
20	8,82	20,4	93,13	121,2	8,08
25	8,50	20,4	89,75	159,2	7,96
30	8,22	20,45	86,80	195,4	7,82
35	7,90	20,4	83,42	240,9	8,03
$\infty$	4,98	20,4	52,58	—	—

Mittel: 8,02

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{5000}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	10,00	20,4	105,59	—	—
10	9,45—9,40	20,4	99,57	50,6	10,12
15	8,90	20,5	92,98	107,9	10,79
20	8,50	20,4	89,95	154,9	10,38
25	8,10	20,35	85,53	207,6	10,38
30	7,80	20,45	82,36	251,8	10,07
35	7,50	20,4	79,19	301,0	10,03
40	7,22	20,4	76,24	352,6	10,07
45	7,02	20,4	74,12	393,6	9,84
55	6,60	20,4	69,69	494,9	9,90
65	6,23	20,4	65,78	609,1	10,15
75	5,98—6,00	20,45	63,14	707,7	10,11
85	5,75	20,4	60,71	823,9	10,30
95	5,60	20,4	59,13	920,8	10,23
115	5,38	20,4	56,81	1119,2	10,18
135	5,25	20,4	55,43	1301,0	10,01
155	5,12	20,4	54,06	1618,8	10,80
175	5,08	20,4	53,64	1795,9	10,56
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—

Mittel: 10,23

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{4000}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	9,90	20,4	104,53	—	—
10	9,28	20,4	97,99	58,8	11,75
15	8,80	20,4	92,92	110,4	11,04
20	8,40	20,4	88,70	158,7	10,57
25	7,98	20,3	84,26	216,0	10,80
30	7,60—7,62	20,45	80,25	275,2	11,01
35	7,30	20,4	77,08	328,5	10,95
40	7,02	20,4	74,12	384,9	11,0
45	6,80	20,4	71,80	434,9	10,87
50	6,60	20,4	69,69	486,1	10,80
55	6,35	20,45	67,05	559,9	11,2
60	6,25	20,4	65,99	593,3	10,79
65	6,10	20,45	64,41	648,8	10,81
75	5,85—5,88	20,5	61,77	760,8	10,89
85	5,68	20,4	59,97	857,7	10,72
95	5,50	20,45	58,07	991,2	11,01
105	5,35—5,38	20,4	56,49	1146,1	11,46
125	5,20	20,45	54,91	1389,2	11,58
145	5,12	20,4	54,06	1611,0	11,51
165	5,08	20,4	53,64	1787,1	11,17
185	5,00	20,4	52,79	—	—
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—

Mittel: 11,10

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{2000}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	9,60	20,4	101,37	—	—
10	8,92	20,4	94,19	69,5	13,90
15	8,30	20,4	87,64	144,3	14,43
20	7,80	20,4	82,36	215,7	14,38
25	7,40	20,4	78,14	282,6	14,13
30	7,05	20,4	74,44	351,0	14,04
35	6,72	20,4	70,96	427,2	14,24
40	6,50	20,4	68,63	486,7	13,91
45	6,28	20,35	66,31	555,6	13,89
50	6,08	20,3	64,20	629,3	13,98
55	5,90	20,5	62,30	708,5	14,17
60	5,75	20,45	60,71	787,8	14,32
70	5,50	20,4	58,07	963,8	14,83
80	5,35	20,35	56,49	1118,7	14,92
90	5,25	20,4	55,43	1264,8	14,88
100	5,12	20,4	54,06	1583,6	16,67
110	5,10 (5,08)	20,4	53,85	1662,8	15,84
120	5,05	20,4	53,32	1963,8	17,08
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—
Mittel:					14,68

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{2000}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	9,30	20,4	98,20	—	—
10	8,25	20,3	87,11	121,6	24,32
15	7,50	20,35	79,19	235,5	23,55
20	6,90—6,95	20,4	72,86	354,7	23,65
25	6,52—6,55	20,4	68,84	451,6	22,58
30	6,20	20,4	65,46	554,3	22,17
35	5,95	20,45	62,82	655,8	21,86
40	5,70	20,45	60,19	788,4	22,52
45	5,50	20,45	58,07	934,5	23,36
55	5,30	20,4	55,96	1156,4	23,13
65	5,15	20,45	54,38	1457,4	24,29
75	5,10	20,45	53,85	1633,5	23,35
85	5,05	20,35	53,32	1934,5	24,18
95	5,00	20,4	52,79	—	—
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—
Mittel:					23,25

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{2000}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	9,30	20,4	98,20	—	—
10	8,35	20,6	88,17	108,4	21,68
15	7,60	20,4	80,25	218,5	21,85
20	6,95	20,4	73,38	343,4	22,89
25	6,52	20,4	68,84	451,6	22,58
30	6,18—6,20	20,4	65,25	561,6	22,46
35	5,95	20,4	62,82	655,8	21,86
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—
Mittel:					22,22

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{1500}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	8,85	20,4	93,45	—	—
10	7,72	20,4	81,52	150,9	30,18
15	7,00	20,4	73,90	284,4	28,44
20	6,45	20,5	68,10	424,1	28,27
25	6,00	20,5	63,35	585,5	29,28
30	5,75	20,4	60,71	710,4	28,42
35	5,50	20,4	58,07	886,5	29,55
40	5,30	20,4	55,96	1108,3	31,67
45	5,20	20,4	54,91	1284,4	32,11
50	5,12	20,4	54,06	1506,3	33,47
55	5,10	20,4	53,85	1585,5	33,71
60	5,05	20,4	53,32	1886,5	34,30
70	5,00	20,4	52,79	—	—
$\infty$	5,00	20,4	52,79	—	—
					Mittel: 30,85

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{1000}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	8,35	20,4	88,17	—	—
10	7,00	20,4	73,90	224,0	44,80
15	6,15	20,4	65,36	464,3	46,43
20	5,73	20,4	60,50	661,7	44,11
25	5,40	20,4	57,02	923,0	46,15
30	5,25	20,4	55,43	1127,1	45,08
40	5,05	20,5	53,32	1826,1	—
45	5,00	20,45	52,79	—	—
50	5,00	20,45	52,79	—	—
$\infty$	5,00	20,45	52,79	—	—
					Mittel: 45,31

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{750}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	7,75	20,35	81,83	—	—
10	6,40	20,4	67,58	293,2	58,64
15	5,70	20,4	60,19	594,2	59,42
20	5,35	20,4	56,49	895,3	59,69
25	5,15	20,4	54,38	1263,2	63,10
30	5,08	20,4	53,64	1536,2	61,45
35	5,02	20,4	53,00	—	—
$\infty$	4,95	20,4	52,27	—	—
					Mittel: 60,5

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{500}$ -Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$	$\log b - \log(b - x)$	$C$
5	7,05	20,4	74,44	—	—
10	5,70	20,3	60,19	466,7	93,33
15	5,18	20,6	54,68	1056,5	105,6
20	5,00—5,05	20,4	52,79	—	—
25	5,00	20,4	52,79	—	—
	5,00 (4,98)	20,4	52,79 (52,58)	—	—
					Mittel: 99,5

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{/300}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$
5	7,00	20,4	73,90
10	5,70	20,4	60,19
$\infty$	4,95		52,27

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{/300}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$
5	6,15	20,4	65,36
10	5,20	20,45	54,91
12	5,02	20,4	53,33
15	4,95	20,4	52,27
20	4,95	20,4	52,27
$\infty$	4,95	20,4	52,27

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{/200}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$
5	5,50	20,4	58,07
7	5,12	20,45	54,06
10	5,00	20,45	52,79
15	5,00	20,45	52,79
$\infty$	5,00	20,4	52,79

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{/100}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$
5	5,00—5,05	20,4	52,79
10	4,95	20,35	52,27
15	4,95—5,00	20,4	52,27
$\infty$	4,90		51,74

5 g Dextrose ad 100 ccm  $n_{/10}$ -Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

$t$	$\alpha$	$T$	$\alpha_D$
5	4,85	20,4	51,21
10	4,85	20,4	51,21
nach 24 Stdn.	3,80	20,4	40,13
2 × 24 St.	3,10	20,4	32,74
3 × 24 St.	2,70	20,4	28,51
5 × 24 St.	2,00	20,4	21,12

In der beiliegenden Abbildung 1 sind die Werte für die absolute Drehung als Ordinaten, die Zeiten als Abscisse eingetragen.

Wir ersehen aus dieser Abbildung, daß die Abnahme der Drehung sowohl in wäßriger als salzhaltigen Dextroselösungen gekrümmten Kurven folgt, die um so steiler abfallen und um so kürzer werden, je höher die Salzkonzentration der Lösung ist. Die Darstellung läßt ferner bereits vermuten, daß der Geschwindigkeitsverlauf der Mutarotation durch den Salzgehalt der Lösung gesetzmäßig beeinflußt wird.

Wenn wir aus den gewonnenen Werten für die Drehung die Geschwindigkeitskonstanten der Mutarotation berechnen, so erhalten wir Zahlen, deren Übereinstimmung innerhalb einer bestimmten Salzkonzentration darauf hindeutet, daß der Ablauf des Rotationsrückganges auch in Lösungen von tertiärem Natriumphosphat der von Wilhelmy für Reaktionen erster Ordnung aufgestellten Formel folgt. Wir erfahren ferner, daß die Geschwindigkeitskonstante mit dem Salzgehalt ansteigt. Sie hat bei destilliertem Wasser einen Wert von 6,66, bei  $n/_{8000}$ - $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung bereits einen solchen von 7,62; bei Verwendung von  $n/_{500}$ - $\text{Na}_3\text{PO}_4$  als Lösungsmittel für den Zucker steigt die Konstante auf 99,5.

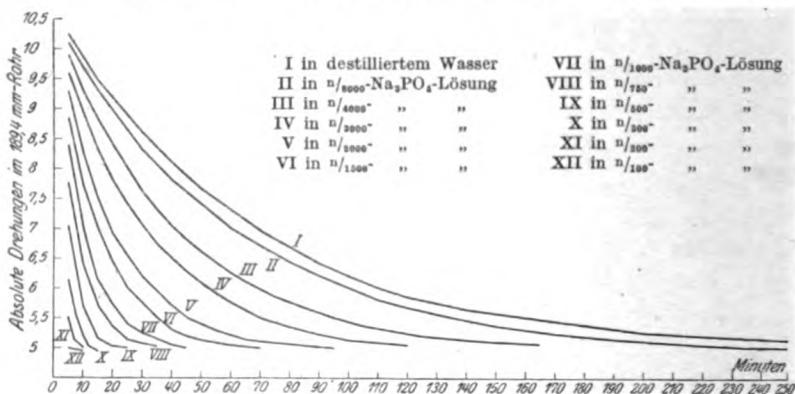


Abb. 1. Der Mutarotationsverlauf einer 5proz. Dextroselösung in Wasser und Lösungen von tertiärem Natriumphosphat wechselnder Konzentration bei 20,4°.

Zwischen diesen beiden Konzentrationen ( $n/_{8000}$  und  $n/_{500}$ ) spielt sich die Mutarotation mit einer wechselnden, meßbaren Geschwindigkeit ab, deren Größe mit der Salzkonzentration dauernd ansteigt.

Bei Lösungen, die mehr als  $n/_{500}$ -Äquivalent  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  im Liter enthalten, wird die Berechnung der Geschwindigkeitskonstante wegen der zu starken Beschleunigung des Vorganges unsicher; bei der Konzentration von  $n/_{100}$ - $\text{Na}_3\text{PO}_4$  ist die Mutarotation 5 Minuten nach begunnenem Lösen nahezu beendet. In  $n/_{10}$ -Phosphatlösung wird 5 Minuten nach Beginn eine unterhalb des Normalendwertes für die wäßrige Dextroselösung liegende Drehung erzielt, die, wie fortgesetzte Ablesungen nach 24 und mehrmals 24 Stunden ergaben, nicht konstant bleibt, sondern ein dauerndes Weiterrücken von rechts nach links zeigt. Bei

dieser Konzentration setzt bald nach der erfolgten Lösung des Zuckers die Lobry de Bruynsche Umwandlung von Dextrose in Lävulose und wahrscheinlich andere links- oder schwach rechtsdrehende Zuckerarten ein. Es kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß auch in Lösungen mit geringerem Phosphatgehalt, also zwischen  $n_{/100}$  und  $n_{/10}$ , diese Zuckerumwandlung bereits erfolgt.

Je höher nun die Geschwindigkeitskonstante mit der Konzentration der Natriumphosphatlösung ansteigt, um so mehr reduziert sich die Zeitdauer, innerhalb deren die Mutarotation ihren Abschluß gefunden hat. Um den Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen zu zeigen, wäre es wünschenswert gewesen, daß der Vorgang in allen Fällen bis zur Erreichung des Endwertes,  $5,00^\circ$ , verfolgt worden wäre. Obgleich diese Forderung nicht immer erfüllt ist, so lassen sich doch durch die Wahl eines anderen bestimmten Drehungswertes die Beziehungen zwischen Mutarotationsdauer und Geschwindigkeitskonstante wiedergeben. Die nachfolgende Tabelle zeigt nun einerseits die Geschwindigkeitskonstanten für die verschiedenen Phosphatkonzentrationen sowie die zu diesen gehörige Anzahl Minuten, die vom Beginn des Lösens bis zur Erreichung der absoluten Drehung  $5,1^\circ$  verstrichen sind.

	H <sub>2</sub> O	$n_{/8000}$	$n_{/5000}$	$n_{/4000}$	$n_{/3000}$	$n_{/2000}$	Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
$C =$	6,66	7,62	10,23	11,10	14,68	23,25	
Reaktionsdauer in Min.	260	210	165	155	110	75	
		$n_{/1500}$	$n_{/1000}$	$n_{/750}$	$n_{/500}$		Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
$C =$	30,85	45,3	60,5	99,5			
Reaktionsdauer in Min.	55	37,5	28	ca. 17			

Tragen wir diese Zahlen in ein Millimeter-Quadratnetzpapier ein, so zwar, daß die Geschwindigkeitskonstanten die Ordinaten repräsentieren, die Salzkonzentration die Abszisse, so zeigt sich, daß die Geschwindigkeitskonstante praktisch geradlinig mit der Konzentration der Lösung an Natriumphosphat ansteigt.

Die Verhältnisse liegen also beim tertiären Natriumphosphat ähnlich wie beim sekundären und beim Natriumcarbonat.

Um die Wirkung des sekundären (s. diese Zeitschr. 110, 181. 1920) und tertiären Phosphats auf die Geschwindigkeitskonstante in quantitativer Hinsicht miteinander vergleichen zu können, entnehmen wir aus den beiden Versuchsserien diejenigen Konzentrationen, bei denen sich die Konstanten annähernd decken.



$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	$n/1000$	$n/600$	$n/300$	$n/30$
$C = 7,34$	9,96	11,13	31,4	
$\text{Na}_3\text{PO}_4$	$n/8000$	$n/5000$	$n/4000$	$n/1500$
$C = 7,62$	10,23	11,10	30,85	

Wir stellen alsdann fest, daß zur Erzielung gleicher Beschleunigungen, d. h. einer bestimmten Geschwindigkeitskonstante, vom tertiären Phosphat viel weniger benötigt wird als vom sekundären.

Es ergibt sich ferner aus den obigen Zahlen, daß der Anstieg der Geschwindigkeitskonstante mit der Zunahme der Konzentration des Salzes beim tertiären Salz viel steiler erfolgt als beim sekundären. Bei dem gemeinsamen  $C$  von 7,62 bzw. 7,34 ist das äquivalente Verhältnis von  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  zu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 1 : 8,0$ , bei dem gemeinsamen  $C$  von 9,96 bzw. 10,23 ist dasselbe  $1 : 8,3$ , bei dem gemeinsamen  $C$  von 11,1 ist es  $1 : 13,3$  und schließlich bei dem gemeinsamen  $C$  von 30,85 (31,4) =  $1 : 50$ .

Die Gerade, die wir aus den Geschwindigkeitskonstanten unter dem Einfluß steigender Mengen von tertiärem Natriumphosphat konstruieren, steigt demnach viel steiler an als die aus den Konstanten des sekundären Salzes resultierende.

Die beiden Geraden bilden mit der Horizontalen Winkel verschiedener Größe.

Der eine dieser beiden Winkel, nämlich der für das sekundäre Phosphat, beträgt  $0^\circ 53'$ , wenn, wie das in meiner früheren Abhandlung geschehen ist, folgender Maßstab zugrunde gelegt wird: Jedes Millimeter Ordinate entspricht 2 Einheiten für die Geschwindigkeitskonstante, jedes Millimeter Abszisse je 2 mg Salz. Unter Anwendung desselben Maßstabes errechnen wir für das tertiäre Natriumphosphat, basierend auf dem Wert für  $n/8000$  aus der Konstante für  $n/2000$ -Lösung, einen Winkel von  $37^\circ 17'$ , und aus der Konstante für  $n/1000$ -Lösung einen solchen von  $37^\circ 59'$ . Für das Natriumcarbonat war ein Winkel von  $42^\circ 8'$  gefunden worden.

Da die Beeinflussung der Mutarotation durch die verschiedenen Salze als eine Wirkung der Hydroxylionen zu betrachten ist, so muß die Entstehung der verschiedenen Winkel auf eine mehr oder minder tiefgreifende hydrolytische Spaltung der Salze zurückgeführt werden. Die gebildeten Winkel sind demnach ein Ausdruck für den Verlauf der hydrolytischen Dissoziation der Salze. Die Untersuchung über diesen Gegenstand wird fortgesetzt.

Mit dieser Betrachtungsweise der Mutarotation haben wir eine Umkehrung des Prozesses vollzogen, den wir beim Studium des Einflusses von alkalisch reagierenden Salzen auf die Mutarotation wäßriger Dextroslösungen bzw. die Geschwindigkeit des Vorgangs, verfolgten. Dort diente als bekanntes Agens eine bestimmte Menge eines alkalisch reagierenden Salzes, gesucht wurde der Einfluß derselben auf die Geschwindigkeitskonstante; nunmehr schließen wir aus der Geschwindigkeitskonstante auf die Hydroxylionenkonzentration.

Nach dieser Betrachtungsweise des Vorganges wird aber die Mutarotation eine analytische Methode, nicht nur zur Bestimmung der Hydroxyl- und Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung, sondern auch zur Erkennung verschiedener Stoffe.

Wir sind mit Hilfe dieser Methode in der Lage, das sekundäre und tertiäre Natriumphosphat voneinander zu unterscheiden und außerdem die Präparate auf ihre Reinheit hin zu beurteilen. Ja, wir können noch weiter gehen. Die Änderung der Mutarotation von Dextrose durch bestimmte Mengen eines Stoffes ist für diesen so charakteristisch und spezifisch, daß sie zur Identifizierung des betreffenden Stoffes herangezogen werden kann.

Zur Beantwortung der ersten Frage bereiten wir beispielsweise eine  $\frac{1}{1000}$ -Normallösung des zu analysierenden Salzes, indem wir zweckmäßig das Äquivalentgewicht des sekundären Salzes der Berechnung zugrundelegen. Die Unterschiede in der Wirkung auf die Mutarotation sind so groß, daß die geringen Differenzen im Äquivalentgewicht der beiden Salze für die bloße Beurteilung, welches von den beiden vorliegt, keine Rolle spielen. Wir lösen nunmehr 5 g reinste, wasserfreie Dextrose zu 100 ccm in dieser Lösung auf und verfolgen den Mutarotationsverlauf bei 20,4°. Es wird sich nach den ersten Ablesungen bereits entscheiden, ob das eine oder das andere Salz vorliegt.

Handelt es sich um  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ , so werden die ersten Ablesungen 5, 10 und 15 Minuten nach begonnenem Lösen im 189,4 mm-Rohre absolute Drehungen von 10,15°, 9,75° und 9,35° aufweisen. Zeigt die Lösung nach denselben Zeiten absolute Drehungen von ca. 8,35°, 7,00° bzw. 6,15°, so liegt tertiäres Phosphat vor.

Will man das Salz auf seine absolute Reinheit prüfen (selbstverständlich ist hierbei der Krystallwassergehalt mit einbegriffen),

so verfolgt man zweckmäßig die Ablesungen weiter, eventuell sogar bis zum Abschluß der Mutarotation. Sowohl die absoluten Drehungszahlen als die aus ihnen berechneten Geschwindigkeitskonstanten geben uns dann Aufschluß über die Reinheit des Präparates.

Für den Fall, daß man bei der Vorprobe die  $n_{1000}$ -Lösung unter Zugrundelegung des Äquivalentgewichtes für sekundäres Phosphat bereitet und dann aus dem Mutarotationsverlauf ermittelt hat, daß es sich um tertiäres Phosphat handelt, wird man eine neue Lösung des Salzes unter Berücksichtigung seines wahren Äquivalentgewichtes herstellen. Man wählt alsdann aber zweckmäßig wegen der größeren Genauigkeit in niedrigeren Konzentrationen eine verdünntere Lösung und bestimmt mit der aus dieser hergestellten Dextroselösung den Mutarotationsverlauf.

Wenn nun schließlich ein Stoff durch die Mutarotationsmethode identifiziert werden soll, so muß dessen Einfluß auf Rotationsrückgang wäßriger Dextroselösungen bekannt sein. Wie die Ermittlung der spezifischen Drehung und der spezifischen Leitfähigkeit erst die Identifizierung eines Stoffes ermöglichte, so kann eben nur die Kenntnis der spezifischen Beeinflussung der Mutarotation von Dextrose durch einen Stoff seinen Nachweis sichern.

Die Mutarotation stellt nach meinen Beobachtungen und Erfahrungen eines der empfindlichsten analytischen Hilfsmittel dar, das wir überhaupt kennen. Das dürfte schon daraus entnommen werden, daß Ausschläge noch in Verdünnungen von  $1/10000$ -Normallösungen alkalisch reagierender Salze mit Sicherheit wahrgenommen werden können. In Lösungen freier Basen ist die Empfindlichkeit um ein Vielfaches größer.

Überall da, wo es sich um Reaktionen handelt, die durch minimale Hydroxylionkonzentrationen ausgelöst werden, dürfte die optische Methode der elektrischen mittels des üblichen Wheatstoneschen Brückenverfahrens als gleichwertig an die Seite gestellt werden. Der Nachteil der Methode besteht darin, daß nur absolut helle durchsichtige Lösungen ihre Anwendung ermöglichen.

# Über das Schicksal einiger Polysaccharide im Verdauungskanal bei Säugetieren.

Von  
Tomihide Shimizu.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der kaiserlichen Universität Kioto.)

(Eingegangen am 27. Februar 1921.)

Die Polysaccharide der Inulingruppe (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) spielen wie die Stärke im pflanzlichen Stoffwechsel die Rolle von Reservestoffen. Eine analoge Bedeutung besitzen sie für die Tierphysiologie. Vielfach ist in physiologischen Experimenten die Frage verfolgt worden, aus welchen Stoffen z. B. der tierische Organismus Glykogen zu bilden vermag.

Nach K. Miura<sup>1)</sup> und A. Oppenheim<sup>2)</sup> wird durch Zufuhr von Inulin bei Pflanzenfressern die Glykogenbildung in der Leber gesteigert, aber Mendel und Nakaseko konnten für die Steigerung der Glykogenbildung in der Leber durch Zufuhr von Inulin bei Kaninchen den Nachweis nicht bringen. Nach T. Saiki<sup>3)</sup> ersparen einige Meerpflanzen beim Eiweißumsatz. Agar-Agar und Lichens, welche Hemicellulose und Lichenin enthalten, wirken ebenso beim Menschen. In meinem Versuche am Hunde ergaben die Polysaccharide den Einfluß auf den Eiweißumsatz. Die Spaltung von Polysacchariden der Inulingruppe durch Bakterien, chemische Agentien und durch die Verdauungssäfte war von vielen Autoren untersucht worden, aber inwieweit die Spaltung von Polysacchariden der Inulingruppe eintrat, ist noch wenig bekannt.

Ptylain<sup>4)</sup> Emulsin, Leberenzym, künstlicher Magensaft, natürlicher Magensaft von Tauben, Pankreassaft, das invertierende Ferment der Bierhefe, und Amylase<sup>5)</sup> verändern das Inulin nicht. Auch menschlichen Magensaft fanden Komano<sup>5)</sup> wie Külz ohne Wirkung auf Inulin. Nach

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Biol. **32**, 255. 1895.

<sup>2)</sup> Amer. Journ. of Physiol. **4**, 246. 1901.

<sup>3)</sup> Journ. of Biolog. Chem. **2**, 251. 1901.

<sup>4)</sup> J. d. Fortschr. d. Tierchem. **1876**, S. 180.

<sup>5)</sup> Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 1893, S. 116.

Komanos wird das Inulin weder im Magen noch im Darmkanal in Zucker umgewandelt oder überhaupt verändert. Reiner sowie mit Darmmazeration versetzter Pankreassaft vom Hund<sup>1)</sup> wirken nicht auf Inulin. Die Auszüge von Askariden<sup>2)</sup> besitzen die schwache Enzymwirkung. Im Magen der höheren Tiere<sup>3)</sup> erfolgt die Spaltung des Inulins durch Salzsäure. Einige Bakterien wirken auf Inulin ein, z. B. *Bac. Orthobutyricus*<sup>4)</sup>, *Clostridium Pasturianum*<sup>5)</sup> sowie andere nicht näher bekannte Spaltpilze<sup>6)</sup> liefern die Buttersäuren. Die Milchsäurebildner der Gruppe 2 wirken auch ein. Nach Joulie<sup>7)</sup> geschieht bei höheren Pflanzen die Resorption durch die Wirkung der Inulase, wobei Fruktose entsteht und intermediäre Produkte mit Sicherheit nicht nachgewiesen worden sind. Länger fortgesetzte Fütterung von Kaninchen<sup>8)</sup> mit inulin- oder licheninreicher Nahrung führte in der Regel zum Auftreten, bzw. zur Verstärkung der fermentativen Spaltung des Inulins und Lichenins durch Extrakte von Pankreas- und Darmschleimhäuten von Tieren.

Die verschiedenen Cellulosen und Hemicellulosen werden wahrscheinlich in dieselben Bruchstücke durch einige Pilze<sup>9)</sup> und gewisse Bakterien<sup>10)</sup> zerspalten, wie sie bei der hydrolytischen Spaltung durch Mineralsäuren entstehen.

Da das Inulin im Organismus Fruktose liefert, wird es von vielen Diabetikern vertragen. Für Schwindsüchtige, als Mittel gegen die Hyperacidität des Magensaftes, soll es auch gebraucht werden. Isländisches Moos (enthält Lichenin) findet auch in hochnordischen Gegenden als Nahrungsmittel Verwendung. Die Cellulose und Hemicellulose findet als Nahrungsmittel (Gemüse) in allen Ländern Verwendung.

Die Erkenntnis der dabei sich abspielenden chemischen Vorgänge, resp. der dadurch entstehenden Abbauprodukte ist nicht nur für die chemische Mikrobiologie, sondern auch für die Lehre der Autointoxikation von großer Bedeutung.

Die Störung der physiologischen Regulation des Bakterienantagonismus im Darm könnte deshalb zu einer abnormen einseitigen Überproduktion irgendeines physiologischen Giftes führen.

<sup>1)</sup> M. H. Bierry, *Compt. rend. de la soc. de biol.* **59**, 256. 1905.

<sup>2)</sup> *Arch. f. Physiolog.* **99**, 116. 1903.

<sup>3)</sup> H. Bierry, *Compt. rend. de l'Acad. de Sc.* **150**, 367. 1895.

<sup>4)</sup> Gruenbert, *Chem.-Ztg.* **17**, Ref. 109. 193.

<sup>5)</sup> S. Winograski, *Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* **9** (II), S. 43. 1902.

<sup>6)</sup> Fitz, *B.* **11**, 45. 1878.

<sup>7)</sup> Joulie, *Bull. de la Soc. chim.* **7**, 262. 1892.

<sup>8)</sup> Armin und Tschermack, *diese Zeitschr.* **45**, 452–461. 1912.

<sup>9)</sup> C. Wemer, *Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* **2**, (II), S. 140, 150. 1896.

<sup>10)</sup> M. W. Omelianski, *Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.* **2**, (II), S. 193–391. 1902.

Systematische Untersuchungen über den Chemismus der bakteriellen Zersetzung sind deshalb auch von diesem Gesichtspunkte aus sehr wünschenswert.

Als Beitrag zu dieser Frage sollen unten erwähnte Versuche über die Wirkung von verschiedenen Bakterien auf einige Polysaccharide gelten.

#### Experimenteller Teil.

Ich berichte jetzt über die Wirkung des Kotbestandteiles und der Gärungsbakterien auf die Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose).

##### Wirkung des Kotbestandteiles auf Inulin.

Ich isolierte den Kot desselben Hundes, den ich zu meinen vorigen Stoffwechselversuchen benutzt hatte, und zwar in der Weise, daß der Kot nicht von äußeren Verunreinigungen, besonders von Keimen außerhalb des Kotes beschmutzt wurde. Ich verwendete die von Adolf Baginski<sup>1)</sup> benutzte Nährlösung, welche aus 1,0 g Pepton sicc., 20 ccm einer, aus 1,0 g schwefelsaures Ammoniak und 1,0 g phosphorsaures Kali in 100 ccm destilliertes Wasser bereiteten Lösung bestand. In einen sterilen mit Wattepfropfen versehenen Kolben wurden 20 ccm oben erwähnte Nährlösung, 1,0 g Pepton und 100 ccm destilliertes Wasser und eine entsprechende Menge Calciumcarbonat eingetragen.

Nach nochmaliger Sterilisation des Kolbens mittels eines Kochschen Dampftopfes wurden 2,0 g bei 120°, im Trockenschrank sterilisiertes Inulin und ein Stückchen von frisch isoliertem Kot eingetragen. Beim Stehen im Brutschrank von 37° entwickelten sich dabei die Bacillen im Kolben sehr üppig.

Versuch 1: Ich arbeitete mit 8 Kolben auf einmal, und zwar verblieben 2 Kolben als Kontrolle. Die Mischung stand 30–40 Tage lang im Brutschrank bei 37° C. Das Reaktionsgemisch reagierte immer noch deutlich sauer auf Lackmuspapier, wurde aber mit vorhandenem Calciumcarbonat neutralisiert. Die Reaktion in den Kontrollkolben war neutral.

Nach 30–40 Tagen war in keinem der Kolben an einer entnommenen Probe mittels Fehlingscher Lösung Zucker nachweisbar.

Es hat also in allen Gefäßen, die mit frischen Fäces geimpft waren, keine Zuckerbildung aus Inulin stattgefunden, es ist jedoch freie Säure nachweisbar geworden. Nun wurden die vereinigten Mischungen aus dem Kolben auf die gebildete Säure hin untersucht. Die schwach sauer reagierende Flüssigkeit wurde mit verdünnter Natronlauge neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingeeengt.

<sup>1)</sup> H. 12, 449. 1888.

### Trennung der Fettsäuren<sup>1)</sup>.

Man macht die eingeeengte Flüssigkeit mit Phosphorsäuren stark sauer, um die Säuren in Freiheit zu setzen, treibt sie mit Wasserdampf ab und dampft das Destillat mit Bleioxyd ein. Der Rückstand wurde in kaltem Wasser gelöst, filtriert und zum Kochen erhitzt. Das ausgeschiedene basische propionsaure Blei wurde abfiltriert und im Filtrate das überschüssige Blei mit Schwefelsäure entfernt.

Die Lösung dampfte ich mit Zinkoxyd trocken ein und extrahierte den Rückstand erschöpfend mit absolutem Alkohol. Ungelöst blieben das Ameisensäure Zink sowie Zinksulfat, die ich durch Destillation mit Phosphorsäure getrennt hatte.

Die alkoholische Lösung des essigsauren und buttersauren Zinks wurde trocken gedampft.

Die Säuren wurden durch Phosphorsäure frei gemacht, überdestilliert und durch Silbercarbonat in ihre Silbersalze übergeführt, deren Trennung schließlich auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit durchgeführt wurde. Die abgetrennten Silbersalze wurden durch Schwefelwasserstoffe vom Silber befreit und die Säuren mit Calciumcarbonat durch Kochen in ihre Calciumsalze übergeführt und gereinigt.

Der mit Wasserdampf destillierte Rückstand in Suto-Kumagawas Extraktionsapparat 72 Stunden mit Äther extrahiert. Der durch Äther extrahierte Rückstand wurde in Wasser gelöst und durch Kochen mit Zinkoxyd in die Zinksalze übergeführt. Diese Salze ergaben die Hopkinsche und Uffelmansche Reaktion, wurden aus heißem Wasser umkrystallisiert und an der Luft getrocknet.

Von Säuren ist Essigsäure in größerer Menge zugegen.

0,0842 g Substanz gaben 0,0306 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_7O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,34% Ca.

Aus der Analyse ergab sich, daß die Substanz mit Calciumacetat übereinstimmte.

0,3784 g Substanz gaben 0,1014 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_4O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,16% Ca.

Nach der Analyse entsprach die Substanz der Formel  $(C_4H_7O_2)_2Ca$  des Calciumbutyrates.

Ameisensäure war zu wenig vorhanden, um analysiert zu werden. Mit Quecksilberchlorid- und Silbercarbonatlösung ergab sich jedoch eine ganz deutliche Reaktion.

0,355 g Substanz ergaben 0,0897 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2ZnO$ : 20,38% Zn; gef. 20,31% Zn.

0,355 g Substanz verloren 0,0681 g  $H_2O$  bei  $110^\circ C$  getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 3 H_2O$ : 19,20%  $H_2O$ ; gef. 19,18%  $H_2O$ .

Die Analyse hat erwiesen, daß die Substanz mit Zinklaktat übereinstimmte. Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nicht, sie war also Gärungsmilchsäure.

<sup>1)</sup> K. R. Haberland, Zeitschr. f. analyt. Chemie 38, 217. 1899.

Versuch 2: Diesmal arbeitete ich mit 6 Kolben (2 Kolben als Kontrolle). Die Digestion dauerte 30 Tage bei 37° C. Buttersäure war in größerer Menge zugegen, Propionsäuren hingegen in zu geringerer Menge, um sich nachweisen zu lassen.

0,0913 g Substanz ergaben 0,0453 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,60% Ca.

0,2753 g Substanz ergaben 0,0705 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_3)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,30% Ca.

0,3642 g Substanz ergaben 0,0926 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3 H_2O$ : 20,38% Zn; gef. 20,42% Zn.

0,4283 g Substanz verloren 0,0809 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3 H_2O$ : 19,20%  $H_2O$ ; gef. 18,90%  $H_2O$ .

Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nicht.

Aus der erwähnten Analyse ist ersichtlich, daß Essigsäuren, Buttersäuren und Gärungsmilchsäuren in diesem Versuche mit Sicherheit gebildet worden sind.

### Wirkung der Kotbestandteile auf Lichenin.

Ich arbeitete mit 8 Kolben resp. 6 g Lichenin. Die Mischung wurde bei 37° C 38 Tage stehen gelassen. Die Behandlung war dieselbe wie beim Versuche mit Inulin. Jedoch wird das Lichenin durch Wasser nicht hydrolysiert. Daher hatte ich das Lichenin im sterilisierten Kolben samt Nährlösung in Kochs Dampftopf sterilisiert.

Nach der Sterilisation ergab sich keine Zuckerreaktion in einer entnommenen Probe.

Versuch 1: Nach 38tägiger Digestion ergab sich auch keine Zuckerreaktion. Aus dem Reaktionsgemische habe ich flüchtige und nicht flüchtige Säuren isoliert. In diesem Falle waren Propionsäure und Buttersäure in größerer Menge zugegen und Essigsäure sowie Ameisensäure zu wenig, um zur Analyse zu gelangen. Es zeigten sich jedoch Reaktionen auf Ameisensäure und Essigsäure.

Die Analysenwerte sind folgende:

0,2105 g Substanz ergaben 0,0536 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,20% Ca.

0,4186 g Substanz ergaben 0,1061 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3 H_2O$ : 20,38% Zn; gef. 20,35% Zn.

0,4186 g Substanz verloren 0,081 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3 H_2O$ : 19,20%  $H_2O$ ; gef. 19,50%  $H_2O$ .

Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nicht. Aus diesem Versuche ergibt sich, daß das Lichenin durch Kotbestandteile ebenso wie das Inulin gespalten wird.

Versuch 2: Dieser Versuch ist mir mißlungen.

### Wirkung des Kotbestandteiles auf Hemicellulose.

Ich arbeitete mit 8 Kolben resp. 8 g Hemicellulose. Das Gemisch wurde bei 37° C 40 Tage digeriert. Die Behandlung war dieselbe wie beim



Inulin und Lichenin. Auch wurde die Hemicellulose wie das Lichenin nicht durch Wasser hydrolysiert. So sterilisierte ich die Substanz in Kolben samt Nährlösung in Kochs Dampftopf. Nach der Sterilisation war keine Zuckerreaktion im Kolbeninhalt vorhanden.

Versuch 1: Bei diesem Versuche konnte ich Zucker nicht nachweisen, und nur ganz geringe Mengen von Milchsäuren waren zu entdecken; es ergab nur eine schwache Hopkins-Reaktion.

Die Buttersäure, Ameisensäure und Propionsäure waren zu wenig zur Analyse.

0,1807 g Substanz ergaben 0,0921 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,40% Ca.

Diese Analyse lieferte Werte, die mit Calciumacetat übereinstimmten.

Versuch 2: In diesem Falle ergab sich auch keine Zuckerreaktion, und keine Hopkinsche Probe auf Milchsäure. Ebenso wie beim 1. Versuch sind sehr geringe Mengen von Ameisensäure und Buttersäure zugegen.

0,1236 g Substanz ergaben 0,3597 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,20% Ca.

Überblicken wir die mitgeteilte Untersuchung, so haben wir in dem Kot Agentien, welche die Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) in ausgiebigster Weise in Fettsäuren spalten. Indes ist eine Zuckerbildung nicht nachweisbar, vielmehr erscheint hier eine direkte Bildung von Fettsäuren vorzuliegen. Ich habe nicht die wirksamen Bestandteile des für die Versuche dienenden Kotes untersucht, aber es liegt kein Zweifel darüber vor, daß die in dem Kote wirksamen Substanzen Bakterien sind.

Was die Menge der Bakterien im Magen- resp. Darminhalt betrifft, so vergrößert sich dieselbe fast regelmäßig gegen das anale Ende hin; ganz gleich, was für ein Bakterium vorkommt, so wirkt es vielleicht doch ein.

Ich will am nächsten Versuche die Wirkung der Bakterien auf die Polysaccharide untersuchen.

#### Wirkung des *Bac. lactis* auf Inulin.

Ich verwendete die Nährlösung, deren T. Sasaki<sup>1)</sup> sich bedient hat und die aus 0,5 g Natriumchlorid, 0,1 g Magnesiumsulfat, 2,0 g Monokaliumphosphat, 1,0 g Ammoniumcarbonat und 1000,0 ccm destilliertem Wasser bestand.

In einen samt seinem Wattepfropfen vorher trocken sterilisierten Kolben von 200 ccm Inhalt trug ich 100 ccm Nährlösung ein. Nach der Sterilisation in Kochs Dampftopf wurden 1,0 g sterilisiertes Inulin bei 120° C im Trockenschrank und 5,0 g schiefer Agarkultur von *Bac. lactis*, in derselben sterilen Nährlösung aufgeschwemmt zugesetzt.

Die Milchsäurebacillen wurden aus faulender Milch isoliert und auf gewöhnlichen schrägen Agarnährboden in Reagenzgläsern möglichst lücken-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 59, 432. 1914.

los ausgebreitet und 24 Stunden lang kultiviert. Im Brutschrank bei 37° C wuchsen die Bacillen sehr gut. Ich ließ das Gemisch 40—50 Tage lang im Brutschrank stehen. Nachdem ich sodann die Reinheit der Bakterien konstatiert hatte, vereinigte ich alle Portionen zusammen und filtrierte sie. Das Filtrat wurde mit verdünnter Natronlauge neutralisiert und im Vakuum eingeeengt.

Die so behandelte Flüssigkeit ist mit folgenden Resultaten untersucht worden:

1. Zucker war gebildet worden; die Fehlingsche Probe fiel positiv aus.
2. Die Reaktion war stark sauer.
3. Die Reaktion mit Eisenchlorid und Silbernitrat ließ mit Wahrscheinlichkeit Essigsäure erkennen.

Die eingeengte Flüssigkeit wurde mit Phosphorsäure stark sauer gemacht und der Wasserdampfdestillation unterworfen, um die flüchtigen Fettsäuren von den nicht flüchtigen Fettsäuren zu trennen. Der Destillationsrückstand wurde wieder im Vakuum eingeeengt und dann 72 Stunden mittels Kumagawa-Sutos Flüssigkeitsextraktor mit Äther ausgezogen. Die nach dem Verdunsten des Äthers verbliebenen Rückstände ergaben die Reaktion von Hopkins und Uffelmann und wurden durch Kochen mit Zinkcarbonat in Zinksalze übergeführt.

Die Trennung der flüchtigen Fettsäuren geschah nach Haberland<sup>1)</sup>, wie im Versuch mit Kotbestandteilen.

Versuch 1: Aus dem Reaktionsgemische habe ich Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure, jedoch für die Analyse zu wenig Propionsäure, erhalten.

0,5229 g Substanz ergaben 0,2603 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,51% Ca.

0,6055 g Substanz ergaben 0,1563 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,36% Ca.

0,3864 g Substanz verloren 0,0503 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,28% H<sub>2</sub>O; gef. 13,01% H<sub>2</sub>O.

0,3864 g Substanz ergaben 0,1178 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,50% Zn.

Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links.

Es ist aus der Analyse ersichtlich, daß unter den Digestionsprodukten des *Bac. lactis d-Milchsäure* auftritt.

Versuch 2: In diesem Falle verwendete ich auch 8 Kolben, unter ihnen 2 als Kontrolle, und zwar wurden 8 g Inulin der Digestion 40 Tage lang ausgesetzt. Essigsäure, Propionsäure und Milchsäure wurden gebildet.

0,2433 g Substanz ergaben 0,1243 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,50% Ca.

0,4841 g Substanz verloren 0,0654 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,50% H<sub>2</sub>O.

0,4614 g Substanz ergaben 0,1428 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,60% Zn.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. analyt. Chemie 38, 217. 1871.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links, daher war die erhaltene Milchsäure d-Milchsäure.

### Wirkung des *Bac. lactis* auf Lichenin.

Versuch 1: 6 g Lichenin wurden 40 Tage lang bei 37° C digeriert. Die Reinheit der Mischung wurde kontrolliert. Die Untersuchung der Nährflüssigkeit ergab folgende Resultate.

1. Die Reaktion der Flüssigkeit war sehr schwach sauer.
2. Die Probe auf Zucker mit Fehlings Lösung war negativ.
3. Die mit verdünnter Natronlauge neutralisierte Flüssigkeit ergab weder die für Essigsäure charakteristische Reaktion mit Eisenchlorid und Silbernitrat, noch die Milchsäureprobe nach Uffelmann.

Versuch 2: In diesem Falle ergaben sich dieselben Resultate wie beim 1. Versuch. Es waren keine Säuren zustande gekommen.

In beiden Versuchen 1 und 2 wurde nach 48 Tagen Digestion bei 37° C im Brutschrank weder nicht flüchtige Fettsäuren noch flüchtige Fettsäuren gebildet. Ebenso war die Reaktion auf Zucker negativ.

### Wirkung des *Bac. coli* auf Inulin.

Versuch 1: Die Bakterien wurden aus Kot frisch isoliert und auf schiefen Agarnährboden kultiviert. Ich arbeitete diesmal mit 8 Kolben resp. 16 g Inulin, sonst in derselben Weise wie beim vorigen Versuche. Die Nährflüssigkeit ergab Reaktion auf Zucker, Milchsäure und Essigsäure nach 35 tägiger Aufbewahrung bei 37° C.

0,3495 g Substanz ergaben 0,1428 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,72% Ca.

0,668 g Substanz ergaben 0,1716 g Ca.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,40% Ca.

Bestimmung des Krystallwassers:

0,3816 g Substanz verloren 0,0515 H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2ZnH_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,50% H<sub>2</sub>O.

0,3816 g Substanz ergaben 0,1192 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,10% Zn.

Die wässrige Lösung dieses Zinklaktats war rechtsdrehend, daher lag l-Milchsäure vor.

Versuch 2: Hier arbeitete ich mit 6 Kolben, d. h. mit 12 g Inulin. Die Mischung wurde rein befunden. Aus dem Reaktionsgemisch erhielt ich nur wenig Milchsäure, gewann aber reichlich Essigsäure und Buttersäure.

Die Nährflüssigkeit ergab eine positive Reaktion auf Zucker.

0,3416 g Substanz ergaben 0,1826 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,20% Ca.

0,5346 g Substanz ergaben 0,1428 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,10% Ca.

### Wirkung des Bac. coli auf Lichenin.

Versuch 1: In diesem Versuche arbeitete ich mit 8 Kolben, d. h. 8 g Lichenin. Das Reaktionsgemisch reagierte sauer und gab Reaktion auf Zucker, Essigsäure und Milchsäure nach 45tägigem Stehen im Brutschrank bei 37° C.

Aus der Nährflüssigkeit isolierte ich unten analysierte Säuren; Essigsäure, Buttersäure und l-Milchsäure.

0,0565 g Substanz ergaben 0,0281 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,58% Ca.

0,3234 g Substanz ergaben 0,0826 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,25% Ca.

Bestimmung des Krystallwassers von milchsaurem Zink:

0,2361 g Substanz verloren 0,0308 g  $H_2O$ .

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ ; gef. 13,06%  $H_2O$ .

Bestimmung des Zinks im milchsauren Zink:

0,2361 g Substanz ergaben 0,0723 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,60% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach rechts, daher erhielt ich l-Milchsäure.

Versuch 2: In diesem Falle wurde die Nährlösung 40 Tage lang bei 37° C digeriert. Die Reaktion für Zucker war positiv. Durch die folgende Analyse wurde Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure festgestellt.

0,3295 g Substanz ergaben 0,0848 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,40% Ca.

0,2318 g Substanz ergaben 0,1156 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,64% Ca.

0,3576 g Substanz verloren 0,0468 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29%  $H_2O$ ; gef. 13,10%  $H_2O$ .

0,3576 g Substanz ergaben 0,1099 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,70% Zn.

Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach rechts.

### Wirkung von Bac. coli auf Hemicellulose.

Versuch 1: Ich arbeitete mit 8 Kolben und 8 g Hemicellulose. Nach 57tägiger Digestion reagierte die Nährflüssigkeit sauer und gab Milchsäurereaktion, aber keine Reaktion auf Zucker und flüchtige Fettsäuren.

Die Analyse der Milchsäure zeigte folgendes:

0,4615 g Substanz verloren 0,0626 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,29%  $H_2O$ ; gef. 13,56%  $H_2O$ .

0,4615 g Substanz ergaben 0,1452 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,30% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte nach rechts.

Versuch 2: Nach 50tägigem Verweilen bei 37° C reagierte die Nährflüssigkeit schwach sauer und ergab keine Reaktion auf Zucker und Fettsäuren.

### Wirkung von *Bac. proteus* auf Inulin.

Die Proteusbazillen wurden aus faulendem Pankreas rein isoliert.

Versuch 1: Ich arbeitete diesmal mit 8 Kolben, d. h. 16 g Inulin. Die Nährflüssigkeit beließ ich 48 Tage lang bei 37° C. Das Reaktionsgemisch ergab eine stark positive Reaktion von Zucker und Fettsäuren. Ich erhielt die unten analysierten Fettsäuren, darunter die Propionsäure.

Analyse:

0,5229 g Substanz ergaben 0,2607 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,64% Ca.

0,6682 g Substanz ergaben 0,1592 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,7% Ca; gef. 18,80% Ca.

0,4115 g Substanz verloren 0,0555 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,50% H<sub>2</sub>O.

0,4115 g Substanz ergaben 0,1297 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,30% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links. Daher war bei diesem Versuche d-Milchsäure gebildet worden.

Versuch 2: Nach 40 tägiger Bebrütung bei 37° C reagierte die Nährflüssigkeit sauer und ergab Reaktion auf Zucker. Auch wie beim 1. Versuch erhielt ich die zur Analyse gebrachten Fettsäuren: Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure.

0,3049 g Substanz ergaben 0,1504 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,28% Ca.

0,3874 g Substanz ergaben 0,1043 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,20% Ca.

0,6312 g Substanz verloren 0,086 g H<sub>2</sub>O bei 110° C.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,63% H<sub>2</sub>O.

0,6312 g Substanz ergaben 0,1979 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,20% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links. Es hatte sich also d-Milchsäure gebildet.

### Wirkung von *Bac. proteus* auf Lichenin.

Versuch 1: Diesmal arbeitete ich mit 8 Kolben, d. h. 8 g Lichenin. In diesem Versuche wurde die Nährflüssigkeit 55 Tage lang 37° C ausgesetzt.

Die Nährflüssigkeit ergab keine Reaktion auf Zucker und Essigsäure, jedoch eine positive Reaktion auf Milchsäure.

Aus der Analyse ergibt sich, daß Milchsäure gebildet wurde.

0,3146 g Substanz verloren 0,044 g H<sub>2</sub>O bei 110° C.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 14,00% H<sub>2</sub>O.

0,3146 g Substanz ergaben 0,1002 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn + 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,60% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links, enthielt also d-Milchsäure.

Versuch 2: Ich arbeitete mit 8 Kolben, d. i. 8 g Lichenin. Die Nährlösung wurde 55 Tage lang bei 37° C der Digestion unterworfen. Das Reaktionsgemisch ergab keine Reaktion auf Zucker, jedoch eine positive auf Fettsäuren.

Aus dem Reaktionsgemisch isolierte ich die unten analysierte Essigsäure und Milchsäure.

0,3904 g Substanz ergaben 0,1977 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_5O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,20% Ca.

0,416 g Substanz verloren 0,0567 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,64% H<sub>2</sub>O.

0,416 g Substanz ergaben 0,1304 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,20% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links. d-Milchsäure.

### Wirkung von *Bac. proteus* auf Hemicellulose.

Versuch 1: Diesmal arbeitete ich mit 6 Kolben, d. i. 6 g Hemicellulose. Die Nährflüssigkeit wurde diesmal 65 Tage lang bei 37° C belassen.

In diesem Reaktionsgemisch bestand eine positive Reaktion für Zucker und Fettsäuren. Das Gemisch reagierte stark sauer.

Ich isolierte aus dem Gemisch reichlich Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure. Besonders die Buttersäure war in beträchtlichem Maße vorhanden.

Die Analyse dieser Säuren war folgende:

0,2556 g Substanz ergaben 0,0938 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,30% Ca.

0,3326 g Substanz ergaben 0,0888 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,10% Ca.

0,4005 g Substanz verloren 0,0525 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 14,13% H<sub>2</sub>O.

0,4005 g Substanz ergaben 0,1221 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,50% Zn.

Diese wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links. d-Milchsäuren.

Versuch 2: Ich arbeitete mit 8 Kolben, d. i. 8 g Hemicellulose. Die Nährflüssigkeit wurde 50 Tage lang bei 37° C im Brutschrank stehen gelassen.

Essigsäure und Buttersäure waren reichlich gebildet.

0,3611 g Substanz ergaben 0,1806 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,76% Ca.

0,4115 g Substanz ergaben 0,1103 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,20% Ca.

### Wirkung von *Bac. subtilis* auf Inulin.

Die Subtilisbacillen wurden aus dem Heu rein gezüchtet.

Versuch 1: Die 8 Kolben, d. h. die 16 g Inulin enthaltende Mischung stand 55 Tage lang bei 37° C. Im Reaktionsgemisch waren die Reaktionen auf Zucker schwach positiv, die für flüchtige Fettsäure positiv, und die für Milchsäure negativ.

Aus dem Reaktionsgemisch isolierte ich die unten zur Analyse bereiteten Säuren; Essigsäure, Buttersäure und außerdem Propionsäure.

0,4068 g Substanz ergaben 0,2054 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,10% Ca.

0,5123 g Substanz ergaben 0,1371 g CaO.“

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,14% Ca.

Versuch 2: Diesmal arbeitete ich ebenfalls mit 8 Kolben, d. h. 16 g Inulin. Nachdem sie 50 Tage bei 37° C aufbewahrt waren, ergab das Reaktionsgemisch die Proben auf Fettsäuren. Die Reaktion auf Zucker war negativ; das Gemisch reagierte stark sauer.

Ich isolierte Buttersäure und Milchsäure.

0,4464 g Substanz ergaben 0,2279 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97 Ca; gef. 36,50% Ca.

0,4812 g Substanz ergaben 0,13 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,30% Ca.

0,654 g Substanz ergaben 0,2067 ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,40% Zn.

0,654 g Substanz verloren 0,0916 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29%  $H_2O$ ; gef. 14,02%  $H_2O$ .

Die wässrige Lösung dieses Zinksalzes drehte das polarisierte Licht nach links, es ist daher d-Milchsäure gebildet worden.

### Wirkung von *Bac. subtilis* auf Lichenin.

Versuch 1: Auch diesmal arbeitete ich mit 8 Kolben, d. i. 8 g Lichenin. Die Mischung stand 55 Tage bei 37° C im Brutschrank. Das Reaktionsgemisch reagierte sauer auf Lackmus. Die Reaktion für Fettsäuren war stark positiv und die für Zucker negativ. Ich isolierte aus der Nährflüssigkeit Essigsäure, Milchsäure, Buttersäure und Propionsäure und analysierte.

0,3412 g Substanz ergaben 0,1708 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,80% Ca.

0,4342 g Substanz ergaben 0,1111 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,52% Ca.

0,6543 g Substanz verloren 0,0859 g  $H_2O$  bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29%  $H_2O$ ; gef. 13,14%  $H_2O$ .

0,6543 g Substanz ergaben 0,199 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_3)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 24,60% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links; ich hatte also d-Milchsäure erhalten.

Versuch 2: Bearbeitung der Nährlösung und Behandlung der Digestionsprodukte geschahen in derselben Weise wie beim 1. Versuch. Das Reaktionsgemisch reagierte sauer. Die Reaktionen auf Zucker und flüchtige Fettsäuren waren positiv, die auf Milchsäure jedoch nur schwach positiv.

Es ist aus den folgenden Analysen ersichtlich, daß Essigsäure und Buttersäure gebildet worden waren. Ich habe leider zur Analyse zu wenig Milchsäure erhalten.

0,4806 g Substanz ergaben 0,234 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 35,16% Ca.

0,6569 g Substanz ergaben 0,1675 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,22% Ca.

### Wirkung von *Bac. subtilis* auf Hemicellulose.

Versuch 1: Ich arbeitete mit 10 Kolben, d. i. 10 g Hemicellulose. Nachdem dieselben 60 Tage lang bei 37° C im Brutschrank gestanden hatten, war das Gemisch sauer und die Reaktion auf Zucker, Essigsäure und Milchsäure positiv. Ich isolierte zunächst die der Analyse unterworfenen Essigsäure und Buttersäure, erhielt aber zur Analyse zu wenig.

0,3428 g Substanz ergaben 0,1742 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,32% Ca.

0,668 g Substanz ergaben 0,1798 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 19,24% Ca.

Versuch 2: Die Bearbeitung der Nährlösung geschah in derselben Weise wie beim 1. Versuch. Die Nährflüssigkeit war stark sauer und die Probe auf Zucker, Essigsäure und Milchsäure stark positiv.

0,4257 g Substanz ergaben 0,2165 g CaO.

Ber. f.  $(C_2H_3O_2)_2Ca$ : 35,97% Ca; gef. 36,33% Ca.

0,5272 g Substanz ergaben 0,1339 g CaO.

Ber. f.  $(C_4H_7O_2)_2Ca$ : 18,70% Ca; gef. 18,20% Ca.

0,5702 g Substanz verloren 0,0743 g H<sub>2</sub>O bei 110° C getrocknet.

Ber. f.  $(C_2H_5O_2)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 13,29% H<sub>2</sub>O; gef. 13,04% H<sub>2</sub>O.

0,5702 g Substanz ergaben 0,1774 g ZnO.

Ber. f.  $(C_3H_5O_2)_2Zn \cdot 2 H_2O$ : 24,80% Zn; gef. 25,20% Zn.

Die wässrige Lösung dieses Salzes drehte das polarisierte Licht nach links, also war d-Milchsäure zugegen.

### Zusammenfassung.

Überblicken wir die ganze Reihe der mitgeteilten Untersuchungen, so haben wir im Kot eine Substanz (vielleicht Bakterien) vor uns, welche die Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) in ausgiebigster Weise zu Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure vergärt. Auch merkliche Mengen von optisch inaktiven Milchsäuren treten dabei auf.



Ein wesentlicher Unterschied der Wirkungsweise der Bakterienarten gegenüber den Polysacchariden liegt darin, daß *Bac. lactis* vorzugsweise Essigsäure bildet. Bei der Wirkung von *Bac. lactis*, *Bac. proteus*, *Bac. subtilis* und *Bac. coli* bildet sich außer den oben erwähnten Fettsäuren noch optisch aktive Milchsäure, und zwar dreht die bei *Bac. lactis*, *proteus* und *subtilis* entstandene Milchsäure nach rechts, die von *Bac. coli* erzeugte nach links.

Im wesentlichen schließen sich so die unter der Einwirkung der Bakterien im Darmkanal vor sich gehenden Spaltungsvorgänge, soweit wenigstens Kohlenhydrate in Frage kommen, nach den vorliegenden Ergebnissen, den bekannten von Hoppe-Seyler eingehend studierten Fäulnisvorgängen an.

In meinen Versuchen beeinflussten einige Polysacchariden den Eiweißumsatz. Diese Vorgänge sind so zu deuten, daß die Polysaccharide im Verdauungstraktus durch Bakterien über Zucker zu Fettsäuren gespalten und resorbiert werden (Zuntz).

Nach v. Jaksch und Schotten ist der Nachweis erbracht worden, daß bei der Fütterung mit Essigsäure und Ameisensäure dieselben durch den Harn wieder zum größten Teil ausgeschieden werden. Daraus ergibt sich die Tatsache, daß auch die im Darmkanal entstehenden, flüchtigen Fettsäuren resorbiert und im Harn wieder erscheinen müssen. Somit werden vielleicht die erwähnten Polysaccharide durch verschiedene Bakterien im Darmkanal gespalten und resorbiert, und diese Spaltungsprodukte beeinflussen wahrscheinlich den Eiweißumsatz.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Rektor der Universität Kyoto, Dr. T. Araki und Herrn Prof. Dr. K. Mayeda für ihre freundliche Leitung und liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

# Über die Spaltung von einigen Polysacchariden (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) im Verdauungskanal bei Säugetieren.

Von  
Tomihide Shimizu.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der kaiserlichen Universität zu Kioto.)

(Eingegangen am 27. Februar 1921.)

Untersuchungen über die Verdaulichkeit einiger Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) im Verdauungskanal bei Säugetieren wurden schon lange angestellt, aber die Resultate gingen auseinander.

A. D. Komano<sup>1)</sup> fand, daß der Speichel, der künstliche Magensaft, natürlicher Magensaft von Taube, Pankreassaft und invertierende Fermente der Bierhefe Inulin nicht verändern. Auch menschlichen Magensaft fanden Komano wie Kuelz ohne Wirkung auf Inulin. Inulin wird weder im Magen noch im Darmkanal in Zucker verwandelt oder überhaupt verändert. M. H. Bierry<sup>2)</sup> beobachtete, daß reiner sowie mit Darmmazeration versetzter Pankreassaft vom Hunde Inulin in Zucker weder umwandelte oder überhaupt sonst veränderte. Nach K. Miura<sup>3)</sup> wird die Glykogenbildung in der Leber des Pflanzenfressers durch Zufuhr von Inulin gesteigert. M. H. Bierry gab an, daß bei Hunden, Rindern, Schweinen und Enten die Spaltung des Inulins im Magen durch Salzsäure erfolgt, während mazerierter Pankreas- und Darmbrei sowie frischer Pankreassaft keine hydrolytische Wirkung auf Inulin ausüben sollen. T. Saiki<sup>4)</sup> untersuchte die Verdauung und Ausnutzung von Lichenin und Agar-Agar im Darmtractus der Menschen und Tiere, und es ergab sich dabei, daß diese Polysaccharide nicht direkt in Zucker durch tierische kohlenhydratspaltende Enzyme oder Bakterien gespalten werden. — Bei längerer Fütterung mit einer licheninreichen (Isländische Moose) und einer inulinreichen (Dahlia-knollen)<sup>5)</sup> Nahrung gewannen die Extrakte von Darm- und Pankreas-

<sup>1)</sup> J. f. Fortschr. d. Tierchemie 1876, S. 180.

<sup>2)</sup> Compt. rend. de la soc. de biol. 59, 256. 1905.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. Biol. 32, 255.

<sup>4)</sup> Journ. of Biolog. Chem. 5, 434.

<sup>5)</sup> Armin und Tschermak, diese Zeitschr. 45, 452, 461. 1912.

mazerationen die Fähigkeit, das Lichenin und das Inulin zu spalten. Cellulose<sup>1)</sup> wird auf unbekannte Weise unter Einwirkung eines oder mehrerer bisher ungeformter Fermente in ein lösliches Stadium überführt, in dem sie je nach der Resorptionskraft des Darmes mehr oder weniger ausgiebig resorbiert werden kann. Durch die Untersuchungen Tappeiners wird nur bewiesen, daß im Darm eine Cellulosesumpfgasgärung stattfindet.

Daher ist die Untersuchung der Verdaulichkeit im Darmkanal bei Säugetieren mangelhaft. Meine Untersuchungen können diesem Mangel abhelfen.

### Experimenteller Teil.

In einem samt seinem Wattepfropfen vorher trocken sterilisierten kurzhalsigen Kolben von 150 ccm Inhalt führte ich 100 ccm sterilisierte physiologische Kochsalzlösung ein. Nach Sterilisation im Kochschen Dampftopf trug ich 10 g möglichst keimfrei isolierte Darm- oder Pankreas-mazeration mit den Versuchsmaterialien ein. Dann stellte ich den Kolben in einen Brutschrank von 37° C. Ich arbeitete auf einmal mit 5 Kolben, davon dienten 2 Kolben zur Kontrolle. Die Verdauungsflüssigkeit wurde durch Leinwand koliert und das Kolat mit 10proz. Bleizuckerlösung vom Eiweiß befreit und der Überschuß des Bleies durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die von Schwefelblei abfiltrierte Flüssigkeit wurde im Vakuum eingedickt und der Zucker darin mit Fehlings Probe und der Phenylhydrazinprobe untersucht.

#### 1. Versuch mit Inulin am Hunde.

Nr.	1	2	3	4	5
Inulinmenge in g . . . . .	1	1	1	1	—
Menge von Darmbrei in g . . . . .	10	—	5	5	5
Menge von Pankreasbrei in g . . . . .	—	10	5	5	5
Menge von 0,8% NaCl-Lösung in ccm . .	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer in Wochen . . . . .	3	3	3	3	3
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—

#### 2. Versuch mit Inulin am Kaninchen.

Nr.	1	2	3	4	5
Inulinmenge . . . . .	1	1	1	1	1
Darmbrei . . . . .	10	—	5	5	5
Pankreasbrei . . . . .	—	10	5	5	5
NaCl-Lösung . . . . .	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer . . . . .	4	4	4	4	4
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—

<sup>1)</sup> Dr. Hans Lohrlich, H. 47, 200. 1906.

## 1. Versuch mit Lichenin am Hund.

Nr.	1	2	3	4	5
Licheninmenge . . . . .	1	1	1	1	1
Darmbrei . . . . .	10	—	5	5	5
Pankreasbrei . . . . .	—	10	5	5	5
NaCl-Lösung . . . . .	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer . . . . .	2	2	2	2	2
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—

## 2. Versuch mit Lichenin am Kaninchen.

Nr.	1	2	3	4	5
Licheninmenge . . . . .	1	1	1	1	1
Darmbrei . . . . .	10	—	5	5	5
Pankreasbrei . . . . .	—	10	5	5	5
NaCl-Lösung . . . . .	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer . . . . .	3	3	3	3	3
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—

## 1. Versuch mit Hemicellulose am Hunde.

Nr.	1	2	3	4	5	6
Hemicellulosemenge . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Darmbrei . . . . .	10	—	5	5	5	5
Pankreasbrei . . . . .	—	10	5	5	5	5
NaCl-Lösung . . . . .	100	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer . . . . .	3	3	3	3	3	3
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—	—

## 2. Versuch mit Hemicellulose am Kaninchen.

Nr.	1	2	3	4	5	6
Hemicellulosemenge . . . . .	0,5	0,5	0,5	0,5	5,0	0,5
Darmbrei . . . . .	10	—	5	5	5	5
Pankreasbrei . . . . .	—	10	5	5	5	5
NaCl-Lösung . . . . .	100	100	100	100	100	100
Verdauungsdauer . . . . .	4	4	4	4	4	4
Temperatur . . . . .	37	37	37	37	37	37
Fehlings Probe . . . . .	—	—	—	—	—	—
Phenylhydrazinprobe . . . . .	—	—	—	—	—	—

**Zusammenfassung.**

Bei der Digestion von Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) zeigen die Darm- und Pankreasmazerationen weder verflüssigende noch Zucker spaltende Kraft.

Diese Tatsache hat die Bedeutung, daß keine diese Polysaccharide spaltende Fermente in der Darm- und Pankreasmazeration vorkommen.

Zum Schlusse halte ich es für eine angenehme Pflicht, Herrn Rektor der Universität Kyoto, Dr. T. Araki und Herrn Professor K. Mayeda herzlichen Dank für ihre überaus freundliche Hilfe auszusprechen.

---

# Über den Einfluß einiger Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) auf den Eiweißumsatz.

Von  
Tomihide Shimizu.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Universität zu Kyoto.)

(Eingegangen am 17. Februar 1921.)

Frühere Beobachtungen<sup>1)</sup> haben bereits ergeben, daß die Polysaccharide (Stärkemehl) wie das Fett den Eiweißumsatz im Tierkörper verringern. J. Hoppe<sup>2)</sup> zeigte, daß bei Zusatz von Stärkemehl zu Fleisch weniger Harnstoff im Harn auftritt und nahm danach eine Ablagerung stickstoffhaltiger Substanz unter der Einwirkung des Stärkemehls an. Später schlossen Bischoff und C. Voit ebenfalls aus der geringeren Stickstoffausscheidung im Harn und Kot nach Darreichung von Stärkemehl auf eine Verminderung der Eiweißzersetzung durch diese Stoffe. In allen Fällen wird durch die Zugabe von Kohlenhydraten zum Fleische die Stickstoffausscheidung geringer<sup>3)</sup> und steigt nach Weglassen derselben wieder zur vorigen Höhe an.

Inwieweit die Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) den Eiweißumsatz beeinflussen, ist jedoch weniger bekannt.

T. Saiki<sup>4)</sup> untersuchte die Verdauung und Ausnutzung von Lichens und Agar-Agar im Verdauungstractus der Menschen und Tiere und fand, daß diese Polysaccharide durch tierische Kohlenhydrate spaltende Enzyme oder Bakterien nicht direkt in Zucker gespalten werden. Durch Verabreichung von Inulin bei Kaninchen wurde der Gehalt der Leber an Glykogen vermehrt<sup>5)</sup>.

<sup>1)</sup> C. Voit, Zeitschr. f. Biol. 5, 329—368.

<sup>2)</sup> J. Hoppe, Arch. f. pathol. Anat. 10, 144.

<sup>3)</sup> C. Voit, Zeitschr. f. Biol. 5, 434.

<sup>4)</sup> T. Saiki, Journ. of Biolog. Chem. 2, 251.

<sup>5)</sup> K. Miura, Zeitschr. f. Biol. 32, 255—265.

Die Muttersubstanz dieser Polysaccharide (*Heliantus tuberosum*, *Lichen islandicus* und Agar-Agar) hat als Nahrungsmittel Verwendung gefunden, daher ist es von Bedeutung, die Verdauung und Ausnutzung der Polysaccharide zu erforschen.

Um diese Frage zu lösen, habe ich die unten erwähnten Versuche unternommen.

### Untersuchungsmethode.

Ich verabreichte einem Hund von 9 kg Körpergewicht täglich gleiche Nahrung; 350 g Fleisch, 10 ccm Shoyu und 150 ccm Wasser. Ich zerkleinerte das Fleisch und zerrieb es in der Reibschale, um den Stickstoffgehalt gleichmäßig zu verteilen und bestimmte täglich seinen Stickstoffgehalt nach Kjeldahl.

Im Shoyu wurde ebenfalls der Stickstoffgehalt bestimmt. Auch war ich für die Analyse des Harnes und des Kotes besorgt. Ich erreichte es, daß der Hund täglich einmal mittels Katheter urinierte) und so ein Verlust des Harnes vermieden wurde), und bestimmte den Gesamtstickstoff im Harn (einer Tagesmenge) nach Kjeldahl. Die Abgrenzung des Kotes geschah mit Karmin und zwar in der Weise, daß am Vortage 0,5 g Karmin mit Fleisch verfüttert und dann bis zum eigentlichen Versuch wenigstens 3 Tage lang gefastet wurde. Die Schlußabgrenzung geschah in gleicher Weise. Die Faeces<sup>1)</sup> (pro Periode) mit ein wenig Schwefelsäure zu einem dünnen Brei verrührt, wurden gesammelt und abgewogen. Ein Teil derselben wurde auf einem schwach siedendem Wasserbade eingedampft<sup>2)</sup> und mit wenig Alkohol getrocknet, bis die Faeces nach der Abkühlung pulverisierbar wurden.

Jetzt stellte ich das Gewicht fest, zerrieb alles zu einem feinen Pulver, brachte dasselbe in Schwefelsäure-Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz und bestimmte den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl. Zirka 2 g trockene Faeces werden genau abgewogen<sup>3)</sup> und in einem 300 ccm fassenden Kolben nach Liebermann mit 100 ccm 2proz. Salzsäure versetzt und auf dem Sandbade 1½ Stunden am Rückflußkühler gekocht und schließlich mit Natronlauge nahezu neutralisiert. Durch einen Asbestfilter werden sie nun mit Hilfe einer starken Saugpumpe filtriert, mit Wasser ausgewaschen und nun genau auf das Volumen von 300 ccm gebracht. Von den erhaltenen Flüssigkeiten dienten 50 ccm zur Zuckerbestimmung nach Bertrand. Die für Zucker gefundenen Faktoren<sup>4)</sup> wurden mit 0,94 multipliziert, um den Wert für die Stärke zu erhalten.

<sup>1)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 595.

<sup>2)</sup> H. 25, 355.

<sup>3)</sup> Arch. f. d. ges. Physiol. 84, 180.

<sup>4)</sup> Chem. Centralblatt 1891, S. 733.

## Versuche.

Nachdem das Stickstoffgleichgewicht<sup>1)</sup> eingetreten war und während 3—4 Tagen je 15—25 g Inulin, Lichenin oder Hemicellulose zugesetzt worden waren, um den Einfluß derselben auf den Eiweißumsatz zu prüfen, folgten nun zum abermaligen Vergleich 3—6 Tage ohne Darreichung derselben. Es wurden unter diesen Umständen nachstehende Zahlen erhalten.

## Bemerkung von Darstellung der Lichenin und Hemicellulose.

Lichenin<sup>2)</sup> <sup>3)</sup>: das isländische Moos, jene zu medizinischen Zwecken verwandte Flechte, welche mit Wasser gekocht gallertartig gestehende Flüssigkeiten liefert, gibt beim Extrahieren mit konzentrierter Salzsäure und schleunigen Fällen des Extraktes mit Alkohol farbloses oder schwach gelbes Lichenin.

Hemicellulose<sup>4)</sup>: Agar-Agar mit 0,4% Ätzkali behandelt.

Tabelle I.

## Inulin.

Versuch 1: September 1918.

Datum	Körpergewicht kg	Reaktion des Harns	Menge des Harns pro Tag ccm	Spez. Gewicht des Harns	Gesamt-N des Harns g	Gesamt-N der Faeces g	Gewicht des Kotes pro Tag		N-Einnahme pro Tag g	N-Ausgabe pro Tag g	Verfüllte Substanz g	Gesamte Stärke der Faeces g
							feucht g	ge- trock- net g				
9.	9,5	sauer	303	1,032	7,6825	0,1358	15,2	2,9	8,2345	7,8183	—	0,3056
10.	9,5	"	325	1,028	7,8460	0,1358	15,2	2,9	7,9880	7,9818	—	0,3056
11.	9,5	"	305	1,030	8,0150	0,1358	15,2	2,9	8,4155	8,1508	—	0,3056
12.	9,5	"	275	1,032	8,0350	0,1358	15,2	2,9	8,3500	8,1708	—	0,3056
13.	9,45	"	250	1,033	8,1450	0,1358	15,2	2,9	8,4160	8,2908	—	0,3056
14.	9,45	"	235	1,031	8,1050	0,1358	15,2	2,9	8,3321	8,2408	—	0,3056
15.	9,45	"	240	1,030	7,9460	0,2346	34,1	8,2	8,4529	9,1806	15	2,9652
16.	9,40	"	230	1,027	7,9053	0,2346	34,1	8,2	8,6431	7,9388	15	2,9652
17.	9,40	"	250	1,029	7,3468	0,2346	34,1	8,2	8,8256	7,5814	15	2,9652
18.	9,40	"	240	1,029	7,4028	0,1637	15,8	3,0	8,9165	7,5665	—	0,4139
19.	9,40	"	290	1,026	7,4057	0,1637	15,8	3,0	8,3156	7,5690	—	0,4139
20.	9,40	"	245	1,032	7,8455	0,1637	15,8	3,0	8,0250	8,0092	—	0,4139
21.	9,40	"	285	1,030	8,1432	0,1637	15,8	3,0	8,4055	8,3069	—	0,4139

1) Zeitschr. f. Biol. 5, 434. 1857.

2) Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate von Dr. B. Tollens, S. 198.

3) Annalen d. Chemie u. Pharmazie 55, 165 von Knopp und Schne-  
dermann.

4) H. 49, 96. 1906.



Tabelle II. Inulin. Versuch 2: Dezember 1918.

Datum	Körper- gewicht kg	Reaktion des Harns	Menge des Harns pro Tag ccm	Spez. Gewicht des Harns	Gesamt-N des Harns g	Gesamt-N der Faeces g	Gewicht des Kotes pro Tag		N-Einnahme pro Tag g	N-Ausgabe pro Tag g	Verfütterte Substanz g	Gesamte Stärke der Faeces g
							feucht g	ge- trock- net g				
13.	9,70	sauer	230	1,053	6,7149	0,1228	17,1	3,0	7,2307	7,8307	—	0,4580
14.	9,70	"	275	1,032	7,5248	0,1228	17,1	3,0	8,1458	7,6476	—	0,4580
15.	9,70	"	235	1,031	6,6824	0,1228	17,1	3,0	7,1528	6,8052	—	0,4580
16.	9,50	"	303	1,031	7,5097	0,1228	17,1	3,0	8,1032	7,6325	—	0,4580
17.	9,50	"	325	1,029	7,8529	0,1228	17,1	3,0	7,9896	7,9757	—	0,4580
18.	9,45	"	305	1,029	7,1731	0,3179	45,3	13,3	8,7606	7,4928	25	3,7907
19.	9,45	"	280	1,029	7,1283	0,3179	45,3	13,3	8,1895	7,4480	25	3,7907
20.	9,40	"	275	1,033	7,1195	0,3179	45,3	13,3	7,9117	7,4392	25	3,7907
21.	9,40	"	210	1,030	6,7374	0,1941	15,7	8,6	7,7587	6,9315	—	0,3365
22.	9,40	"	275	1,030	6,9608	0,1941	15,7	8,6	7,5596	7,1549	—	0,3365
23.	9,40	"	295	1,026	7,0048	0,1941	15,7	8,6	7,6193	7,2421	—	0,3365
24.	9,40	"	255	1,031	6,9313	0,1941	15,7	8,6	7,2148	7,1254	—	0,3365

## Versuch 3: Dezember 1918.

21.	9,40	sauer	210	1,030	6,7374	0,1941	15,7	8,6	7,7587	6,9315	—	0,3365
22.	9,40	"	275	1,030	6,9608	0,1941	15,7	8,6	7,5596	7,1549	—	0,3365
23.	9,40	"	295	1,026	7,0048	0,1941	15,7	8,6	7,6193	7,2421	—	0,3365
24.	9,40	"	255	1,031	6,9313	0,1941	15,7	8,6	7,2148	7,1254	—	0,3365
25.	9,40	"	350	1,023	6,9696	0,2949	47,5	14,1	8,6989	7,2645	20	3,7447
26.	9,35	"	265	1,030	7,1263	0,2949	47,5	14,1	8,3232	7,4212	20	3,7447
27.	9,35	"	285	1,030	7,6635	0,2949	47,5	14,1	8,4464	7,9584	20	3,7447
28.	9,35	"	295	1,029	7,5891	0,1663	16,8	9,5	8,1020	7,7554	—	0,2104
29.	9,35	"	340	1,025	7,3973	0,1663	16,8	9,5	7,6627	7,5636	—	0,2104
30.	9,35	"	305	1,030	7,4165	0,1663	16,8	9,5	7,8602	7,5828	—	0,2104

Tabelle III. Lichenin. Versuch 1: Januar 1919.

7.	9,6	sauer	420	1,025	8,1014	0,1033	13,4	2,1	8,5054	8,2047	—	0,1640
8.	9,6	"	325	1,028	8,4123	0,1033	13,4	2,1	8,9024	8,5156	—	0,1640
9.	9,6	"	310	1,028	8,0517	0,1033	13,4	2,1	8,7013	8,1550	—	0,1640
10.	9,6	"	280	1,030	8,2138	0,1033	13,4	2,1	8,4258	8,3171	—	0,1640
11.	9,55	"	350	1,026	8,4691	0,3700	13,4	2,1	8,6566	8,5724	—	0,1640
12.	9,55	"	320	1,027	8,0111	0,3700	30,5	7,4	8,4167	8,3811	15	1,3741
13.	9,55	"	300	1,028	8,0485	0,3700	30,5	7,4	8,7130	8,4145	15	1,3741
14.	9,55	"	315	1,026	8,1642	0,1406	30,5	7,4	8,7150	8,5342	15	1,3741
15.	9,55	"	290	1,028	8,2365	0,1406	15,1	3,2	8,9468	8,3771	—	0,4068
16.	9,50	"	280	1,029	8,1044	0,1406	15,1	3,2	8,6150	8,2450	—	0,4068
17.	9,50	"	360	1,020	8,2220	0,1406	15,1	3,2	8,4130	8,3626	—	0,4068
18.	9,50	"	325	1,024	8,0904	0,1406	15,1	3,2	8,3015	8,2310	—	0,4068

## Versuch 2: Januar und Februar 1919.

22.	9,65	sauer	525	1,020	8,3586	0,0939	14,3	2,5	8,5729	8,4525	—	0,1376
23.	9,65	"	280	1,031	8,5041	0,0939	14,3	2,5	8,8434	8,5980	—	0,1376
24.	9,65	"	270	1,035	8,5041	0,0939	14,3	2,5	8,6430	8,5980	—	0,1376
25.	9,65	"	350	1,026	8,4761	0,0939	14,3	2,5	8,7092	8,5760	—	0,1376
26.	9,65	"	290	1,032	8,1818	0,0939	14,3	2,5	8,3833	8,2757	—	0,1376
27.	9,55	"	320	1,028	8,0079	0,4661	32,3	8,0	8,4730	8,4740	15	1,2513
28.	9,55	"	235	1,041	8,4821	0,4661	32,3	8,0	9,1240	8,9488	15	1,2513
29.	9,40	"	295	1,034	8,3640	0,4661	32,3	8,0	9,4939	8,8301	15	1,2513
30.	9,40	"	306	1,035	8,0379	0,3096	16,9	3,5	8,4977	8,3473	—	0,6489
31.	9,40	"	318	1,034	8,1601	0,3096	16,9	3,5	8,5839	8,4697	—	0,6489
1.	9,40	"	315	1,036	8,5925	0,3096	16,9	3,5	8,8239	8,9021	—	0,6489

Tabelle IV.

## Lichenin.

Versuch 3: Februar und März 1919.

Datum	Körpergewicht kg	Reaktion des Harns	Menge des Harns pro Tag ccm	Spez. Gewicht des Harns	Gesamt-N des Harns g	Gesamt-N der Faeces g	Gewicht des Kotes pro Tag		N-Einnahme pro Tag g	N-Ausgabe pro Tag g	Verfütterte Substanz g	Gesamte Stärke der Faeces g
							feucht g	ge- trock- net g				
20.	9,9	sauer	370	1,020	7,0410	0,1163	13,8	2,6	8,3567	7,1573	—	1,1309
21.	9,9	"	250	1,031	7,0751	0,1163	13,8	2,6	8,2888	7,1914	—	0,1309
22.	9,85	"	410	1,020	8,3779	0,1163	13,8	2,6	8,5319	8,4942	—	0,1309
23.	9,85	"	255	1,030	7,0610	0,1163	13,8	2,6	8,4608	7,1773	—	0,1309
24.	9,85	"	235	1,032	6,5146	0,1163	13,8	2,6	6,8746	6,6309	—	0,1309
25.	9,85	"	325	1,023	7,3553	0,1163	13,8	2,6	7,6508	7,4716	—	0,1309
26.	9,85	"	205	1,038	7,1005	0,1163	13,8	2,6	7,4568	7,2168	—	0,1309
27.	9,85	"	260	1,032	7,6355	0,3669	30,1	7,8	8,5160	8,0024	15	0,9057
28.	9,85	"	295	1,028	7,0417	0,3669	30,1	7,8	8,3595	7,4086	15	0,9057
1.	9,85	"	245	1,035	7,5012	0,3669	30,1	7,8	8,5104	7,8681	15	0,9057
2.	9,85	"	345	1,034	7,0820	0,2159	15,2	3,4	7,8724	7,2879	—	0,3388
3.	9,8	"	300	1,035	7,2712	0,2159	15,2	3,4	7,4976	7,4871	—	0,3388
4.	9,8	"	260	1,046	7,5774	0,2159	15,2	3,4	7,8710	7,7533	—	0,3388
5.	9,8	"	275	1,030	7,2712	0,2159	15,2	3,4	7 5204	7,4871	—	0,3388

Tabelle V.

## Hemicellulose.

Versuch 1: April und Mai 1919.

20.	11,45	sauer	390	1,028	8,5103	0,1386	12,8	2,5	8,7324	8,6489	—	0,1287
21.	11,45	"	270	1,036	7,8456	0,1386	12,8	2,5	8,6930	7,9842	—	0,1287
22.	11,45	"	280	1,036	8,9944	0,1386	12,8	2,5	9,6302	9,1330	—	0,1287
23.	11,40	"	275	1,036	9,1065	0,1386	12,8	2,5	9,4358	9,3712	—	0,1287
24.	11,40	"	255	1,038	9,2326	0,1386	12,8	2,5	9,5024	9,3712	—	0,1287
25.	11,40	"	220	1,042	8,6442	0,1386	12,8	2,5	9,0573	8,7828	—	0,1287
26.	11,40	"	250	1,037	8,4741	0,1386	12,8	2,5	8,6295	8,6128	—	0,1287
27.	11,40	"	180	1,046	7,3973	0,2194	52,4	12,1	8,0642	7,6167	15	6,2401
28.	11,40	"	170	1,048	7,8156	0,2194	52,4	12,1	8,6532	8,0350	15	6,2401
29.	11,40	"	180	1,046	7,0852	0,2194	52,4	12,1	8,0183	7,3046	15	6,2401
30.	11,40	"	190	1,046	7,7456	0,2194	52,4	12,1	8,2037	7,9650	15	6,2401
1.	11,40	"	220	1,040	7,6214	0,1674	15,1	3,2	8,2168	7,7888	—	0,1183
2.	11,35	"	240	1,040	7,9534	0,1674	15,1	3,2	8,5124	8,1208	—	0,1183
3.	11,35	"	270	1,039	9,2746	0,1674	15,1	3,2	9,4570	9,4420	—	0,1183
4.	11,35	"	260	1,037	8,2519	0,1674	15,1	3,2	8,4933	8,4193	—	0,1183
5.	11,35	"	220	1,039	7,9896	0,1674	15,1	3,2	8,3310	8,1570	—	0,1183

Tabelle VI.

## Hemicellulose.

Versuch 2: Mai 1919.

Datum	Körper- gewicht kg	Reaktion des Harns	Menge des Harns pro Tag ccm	Spez. Gewicht Harns	Gesamt-N das Harns g	Gesamt-N der Faeces g	Gewicht des Kotes pro Tag		N-Einnahme pro Tag g	N-Ausgabe pro Tag g	Verfütterte Substanz g	Gesamte Stärke der Faeces g
							feucht g	ge- trock- net g				
14.	11,45	sauer	210	1,037	7,8729	0,1595	14,6	3,5	7,9587	8,0324	—	0,0810
15.	11,45	"	240	1,032	7,1548	0,1595	14,6	3,5	8,1558	7,6239	—	0,0810
16.	11,35	"	190	1,040	7,5603	0,1595	14,6	3,5	8,3779	7,7198	—	0,0810
17.	11,35	"	180	1,045	7,5707	0,1595	14,6	3,5	8,3994	7,7302	—	0,0810
18.	11,35	"	155	1,049	7,8369	0,1595	14,6	3,5	8,2942	7,9964	—	0,0810
19.	11,35	"	200	1,046	7,8356	0,1595	14,6	3,5	8,3926	7,9951	—	0,0810
20.	11,35	"	190	1,048	7,9093	0,1595	14,6	3,5	8,4071	8,0688	—	0,0810
21.	11,35	"	168	1,048	7,5934	0,1595	14,6	3,5	7,8524	7,7529	—	0,0810
22.	11,35	"	150	1,057	7,1591	0,2488	48,6	9,2	7,9367	7,4079	15	3,0399
23.	11,35	"	180	1,046	7,7176	0,2488	48,6	9,2	8,7538	8,0663	15	3,0399
24.	11,35	"	175	1,047	7,5374	0,2488	48,6	9,2	8,3277	7,7862	15	3,0399
25.	11,35	"	175	1,046	7,4113	0,2488	48,6	9,2	8,8081	7,6601	15	3,0399
26.	11,35	"	220	1,041	7,2572	0,1688	15,7	4,0	7,8190	7,4260	—	0,0756
27.	11,1	"	200	1,045	8,3500	0,1688	15,7	4,0	8,6567	8,5188	—	0,0756
28.	11,1	"	180	1,044	7,8705	0,1688	15,7	4,0	8,2830	8,0393	—	0,0756
29.	11,1	"	200	1,046	8,2258	0,1688	15,7	4,0	8,4880	8,3946	—	0,0756
30.	11,1	"	220	1,042	8,1936	0,1688	15,7	4,0	8,4717	8,3624	—	0,0756

Tabelle VII.

## Hemicellulose.

Versuch 3: Juli 1919.

6.	11,35	sauer	220	1,038	7,8012	0,1463	13,4	2,9	8,2135	7,9475	—	0,0960
7.	11,35	"	200	1,038	7,5432	0,1463	13,4	2,9	8,4105	7,6895	—	0,0960
8.	11,35	"	210	1,037	7,6153	0,1463	13,4	2,9	8,0113	7,7616	—	0,0960
9.	11,35	"	180	1,040	7,2461	0,1463	13,4	2,9	8,0015	7,3924	—	0,0960
10.	11,35	"	175	1,041	7,6600	0,1463	13,4	2,9	7,9102	7,8063	—	0,0960
11.	11,30	"	185	1,041	7,5732	0,1463	13,4	2,9	7,7838	7,7195	—	0,0960
12.	11,30	"	168	1,045	7,4013	0,2357	45,3	8,9	8,0443	7,6370	15	2,8734
13.	11,30	"	170	1,044	7,3055	0,2357	45,3	8,9	8,1056	7,5412	15	2,8734
14.	11,30	"	150	1,045	7,2551	0,2357	45,3	8,9	8,4069	7,4908	15	2,8734
15.	11,35	"	165	1,044	7,3855	0,1220	16,0	3,5	8,3101	7,5075	—	0,1082
16.	11,35	"	200	1,039	7,4475	0,1220	16,0	3,5	8,0121	7,5695	—	0,1082
17.	11,20	"	250	1,036	7,4901	0,1220	16,0	3,5	8,1563	7,6121	—	0,1082
18.	11,20	"	230	1,046	7,8644	0,1220	16,0	3,5	8,3101	8,0864	—	0,1082
19.	11,20	"	180	1,048	8,0115	0,1220	16,0	3,5	8,2504	8,1335	—	0,1082
20.	11,20	"	205	1,039	8,1897	0,1220	16,0	3,5	8,6123	8,4117	—	0,1082

**Zusammenfassung.**

Aus den vorerwähnten Tabellen ergibt sich, daß durch Zugabe von Polysacchariden (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) zu Fleisch die Stickstoffausscheidung sich verringert.

Diese Polysaccharide sind im Verdauungstraktus des Hundes verdaulich und ausnutzbar und Eiweißsparer.

Aber in welchem Teile des Verdauungstraktus es gespalten wird und durch welche Agentien oder Fermente es gespalten wird, ist weniger bekannt; ich will versuchen, dies in späteren Versuchen festzustellen.

Dem Herrn Rektor der Universität Kyoto, Dr. T. A r a k i und Herrn Prof. Dr. K. M a e d a spreche ich für ihre freundlichst erteilten Ratschläge bei der Ausführung meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

---

# Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Gehirns.

Von  
Tomihide Shimizu.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Universität zu Kioto.)

(Eingegangen am 27. Februar 1921).

Die lebenden Zellen enthalten verschiedene Proteinstoffe, die nach Art der Zellen und Körperorgane variieren. Die Proteinstoffe in den Zellen spielen verschiedene Rollen und bauen die Zellenbestandteile auf. Es ist aus der Fermentlehre ersichtlich, daß die Zellen eigene Proteinstoffe haben und sich in normalem Zustande durch Spaltung eigener Proteinstoffe ernähren. So z. B. hat Simon<sup>1)</sup> ein proteolytisches Ferment bei der Autolyse im Gehirn festgestellt und sah auch beim Hungern N-haltige Stoffe im Harn austreten.

Es ist bekannt, daß verschiedene Organe eigene Extraktivstoffe in verschiedenem Mengenverhältnis enthalten. Aus diesen Gründen ergibt sich, daß jede Zelle und jedes Organ verschiedene Ansprüche an ihre Ernährung stellen. Daher ist es von Bedeutung, die Extraktivstoffe der verschiedenen Organe zu erforschen.

In der Reihe des einzelnen Organs scheint das Gehirn in bezug auf seine N-haltigen Extraktivstoffe bisher wenig untersucht worden zu sein.

Die Tatsachen, die ich nämlich in den mir zugänglichen Literaturen über das Vorkommen finde, sind sehr spärlich. Die chemische Zusammensetzung des Gehirns war nach verschiedenen Richtungen hin von mehreren Autoren z. B. von Thudichum<sup>2)</sup>, Arthur Weil und Tierfelder<sup>3)</sup> E. Abderhalden<sup>4)</sup> usw. untersucht worden. Die Resultate darüber gehen jedoch auseinander.

<sup>1)</sup> H. 72, 463. 1910.

<sup>2)</sup> Thudichum, Konstitution des Gehirns 1901.

<sup>3)</sup> H. 30, 542. 1900; H. 34, 572. 1905; H. 91, 106. 1914.

<sup>4)</sup> H. 81, 207. 1913; H. 83, 425. 1913; H. 88, 272. 1913.

### Experimenteller Teil.

Ich sammelte 35 kg möglichst frisches normales Ochsenhirn. Dieses wurde schnell gewaschen, von Blut gereinigt und die Häute mittels Pinzette entfernt. Die gereinigten Stücke der Hirnsubstanz wurden dann in kleine flache Stücke zerschnitten. Zur Entwässerung wurde die Hirnsubstanz in 85 proz. Alkohol gelegt und koliert. Die so von Blut und Wasser befreite Hirnsubstanz wurde mittels einer Hackmaschine in kleine Stückchen zerschnitten und mit kaltem Äther wiederholt so lange erschöpfend extrahiert bis das Filtrat farblos ablief. Das mit kaltem Äther extrahierte Hirnpulver wurde mit kochendem Äther abermals derselben Behandlung unterzogen. Das so mit Äther behandelte Pulver wurde nun mit 95 proz. Alkohol im Wasserbade auf eine Temperatur von 45–55° C erwärmt. Die Masse wurde dann auf ein Tuchfilter gegossen und nach Ablafen des Alkohols gepreßt. Der Preßkuchen wurde wieder aufgeweicht, abermals auf dieselbe Temperatur erwärmt, gepreßt und dieses Ausziehen so lange wiederholt, bis die Masse erschöpft war.

Das mit warmem Alkohol extrahierte Hirnpulver wurde mit dreifachen Mengen Wasser gut durchgerührt und eine Stunde auf dem Wasserbade bei 45–55° C abermals digeriert. Die so behandelte Flüssigkeit wurde nun koliert, der Rückstand dreimal auf dieselbe Weise mit Wasser extrahiert und endlich gut ausgepreßt. Die vereinigten Wasserauszüge wurden zunächst mit 20 proz. Tanninlösung vollkommen ausgefällt und abfiltriert. Das Filtrat wurde durch Baryt von der Hauptmasse des überschüssigen Tannins befreit, das überschüssige Baryt durch Schwefelsäure gefällt, die Schwefelsäure und die Reste des Tannins durch Eintragen von Bleioxyd aus der Lösung beseitigt und das gelöste Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die so vorbereitete Flüssigkeit engte ich im Vakuum ein.

Es schieden sich mikroskopische, nadelförmig gruppierte, seidenglänzende weiße Krystalle aus, die 0,18 g betrugten. Die wässrigen Lösungen derselben ergaben eine stark positive Millons-Reaktion. Dann wurden die Krystalle in Ammoniak gelöst und mit Salzsäure ausgefällt. Die gereinigten Krystalle erwiesen sich als Tyrosin nach folgenden Analysen:

0,1032 g Substanz verbrauchten 5,96 ccm  $\frac{1}{10}$ -Schwefelsäure.

Ber. f.  $C_9H_{11}O_3N$ : 8,18% N; gef. 8,09% N.

Die salzsaure Lösung dieser Krystalle drehte das polarisierte Licht nach links.

Die vom Tyrosin abfiltrierte Flüssigkeit wurde stark eingeeengt, wobei sich wieder Krystalle ausschieden, die in Wasser leicht löslich waren. Ferner waren diese Krystalle phosphor-, schwefel- und stickstofffrei und schmolzen bei 228° C (unkorr.), das polarisierte Licht wurde nicht gedreht. Die Substanz wurde im Wasser gelöst und mit Bleiessig und Ammoniak<sup>1)</sup> ausgefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser zerteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat vom Bleisulfid stark eingeeengt, kochend heiß mit

<sup>1)</sup> A. 117, 118. 1861.

dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt, und mit kaltem Alkohol ausgewaschen. Die so gereinigten Krystalle gaben Gallois und Scherers Inositproben. Bei der Analyse wurden sie als Inosit nachgewiesen. Ausbeute: 0,95 g.

0,1405 g Substanzen ergaben 0,219 g  $\text{CO}_2$  und 0,098 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Ber. f.  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ : C = 39,54%, H = 7,75%; gef. C = 39,01%, H = 78,83%.

Die von Tyrosin und Inosit abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit Äther 72 Stunden lang im Suto-Kumagawas Extraktionsapparate zur Entfernung von noch zurückgebliebenem Fett und Phosphatid extrahiert. Bei stark schwefelsaurer Reaktion wurde sie wieder im Extraktionsapparat 72 Stunden mit Äther extrahiert.

Der Äther wurde abdestilliert und die zurückbleibende Säure einige Zeit erhitzt, wobei etwas Ameisensäure entwich. Der Rückstand wurde alsdann mit Zinkcarbonat neutralisiert, und das erhaltene Salz durch wiederholte Umkrystallisationen aus heißem Wasser gereinigt und an der Luft getrocknet. Bei der Analyse lieferte es einen Wert, der mit d-milchsaurem Zink übereinstimmte. Die Ausbeute betrug 9,88 g.

Bestimmung des Krystallwassers:

0,6540 g Substanzen verloren beim Trocknen bei  $105^\circ\text{C}$  0,0886 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Ber. f.  $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn} + 2\text{H}_2\text{O}$ : 13,67%  $\text{H}_2\text{O}$ ; gef. 13,54%  $\text{H}_2\text{O}$ .

Bestimmung des Zinks im wasserfreien Salz:

Bei  $105^\circ\text{C}$  getrocknete Substanz 0,2174 g gaben 0,0723 g  $\text{ZnO}$ .

Ber. f.  $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn}$ : 26,76% Zn; gef. 26,69% Zn.

Ihre wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links.

Das von d-milchsaurem Zink befreite Filtrat wurde mit überschüssigem Eisenchlorid gekocht und vorsichtig unter Zusatz von Baryumcarbonat ausgefällt. Die Eisenniederschläge wurden dabei mit zersetzt.

Aus der sauren Lösung zog Äther eine Säure aus, die in Wasser leicht löslich war, beim Erhitzen schmolz und in weißen Dämpfen sublimierte. Beim Verdampfen der Lösung krystallisierte sie.

Die aus Wasser umkrystallisierte Substanz lieferte bei der Analyse einen Wert, der mit Bernsteinsäure übereinstimmte, sie wog 3,84 g. Die über Schwefelsäure zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz ergab folgende Analysenzahlen:

0,1830 g Substanz gaben 0,2980 g  $\text{CO}_2$  und 0,0841 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Ber. f.  $(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4)$ : C = 40,66%, H = 5,13%; gef. C = 40,71%, H = 5,12%.

Die mit Äther extrahierte Flüssigkeit säuerte ich so stark mit Schwefelsäure an, daß die Lösung 5% davon enthielt, und fällte mit 20proz. Phosphorwolframsäurelösung aus. Ich will diese Fällung als Basenfraktion, das Filtrat davon als Aminosäurenfraktion bezeichnen.

### Basenfraktion.

Die Phosphorwolframsäurefällung wurde abgesaugt, mehrmals mit 5proz. Schwefelsäure gewaschen, durch Baryt zerlegt, von überschüssigem

Baryt durch Kohlensäure befreit und abfiltriert. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum eingeeengt, mit verdünnter Schwefelsäure von überschüssigem Baryt befreit, dann mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit 20proz. Silbernitratlösung gefällt. Diese Silbernitratverbindungen mußten die Purinbasen enthalten.

### Fällung der Purinbasen.

Diese Fällung wurde mit silbernittrahaltigem Wasser gut ausgewaschen und dann mit ammoniakhaltigem Wasser einige Zeit in der Wärme digeriert, abfiltriert und so lange mit verdünntem Ammoniak gewaschen, bis sie salpetersäurefrei waren. Der Filtrerrückstand wurde im Wasser zerteilt, auf dem Wasserbade mit Salzsäure zerlegt, und die Basen in ihre Chloride verwandelt. Darauf wurde das Chlorsilber abfiltriert, gut ausgewaschen, die vereinigten Filtrate auf dem Wasserbade vorsichtig abgedampft.

Der Rückstand wurde mit Wasser digeriert, das dabei ausgeschiedene Xanthin abfiltriert, aus dem Filtrate durch Zusatz von Ammoniak das Guanin gefällt und nach 24stündigem Stehen abfiltriert. Zur Reinigung des Guanins wurde dieses in Natronlauge aufgelöst und durch Ansäuern mit Essigsäure gefällt. Die Ausbeute betrug 0,4233 g.

0,085 g Substanz verbrauchten 28,1 ccm  $n_{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ber. f. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O: 46,36% N; gef. 46,34% N.

Das ammoniakalische Filtrat von Guanin wurde durch Erwärmen vom Ammoniak befreit, mit Salzsäure vorsichtig neutralisiert und dann mit einer gesättigten Lösung von Natriumpikrat so lange versetzt, als noch ein weiterer Zusatz des Fällungsmittels zu einem Teil der Lösung unmittelbar eine Fällung erzeugte. Es entstand sofort ein krystallinischer Niederschlag. Derselbe wurde alsbald mit Hilfe einer Saugpumpe abfiltriert. Das aus heißem Wasser umkrystallisierte Pikrat, dessen Schmelzpunkt bei 280° C lag, betrug 2,4228 g. Bei der Analyse stimmte es mit dem Werte für Adeninpikrat überein.

0,1532 g Substanzen ergaben 43,5 ccm feuchten Stickstoff bei 30° C und 759 mm.

Ber. f. C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>: 30,78% N; gef. 30,67% N.

Das Filtrat von Adeninpikrat wurde mit Salpetersäure angesäuert und Pikrinsäure durch Ausschütteln mit Benzol entfernt. Hierauf fällte ich Hypoxanthin und Xanthin mit ammoniakalischer Silberlösung aus und führte sie in die Chloride über, deren Lösung ich zur Trockne dampfte. Der Rückstand wurde zur völligen Entfernung der überschüssigen Salzsäure noch mehrmals mit Wasser und Alkohol abgedampft, sodann in wenig Wasser gelöst und bei 40° C digeriert. Die abgeschiedene Masse, welche eine sehr schöne Xanthinprobe und eine prachtvolle Weidelsche Reaktion ergab, wurde abfiltriert, in Ammoniak gelöst, entfärbt, sodann eingedampft. Das dabei ausgeschiedene Xanthin wurde mit Wasser gewaschen. Die Ausbeute: 1,3307 g.



0,0224 g Substanz ergaben 7,30 ccm feuchten Stickstoff bei 22° C und 754 mm.

Ber. f.  $C_8H_4O_2N_4$ : 36,85% N; gef. 36,70% N.

0,0211 g Substanz verbrauchten 4,5 ccm  $\frac{2}{10}$ - $H_2SO_4$ .

Ber. f.  $C_8H_4O_2N_4$ : 36,85% N; gef. 36,70 N.

Die von Xanthin abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit einem kleinen Überschuß von Pikrinsäurelösung versetzt. Die entstandene Trübung, die wohl von einem Adeninrest herrührte, wurde sofort abfiltriert. Die klare von Adenin völlig freie Lösung schied nach dem Einengen und Erkaltenlassen das Hypoxanthin-pikrat in tafelförmigen Krystallen aus. Das Hypoxanthin-pikrat wurde abfiltriert und aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute: 0,1756 g.

0,0592 g Substanzen ergaben 14,3 ccm feuchten Stickstoff bei 24,6° C und 756 mm.

Ber. f.  $C_8H_4ON_4$ ,  $C_8H_2O_2N_4$ : 26,86% N; gef. 26,70% N.

#### Filtrat der Purinbasenfällung.

Zum Filtrate der Silberfällung wurde 10 proz. Silbernitratlösung gefügt, bis in einer Probe kalt gesättigtes Barytwasser neben weißen organischen Verbindungen braunes Silberoxyd ausfällte; dann wurde mit Barytwasser im Überschuß versetzt, abgesaugt und diese Fällung mit 2 proz. Barytwasser gut ausgewaschen, bis sie salpetersäurefrei geworden war. Der Rückstand wurde in Wasser suspendiert, von überschüssigem Baryt durch Schwefelsäure und von dem Silber durch Schwefelwasserstoff befreit. Danach wurde die von Baryt und Silber befreite Flüssigkeit im Vakuum trocken gedampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol wiederholt ausgezogen, die alkoholischen Auszüge wurden auf dem Wasserbade verdampft und in wenig Wasser gelöst. Durch Zusatz von alkoholischer Chlorzinklösung schieden sich nun Krystalle von konzentrisch gruppierten feinen Nadeln aus; nach 2tägigem Stehen wurden sie filtriert. Durch Krystallform erwiesen sie sich als Kreatininchlorzink. Ausbeute: 0,2196 g.

0,0353 g Substanz verbrauchten 5,8 ccm  $\frac{2}{10}$ - $H_2SO_4$ .

Ber. f.  $(C_4H_7O_2N)_2ZnCl_2$ : 23,22% N; gef. 23,02% N.

Der durch Alkohol ausgezogene Rückstand wurde in ca. 200 ccm Wasser gelöst, mit  $CO_2$  übersättigt und mit Sublimatlösung ausgefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde in Wasser aufgeschwemmt und mit  $H_2S$  zersetzt. Die von Schwefelquecksilber abfiltrierte Flüssigkeit wurde stark eingengt und mit Silbernitrat und Barytwasser völlig gefällt. Der dadurch erhaltene Niederschlag mußte der Hauptsache nach aus Histidinsilber bestehen. Um es zu isolieren, wurde der Niederschlag mit Schwefelsäure und  $H_2S$  behandelt, das Filtrat von  $BaSO_4$  und  $Ag_2S$  stark eingengt und mit alkoholischer Pikrolonsäurelösung im Überschuß versetzt. Es schieden sich sofort feine gelbe Nadeln ab, die von der Mutterlauge abgesaugt und aus heißem Wasser umkrystallisiert wurden. Ausbeute: 0,1888 g. Die Krystallform sowie die Analyse erwiesen die Krystalle als Histidin-pikrolonat.

0,0676 g Substanzen ergaben 14,02 ccm feuchten Stickstoff bei 27° C und 748,6 mm.

Ber. f.  $C_{26}H_{22}N_{11}O_{11}$ : 22,53% N; gef. 22,42% N.

Das Filtrat von Histidinquecksilber wurde durch  $H_2S$  vom Quecksilber und nach Verdampfen des  $H_2S$  durch Zugabe von  $Ag_2CO_3$  von der Salzsäure befreit. Darauf wurde die quecksilber- und salzsäurefreie Lösung mit  $H_2S$  behandelt, und, um das darin gelöste Silber zu entfernen, stark eingeengt sowie mit alkoholischem Platinchlorid<sup>1)</sup> versetzt. Die Analyse ergab, daß das abgeschiedene Platinchloridsalz Cytosinplatinchlorid war.

0,0082 g Substanz ergaben 0,0025 g Pt.

Ber. f.  $(C_4H_5N_3O)_2PtCl_4 \cdot 2 HCl$ : 30,58% Pt; gef. 30,48% Pt.

0,0131 g Substanz verbrauchten 1,2 ccm  $\frac{2}{10}$ - $H_2SO_4$ .

Ber. f.  $(C_4H_5N_3O)_2PtCl_4 \cdot 2 HCl$ : 13,298% N; gef. 13,28% N.

Das Filtrat von Cytosinplatinchlorid wurde durch  $H_2S$  von Platin und durch Zugabe von  $Ag_2CO_3$  von Salzsäure befreit. Die so behandelte Lösung wurde durch  $H_2S$  von Ag befreit, auf ca. 20 ccm eingeengt und mit gesättigter Pikrinsäurelösung versetzt. Das aus heißem Wasser umkrystallisierte Pikrat, dessen Schmelzpunkt bei 200° C lag, betrug 0,2118 g. Die Analyse erwies es als Argininpikrat.

0,045 g Substanzen ergaben 9,7 ccm feuchten Stickstoff bei 21° C und 758 mm.

Ber. f.  $C_6H_{14}O_2N_4$ ,  $C_6H_5O_7N_3$ : 24,28% N; gef. 24,33% N.

Das Filtrat von Histidin- und Argininsilber wurde durch  $H_2SO_4$  von Baryt und durch HCl von Silber befreit, eingeengt, mit 5% seines Volumens an Schwefelsäure versetzt und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit 5proz. Schwefelsäure ausgewaschen und dann durch Baryt zersetzt. Die durch Kohlensäure vom Baryt befreite Lösung wurde nach Ansäuern mit Salzsäure trocken gedampft und mit Alkohol erschöpft. Die Alkoholauszüge wurden vereinigt und mit einer alkoholischen Sublimatlösung gefällt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, mit Alkohol ausgewaschen, in Wasser zerteilt und durch  $H_2S$  zerlegt. Die von Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung wurde trocken gedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert. Die alkoholische Lösung wurde mit einer alkoholischen Platinchloridlösung versetzt, der dabei erhaltene Niederschlag mit Alkohol gewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert. In wohl ausgebildeten orangeroten Prismen schieden sich das Platindoppelsalz ab, das bei 234° C schmolz und 0,5724 g wog. Die Krystallform und die Analysenresultate erwiesen sich als Cholinplatinchlorid.

0,1168 g Substanz gaben 0,0368 g Pt.

Ber. f.  $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$ : 31,67% Pt; gef. 31,56% Pt.

0,0439 g Substanzen verbrauchten 1,21 ccm  $\frac{2}{10}$ - $H_2SO_4$ .

Ber. f.  $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$ : 3,89% N; gef. 3,86% N.

<sup>1)</sup> H. 38, 170.

Das Filtrat von Cholinquecksilber wurde durch  $H_2S$  von Hg befreit mit Schwefelsäure angesäuert, daß die Lösung 5% davon enthielt, und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Diese Fällung wurde in bekannter Weise zerlegt, von Baryt durch  $H_2SO_4$  und  $CO_2$  befreit, unter Zusatz von Salzsäure stark eingeeengt und mit einer alkoholischen Natriumpikratlösung versetzt. Es schieden sich bald nadelförmige Krystalle ab, die von der Mutterlauge getrennt und aus heißem Wasser umkrystallisiert wurden. Sie zersetzten sich bei  $252,5^\circ C$  (unkorr.), und gaben bei der Analyse den mit der Zusammensetzung von Lysin-pikrat vollkommen übereinstimmenden Wert. Ihre Menge betrug 0,698 g.

0,0868 g Substanz gaben 14,7 cem feuchten Stickstoff bei  $26^\circ C$  und 756 mm.

Ber. f.  $C_6H_{14}O_2N_2$ ,  $C_6H_5N_3O$ : 18,66% N; gef. 18,60% N.

Das von den alkoholischen Cholin- und Lysinquecksilberextrakten<sup>1)</sup> befreite Filtrat wurde durch  $H_2S$  von Hg, durch  $Ag_2CO_3$  von HCl befreit. Die von Hg und HCl befreite Flüssigkeit wurde durch  $H_2S$  wieder von Ag befreit, eingeeengt und wie üblich der Silber-Baryt-Fällung unterworfen. Der Niederschlag wurde durch  $H_2S$  von Ag und mit  $CO_2$  von Baryt befreit und eingeeengt. Die schwach alkalisch reagierende Flüssigkeit wurde mit  $HNO_3$  neutralisiert, eingeeengt und wieder der Silber-Baryt-Fällung unterworfen.

Der Rückstand<sup>2)</sup> wurde mit 2proz. Barytwasser gut ausgewaschen, in Wasser suspendiert und durch  $H_2S$  von Ag, durch  $CO_2$  von Baryt befreit. Die von Ag und Baryt befreite Lösung wurde mit  $HNO_3$  neutralisiert, mit Tierkohle entfärbt und eingeeengt. Es schied sich jedoch kein Methylguanidinnitrat ab.

Das Filtrat bei der zweiten Silber-Baryt-Fällung<sup>3)</sup> wurde mit Salzsäure neutralisiert, von  $AgCl$  abfiltriert, eingeeengt und mit Dragendroschem Reagens<sup>4)</sup> versetzt. Es entstand ein orangeroter voluminöser Niederschlag. Derselbe wurde mit Wasser wiederholt abgeseugt, mit frischem Bleioxyd zerrieben und filtriert. Das Filtrat wurde durch  $H_2S$  von Blei befreit, zu Sirup eingeeengt, in Alkohol gelöst und mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt. Aber auch in diesem Fall schied sich kein Quecksilberdoppelsalz des Karnosins ab.

### Aminosäurefraktion 1.

Das Filtrat von Phosphorwolframsäurefällung wurde mit Baryt von der gelösten Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure befreit und der überschüssige Baryt durch  $CO_2$  entfernt. Danach wurde die von Baryumphosphorwolframat usw. abfiltrierte Lösung stark eingeeengt und mit gesättigter Sublimatlösung und Barytwasser ausgefällt. Ich möchte diese Fällung als Pyrimidinkörper und das Filtrat davon als Aminosäurefraktion Nr. 2 bezeichnen.

<sup>1)</sup> Wl. Gulewitsch s. Amisadzki, H. 30, 565.

<sup>2)</sup> Wl. Gulewitsch, H. 47, 471.

<sup>3)</sup> Krimberg, H. 48, 412.

<sup>4)</sup> Wl. Gulewitsch, Krimberg, H. 45, 326.

### Fällung des Pyrimidinkörpers.

Diese Fällung wurde im Wasser zerteilt, mit  $H_2S$  zerlegt, die von Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung nach Verdampfen des  $H_2S$  mit  $H_2SO_4$  vom Baryt befreit und eingeeengt. Es schied sich aus derselben eine krystallinische Substanz aus. Dieselbe ergab, nachdem sie aus Wasser umkrystallisiert war, eine Weidelsche Reaktion und sublimierte bei vorsichtigem Erhitzen in trockenem Reagensglas und betrug 1,2628 g. Diese Krystalle<sup>1)</sup> wurden im Trockenschrank bei  $100^\circ C$  getrocknet, pulverisiert und bei Zimmertemperatur in 12 ccm rauchender Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,5 gelöst. Nach völliger Lösung wurde sie im Wasserbade bei  $50-60^\circ$  bis zur Trockne verdampft. Der Überschuß von Salpetersäure wurde im Vakuum über Schwefelsäure und Kaliumcarbonat vertrieben. Der Verdampfungsrückstand wurde dann pulverisiert, mit 20 ccm kaltem absolutem Alkohol extrahiert und von dem unlöslichen Teil abgesaugt, mit 5 ccm kaltem absolutem Alkohol ausgewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert. Dabei schieden sich goldgelbe Nadeln aus, die bei der Analyse den mit der Zusammensetzung des Nitro-urazils übereinstimmenden Wert lieferten.

0,1053 g Substanz gaben 25,05 ccm feuchten Stickstoff bei  $24^\circ C$  und 758 mm.

Ber. f.  $C_4H_5O_4N_3$ : 26,76% N; gef. 26,48% N.

Das von Nitrourazil befreite alkoholische Filtrat, mit dem Waschkohol vereinigt, wurde bei Zimmertemperatur trocken gedampft. Dann wurde der Rückstand aus möglichst wenig heißem Wasser umkrystallisiert. Es schied sich dabei eine Substanz in triklinen Prismen ab. Wie die Analyse ergab, bestand sie aus Oxynitrohydrothymidin und schmolz bei  $185^\circ C$ .

0,12 g Substanzen gaben 24,13 ccm feuchten Stickstoff bei  $25^\circ C$  und 759 mm.

Ber. f.  $C_8H_7O_6N_3$ : 22,23% N; gef. 22,29% N.

### Aminosäurefraktion 2.

Das von Thymin und Uraoil befreite Filtrat wurde durch  $H_2S$  von Hg, durch  $H_2SO_4$  von Baryt befreit und dann zu Sirup eingeeengt. Zur Isolierung der Aminosäuren verfuhr ich nach E. Fischers Estermethode.

Der Sirup wurde mit absolutem Alkohol übergossen und durch Einleiten von Salzsäuregas verestert. Die tiefbraune Lösung wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand von neuem esterifiziert, 48 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt und abgesaugt. Aus diesem Rückstande konnte ich kein Glykokollesterchlorhydrat isolieren. Die ausgezogene Lösung wurde im Vakuum eingedampft und noch zweimal verestert. Um die Aminosäureester in Freiheit zu setzen, wurde die Bearbeitung des Verdampfungsrückstandes mit Äther, Kaliumcarbonat und Ätzkali ausgeführt. Der Äther wurde abdestilliert und das Estergemisch der fraktionierten Destillation unterworfen.

<sup>1)</sup> B. Johnson, Journ. of Biol. Chem. 4, 408.

1. Fraktion bis 60° des Wasserbades und 12 mm Druck . . . . 1,8 g
  2. Fraktion bis 100° des Wasserbades und 12 mm Druck. . . . 3,5 g
  3. Fraktion bis 100° des Wasserbades und 0,5 mm Druck . . . . 1,8 g
  4. Fraktion bis 175° des Ölbad und 0,5 mm Druck . . . . 2,1 g
- Phenylalaninester . . . . . 0,45 g  
 Übrige Aminosäureester der 4. Fraktion . . . . . 1,55 g

Die Verarbeitung der einzelnen Fraktionen erfolgte in der üblichen Weise.

#### d-Alanin.

Eine wässrige Lösung dieser freien Aminosäure drehte das polarisierte Licht nach rechts. Das Kupfersalz ergab folgenden Analysenwert und betrug 0,2368 g.

0,0345 g Kupfersalz: 0,0113 g CuO.

Ber. f.  $(C_3H_6NO)_2Cu$ : 26,52% Cu; gef. 26,49% Cu

#### d-Valin, d-Isoleucin und l-Leucin.

Jedes, nach der Verseifung, bis Trockne gedampfte Aminosäuregemisch der 2. und 3. Fraktion wurde einzeln mit absolutem Alkohol wiederholt gekocht und dann der im Alkohol unlösliche Teil in Kupfersalz überführt. Diese Kupfersalze wurden jedes für sich mit Methylalkohol erschöpfend extrahiert. Die vereinigten methylalkoholischen Auszüge wurden verdampft. Der Verdampfungsrückstand betrug 0,842 g, die aus Valin- und Isoleucinkupfer bestehen mußten. Aus in Methylalkohol unlöslichen Teilen wurden Alanin- und Leucinkupfer (0,09 g) durch fraktionierte Krystallisation getrennt.

l-Leucin: Eine salzsaure Lösung dieser Aminosäure war rechtsdrehend.

0,0178 g Substanzen gaben 0,0044 g CuO.

Ber. f.  $(C_6H_{12}NO)_2Cu$ : 19,63% Cu; gef. 19,58% Cu.

Die in Methylalkohol löslichen Kupfersalze wurden von Methylalkohol befreit, in Wasser gelöst und durch  $H_2S$  zerlegt. Die freie Aminosäurelösung<sup>1)</sup> wurde mit überschüssigem 2proz. Barytwasser im Autoklaven auf eine Temperatur bis 180° genügend lang (20 Stunden) erhitzt und d-Valin vollständig in d, l-Valin racemisiert. Die so racemisierte Flüssigkeit wurde durch  $H_2SO_4$  von Baryt befreit, wieder in Kupfersalz überführt, trocken gedampft und mit heißem 96proz. Alkohol erschöpfend extrahiert. Die Alkoholauszüge wurden von Alkohol befreit und aus heißem Spiritus umkrystallisiert. Das Isoleucin wog 0,0928 g. Die wässrige Lösung dieser freien Aminosäure drehte das polarisierte Licht nach rechts.

0,0472 g gaben 0,011 g CuO.

Ber. f.  $(C_6H_{12}NO)_2Cu$ : 19,64% Cu; gef. 19,49% Cu.

Die in absolutem Alkohol unlöslichen Teile wurden aus heißem Alkohol umkrystallisiert. Die Valinkupfermenge betrug 0,1282 g. Die wässrige Lösung der freien Aminosäure drehte das polarisierte Licht nicht.

0,068 g Substanzen ergaben 0,0179 g CuO.

Ber. f.  $(C_6H_{10}NO)_2Cu$ : 21,49% Cu; gef. 21,03% Cu.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 8, 423.

**l-Prolin.**

Die nach Verseifung der 1., 2. und 3. Esterfraktionen gewonnene in absolutem Alkohol lösliche Aminosäure wurde in Kupfersalz verwandelt, das 0,1239 g wog. Die Kupfersalze wurden nunmehr mit absolutem Alkohol ausgekocht und von Ungelöstem abfiltriert. Die wässrige Lösung der freien Aminosäure, dessen Kupfersalz sich in Alkohol löste, drehte das polarisierte Licht nach links.

0,0388 g Substanzen ergaben 0,1047 g CuO.

Ber. f.  $(C_5H_9NO)_2Cu$ : 21,79% Cu; gef. 21,60% Cu.

**d, l-Prolin.**

Das in Alkohol unlösliche Kupfersalz wurde aus Wasser umkristallisiert und belief sich auf 0,1294 g.

0,0484 g Substanzen ergaben 0,0131 g CuO.

Ber. f.  $(C_5H_9NO)_2Cu$ : 21,79% Cu; gef. 21,69% Cu.

Die Bearbeitung der 4. Fraktion erfolgte in der üblichen Weise.

**l-Phenylalanin.**

Das Phenylalanin wurde nach der Verseifung des Esters mit Salzsäure als Chlorhydrat isoliert. Die in Vakuum über Natriumhydroxyd getrocknete Substanz ergab den folgenden Stickstoffwert und betrug 0,0278 g.

0,0266 g Substanz verbrauchten 1,32 ccm  $n_{10}H_2SO_4$ .

Ber. f.  $(C_9H_{11}NO_2HCl)$ : 6,95% N; gef. 6,54% N.

Die wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links.

Die vom Phenylalaninester abgetrennten Ester der übrigen Aminosäuren wurden mit Baryt verseift. Aus der verseiften Lösung krystallisierte asparaginsäures Baryum aus, das aber leider zur Analyse nicht ausreichte.

**d-Glutaminsäure.**

Aus der Mutterlauge des asparaginsäuren Baryums wurde diese Säure als Chlorhydrat gewonnen, dafür wurde sie durch  $H_2SO_4$  von Baryt quantitativ befreit und in der üblichen Weise in Chlorhydrat übergeführt, welches 0,0958 g wog.

0,0352 g Substanz verbrauchten 2,13 ccm  $n_{10}H_2SO_4$ .

Ber. f.  $C_5H_9O_4NHCl$ : 7,64% N; gef. 7,58% N.

Die Mutterlauge des Glutaminsäurechlorhydrats wurde im Vakuum völlig trocken gedampft. Der Rückstand wurde wiederholt in Wasser aufgenommen und wieder eingedampft um möglichst viel Salzsäure zu entfernen. Dann wurde der Rückstand in Wasser gelöst, diese Lösung so lange mit gelbem Bleioxyd gekocht, bis das Filtrat der Bleichloridniederschläge keine Chlorreaktion gab, filtriert und das Filtrat mit  $H_2S$  von gelöstem Blei befreit. Durch Einengen des von Bleisulfid befreiten Filtrates schieden sich die Krystalle nicht mehr aus.

Die das Serin enthaltende Lösung wurde in bekannter Weise<sup>1)</sup> in  $\beta$ -Naphthalinsulfoserin übergeführt. Die erhaltenen Krystalle wurden aus Wasser umkrystallisiert und aus heißem Alkohol in Nadeln krystallisiert. Die Ausbeute: 0,468 g.

0,1633 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl verascht, 4,95 ccm  $\frac{n}{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ber. f. C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>NS: 4,74% N; gef. 4,25% N.

Daher wurde die Identität der hier gewonnenen  $\beta$ -Naphthalinsulfoserinverbindung mit dem  $\beta$ -Naphthalinsulfoserin erwiesen.

Die Gesamtmenge der isolierten Aminosäuren usw. aus 35 kg Ochsengehirn ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Glykokoll . . . . .	0,00 g	Arginin . . . . .	0,21 g
Alanin . . . . .	0,24 g	Lysin . . . . .	0,70 g
Valin . . . . .	0,13 g	Adenin . . . . .	2,42 g
Leucin . . . . .	0,09 g	Guanin . . . . .	0,42 g
Isoleucin . . . . .	0,09 g	Xanthin . . . . .	1,33 g
Prolin . . . . .	0,25 g	Hypoxanthin . . . . .	0,18 g
Phenylalanin . . . . .	0,03 g	Kreatinin . . . . .	0,22 g
Glutaminsäure . . . . .	0,10 g	Cytosin . . . . .	0,03 g
Asparaginsäure . . . . .	vorhanden	Thymin-Uracil . . . . .	1,26 g
Tyrosin . . . . .	0,18 g	Cholin . . . . .	0,57 g
Histidin . . . . .	0,19 g	Serin . . . . .	0,47 g

#### Zusammenfassung.

In dem Extrakte des Ochsenhirns habe ich die aus der Tabelle ersichtlichen Bestandteile nachgewiesen. Außer den N-haltigen Stoffen habe ich beträchtliche Mengen von d-Milchsäure, Bernsteinsäure und Inosit festgestellt.

Zum Schluß halte ich es für eine angenehme Pflicht, dem Herrn Rektor T. A r a k i und Herrn Prof. Dr. K. M a y e d a meinen herzlichen Dank für ihre überaus freundliche Hilfe auszusprechen.

<sup>1)</sup> B. 35, 3880.

## Verhalten des Phrenosins im Tierkörper.

Von

Tomihide Shimizu.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Universität Kioto.)

(Eingegangen am 27. Februar 1921.)

Das Verhalten des in den Organismus eingeführten Phrenosins<sup>1)</sup> ist noch nicht untersucht, obwohl es nach verschiedenen Richtungen hin Interesse verdient namentlich von dem Gesichtspunkt aus, daß sich verschiedene Tierklassen in bezug auf das Phrenosin sehr verschieden zu verhalten scheinen.

Thudichum<sup>2)</sup> entdeckte das Sphingosin bei der Hydrolyse von Phrenosin. Bei der Aufspaltung gab es Sphingosin, Galaktose und eine Neurostearinsäure.

Um die Vorgänge im tierischen Organismus zu erkennen, genügt es nicht, die Anfangs- und Endglieder der Stoffwechselprodukte und ihre gegenseitigen Beziehungen unter wechselnden Verhältnissen kennen zu lernen, sondern man muß auch die allmählichen Veränderungen der Substanz verfolgen und die Zwischenglieder bestimmen. Von diesem Gesichtspunkte aus ist es nicht unangebracht, zu untersuchen, wie sich das Phrenosin im Tierkörper verhält; ob diese Stoffe den Körper in derselben Menge verlassen, oder ob sie zum Teile in andere übergehen, darüber bekam ich in weiterer Verfolgung der Vorgänge nicht nur über das Verhältnis von Phrenosin zum Sphingosin, sondern auch über das Verhalten dieser 2 Stoffe im Tierkörper Aufschlüsse.

---

<sup>1)</sup> Thudichum, Konstitution des Gehirns, S. 75 und 181.

<sup>2)</sup> Thudichum, Konstitution des Gehirns, S. 187.



## Experimenteller Teil.

### A. Verhalten des Phrenosins im Tierkörper.

Ich fütterte einen Hund mit je 3 g Phrenosin 5 Tage lang, sammelte den Harn und untersuchte die Ausscheidungsprodukte in demselben. Der Harn reagierte sauer, die Reaktion von Hopkins war stark positiv, während die Uffelmannsche Reaktion negativ ausfiel. Im Harn war Zucker nicht nachweisbar.

Der gesammelte Harn wurde im Vakuum eingeeengt, zur Entfernung von Salzen mit dem doppelten Volumen 95proz. Alkohols versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde wieder im Vakuum eingeeengt und zwar bis zur Trockenheit, und der Rückstand mit kaltem absolutem Alkohol erschöpfend extrahiert. Aus der alkoholischen Lösung wurde durch verdünnte Schwefelsäure ein flockiger Niederschlag ausgefällt und filtriert.

Der Niederschlag wurde aus heißem Alkohol wiederholt umkrystallisiert. Ich erhielt ein weißes Pulver, das aus mikroskopischen zu Rosetten vereinigten Nadeln bestand, und in kaltem Alkohol schwer, in Äther und Wasser unlöslich, in kaltem Chloroform schwer, in heißem leicht löslich und auch in schwefelsäurehaltigem Wasser löslich war.

0,1375 g Substanz ergaben 0,3356 g  $\text{CO}_2$  und 0,134 g  $\text{HO}_2$ .

Ber. f. C = 61,08%, H = 10,78%; gef. C = 61,05%, H = 10,89%.

0,1405 g Substanz verbrauchten 4,16 ccm  $\frac{n}{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$ .

Ber. f.  $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{O}_2\text{N})_2\text{H}_2\text{SO}_4$ : 4,19% N; gef. 4,15% N.

Die schwefelsäurehaltige wässrige Lösung drehte polarisiertes Licht nach links.

Nach der oben erwähnten Analyse entspricht das aus dem Harn isolierte weiße Pulver der Formel  $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{O}_2\text{N})_2\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Somit ergibt sich, daß das Phrenosin im Körper des Hundes gespalten und zum Teil mit dem Harn ausgeschieden wird. Aus dem von Sphingosin befreiten Filtrate konnte ich nichts neues isolieren.

### B. Das Verhalten des Sphingosinsulfates im Tierkörper.

Wie sich das Sphingosinsulfat im Tierkörper verhält, ist noch nicht bekannt. Ich habe daher Sphingosinsulfat in ca. 20proz. Lösung, in verdünnter Schwefelsäure gelöst, in den Körper des Hundes und Kaninchens per os oder subcutan eingeführt, und den Harn mit der im vorigen Abschnitt beschriebenen Methode untersucht.

Aus dem Urin konnte ich ein aus heißem Alkohol umkrystallisierbares weißes schwefelsaures Salz isolieren, das in mikroskopischen Nadeln krystallisierte, und in kaltem Alkohol schwer, in Äther und Wasser unlöslich war.

0,145 g Substanz ergaben 0,3339 g  $\text{CO}_2$  und 0,1413 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Ber. f. C = 61,08%, H = 10,78%; gef. C = 60,96%, H = 10,83%

0,150 g Substanz verbrauchten 4,4 ccm  $\frac{n}{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$ .

Ber. f.  $(\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{O}_2\text{N})_2\text{H}_2\text{SO}_4$ : 4,19% N; gef. 4,15% N.

Ihre schwefelsäurehaltige wässrige Lösung drehte das polarisierte Licht nach links.

**Zusammenfassung.**

Bei der Fütterung mit Phrenosins tritt Sphingosin im Harn des Hundes auf, und nach der Fütterung oder Injektion von Sphingosin bei einem Hunde oder Kaninchen mit Sphingosin wird dieses durch den Harn ausgeschieden.

Nach Thudichum wirkt das Sphingosin auf nervöse Erkrankungen ein, aber bei meinen Versuchen beobachtete ich nichts besonderes im Zustand des Hundes und des Kaninchens, während der Fütterung oder der Injektion des Sphingosins haben die Tiere sehr gut gefressen.

# Verhalten des Pyrrols im Tierkörper.

## I. Mitteilung.

Von

**Tomihide Shimizu.**

(Aus dem Medizinisch-chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Universität Kioto.)

(Eingegangen am 27. Februar 1921.)

Auf die Verwandtschaft, die zwischen Pyrrol und Indol besteht, ist schon von verschiedenen Seiten<sup>1)</sup> hingewiesen worden. G. Ciamician<sup>2)</sup> versuchte, die Indole in Chinolinderivate zu verwandeln, die eine Überführung des Pyrrols in  $\alpha$ -Chlorpydrin und in  $\beta$ -Brompyridin gestatten. Der Pyrrolkern behält auch in den Indolen seine wichtigsten Eigenschaften bei. G. Ciamician konnte aus dem Methylketol und Skatol Chinolinabkömmlinge erhalten.

Die Verwandlung der Indole in Chinolinabkömmlinge ist längst von E. Fischer<sup>3)</sup> und A. Steche in anderer Weise ausgeführt worden und scheint somit eine ziemlich häufig eintretende Reaktion zu sein.

Der Übergang des Tryptophans in Chinolinderivat scheint sich auch ohne Mitwirkung des Tierkörpers leicht zu vollziehen. Der Tierversuch<sup>4)</sup> hat gezeigt, wie verfüttertes Tryptophan im Organismus des Hundes in Kynurensäure übergeht. Die Umwandlung des Pyrrolkernes in Pyridinderivate<sup>5)</sup> war bekanntlich zum erstenmale bei der Behandlung des Pyrrolkaliums oder des Pyrrols in Gegenwart von Natriumäthylat mit Chloroform oder Bromoform beobachtet worden. Weiter war schon festgestellt, daß in ähnlicher Weise auch Tetrachlorkohlenstoff, Benzalchlorid und Methyljodid einwirken<sup>6)</sup> und daß auch ferner Methylpyrrol<sup>7)</sup> beim Er-

1) G. Magnanin, B. 20, 2608. 1887.

2) E. Fischer, B. 19, 2988. — G. Ciamician, B. 20, 818.

3) B. 12, 2199. — B. 20, 818.

4) Alexander und Ellinger, B. 37, 1801. 1904.

5) G. Ciamician, B. 37, 4231. 1904; G. Ciamician und Dehnstedt, B. 14, 1153. 1881.

6) Dehnstedt und Zimmermann, B. 18, 3316. 1885.; B. 19, 2198. 1886.

7) Amé Pictet, B. 38, 1946. 1905; B. 37, 3963. 1904.

hitzen mit Salzsäure im Rohr oder beim Leiten durch ein glühendes Rohr sich in Pyridin verwandeln kann.

Diese sehr interessanten Resultate zeigen, daß die Pyridinbildung aus dem Methylpyrrol durch Verlust von zwei Atomen Wasserstoff und Eintritt des Methylkohlenstoffs in den Ring vor sich geht.

Um den Eintritt einer solchen Reaktion im Tierorganismus zu prüfen, habe ich eine Anzahl von anderen Körpern, die das Pyrrol als methylierten oder benzylierten Pyrrolkern enthalten, dem Tierversuche unterworfen.

P. Sacchardi hat das Pyrrol in Suspension in Wasser Kaninchen injiziert und Melanin im Harn des Kaninchens konstatiert. Nach R. Kobert findet es sich im Harn rein oder mit Schwefelsäure gepaart wieder.

### Experimenteller Teil.

Ich habe das Pyrrol in Suspension in Wasser je 0,6 g einem Hund von 11 kg Körpergewicht während 6 Tagen injiziert<sup>1)</sup> und einem Kaninchen von 3,5 kg Körpergewicht je 0,3 g während 7 Tagen beigebracht. Der Harn des Hundes reagierte sauer, der des Kaninchens alkalisch, und es traten in beiden Harnen kein Blut, kein Eiweiß und keine Gallenfarbstoffe im Harn auf, dafür zeigte er aber eine schwach positive Pyrrolreaktion.

Der Harn<sup>2)</sup> wurde mit neutralem, essigsaurem Blei im Überschuß versetzt und filtriert. Der mit Bleizucker ausgefällte Harn wurde durch Schwefelsäure vom Blei befreit und nach Abfiltrieren von schwefelsaurem Blei mit Kaliumquecksilberjodidlösung versetzt. Dabei fiel ein dickflockiger Niederschlag aus.

Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag auf dem einem Filter gesammelt, sorgfältig mit Wasser gewaschen und unter Zusatz von  $H_2SO_4$  durch Silberoxyd zersetzt und filtriert. Zur Entfernung des Silbersulfats und der überschüssigen Schwefelsäure wurde das von Jodsilbers abgetrennte Filtrat durch Barytwasser niedergeschlagen, filtriert, der überschüssige Baryt durch Einleiten von  $CO_2$  und Erwärmen entfernt und die wässrige Lösung mit Salzsäure genau neutralisiert. Nach Eindampfen, mehrmaligem Ausziehen mit Alkohol und erneutem Eindampfen hinterblieb ein sirupöser, bräunlich gefärbter Rückstand. Aus der alkoholischen Lösung dieses Rückstandes wurde durch Platinchloride ein brauner dichter Niederschlag ausgefällt, der in heißem Wasser leicht löslich war und nach dem Einengen der Lösung gut auskrystallisierte.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren erhielt ich eine Platinverbindung in Form von gelben monoklinen Tafeln, die bei  $195^\circ C$  (unkorr.) schmolzen und bei der Analyse den Wert lieferten, der mit Methylpyridinplatinchlorid übereinstimmte.

<sup>1)</sup> Kunkel, Handbuch der Toxikologie, S. 639.

<sup>2)</sup> W. His, Arch. f. experim. Pathol. u. Therap. **22**, 253.

0,1877 g Substanz ergaben 0,0609 Pt.

Ber. f.  $(C_4H_5NCl)_2PtCl_4$ : 32,78% Pt; gef. 32,48% Pt.

0,3941 g Substanz ergaben 0,1282 g Pt.

Ber. f.  $(C_4H_5NCl)_2PtCl_4$ : 32,78% Pt; gef. 32,53% Pt.

#### Zusammenfassung.

Im Gegensatz zum Befund von R. Kobert, demzufolge das Pyrrol im Harn rein oder mit Schwefelsäure gepaart vorkommt, habe ich mit Sicherheit nach Injektion des Pyrrols beim Hunde und Kaninchen im Harn Methylpyridin nachgewiesen.

Über das Verhalten des methylierten Pyrrols und benzylierten Pyrrols im Tierorganismus gedenke ich später zu berichten.

Dem Herrn Prof. Dr. K. Maeda spreche ich für seine freundlichst erteilten Ratschläge bei der Ausführung meiner Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

**Vom Wesen der Buttersäure- und Butylalkoholgärung.  
Abfangung von Acetaldehyd als Umsetzungsprodukt. Übergang  
von Brenztraubensäure-aldol in Buttersäure. Entstehung höherer  
Fettsäuren aus Zucker.**

Von

**Carl Neuberg und Bernhard Arinstein.**

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie zu Berlin-Dahlem.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die neuen Methoden zur Erforschung der Zuckerzerlegung, die bei Hefen und anderen Organismen erprobt worden sind, haben sich mit Erfolg auch auf das Problem der Buttersäuregärung anwenden lassen, wie wir im folgenden zeigen wollen.

Wir unterscheiden drei Formen des natürlichen Vorkommens von Buttersäure: ihr Auftreten bei dem Zerfall von Fetten, ihre Erzeugung durch bakterielle Zersetzung von Eiweißverbindungen und zu dritt ihre biochemische Bildung aus Kohlenhydraten nebst verwandten Körpern. Bisher vermißt man eine genaue Durchführung dieser Dreiteilung in lipogene, proteinogene und saccharogene Abstammung. Zahlreiche Angaben sind infolgedessen mit Unsicherheit betreffs der Herkunft der Buttersäure behaftet.

Die Abspaltung der Buttersäure aus Fettstoffen ist ohne weiteres verständlich, da sie in den betreffenden Lipoiden als solche präformiert zugegen ist, wie man seit Chevreuls grundlegenden Arbeiten weiß. Das Hervorgehen von Buttersäure aus Proteinen ist durch die Untersuchungen von C. Neuberg in Gemeinschaft mit E. Rosenberg und W. Brasch vor 14 Jahren aufgeklärt worden<sup>1)</sup>; hier fanden die Autoren in der Glutamin-

---

<sup>1)</sup> C. Neuberg, Sitzungsbericht d. Preuß. Akad. d. Wissensch. vom 26. V. 1907; C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 183. 1907; W. Brasch und C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 299. 1908.

säure, die sich in erheblichem Umfange am Aufbau der meisten Eiweißkörper beteiligt, eine wesentlich in Betracht kommende Muttersubstanz, indem sie zeigten, daß die  $\alpha$ -Aminoglutarsäure unter gleichzeitiger Desaminierung und Kohlensäureablösung gemäß der Formulierung  $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \text{NH}_2 \cdot \text{COOH} \rightarrow \text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_3$  oder  $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHNH}_2 \cdot \text{COOH} \rightarrow \text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$  in Buttersäure umgewandelt wird. Nach späteren Feststellungen<sup>1)</sup> verhalten sich aktive und raze-mische Glutaminsäure dabei gleich. Die dritte Form der Buttersäureproduktion, die saccharogene, ist in ihrem Wesen bis jetzt wenig durchsichtig. Gerade sie aber beansprucht unser größtes Interesse; denn im Gegensatz zur proteino-genen Entstehung, die unter Kohlenstoffkettenverkürzung erfolgt, liegt in der Buttersäurebildung aus kohlenhydratähnlichen Stoffen ein kernsynthetischer Prozeß vor. Schon A. Fitz<sup>2)</sup>, der die Buttersäuregärung der Kohlenhydrate einer eingehenderen Prüfung unterzog, hat mitgeteilt, daß auch Glycerin und Milchsäure, also Körper der 3-Kohlenstoffreihe, eine Quelle der Buttersäure bzw. ihres zugehörigen Alkohols, des Butylalkohols, darstellen können.

Angaben über Vergärung von Glycerin und Laktaten zu 4-Kohlenstoffkörpern sind mehrfach gemacht worden<sup>3)</sup>. Allerdings beziehen sich die Ergebnisse von A. Fitz<sup>4)</sup> selbst, ferner die von F. Hüppe<sup>5)</sup>, A. Baginsky<sup>6)</sup> sowie R. Kerry und S. Fränkel<sup>7)</sup> auf die Vergärung von Nährlösungen, die milchsauren Kalk in komplizierten Gemischen enthielten und zum Teil auf pathogene Erreger. Die Daten sind, zumal öfter nur geringe Mengen Buttersäure auftraten, auch nicht immer hinreichend beweiskräftig. L. Pasteur<sup>8)</sup> arbeitete mit Bakteriengemengen, während bereits M. W. Beijerinck<sup>9)</sup> und E. Duclaux<sup>3)</sup>, die eine Ca-Laktatumwandlung durch Reinkulturen erzielten, den baldigen Verlust dieser Eigen-

<sup>1)</sup> C. Neuberg, diese Zeitschr. 18, 431. 1908; vgl. auch J. Effront, Chem. Centralblatt 1909. I. 929.

<sup>2)</sup> A. Fitz, B. 9, 1348. 1876; 11, 42. 1878; 13, 1309. 1880.

<sup>3)</sup> A. Vigna, B. 16, 1438. 1883; M. L. Grimbert, Ann. de l'inst. Pasteur 7, 353. 1893; E. Duclaux, Ann. de l'inst. Pasteur 9, 811. 1895.

<sup>4)</sup> A. Fitz, B. 13, 1309. 1880.

<sup>5)</sup> F. Hüppe, Mitteilungen aus dem Reichsgesundheitsamt 2, 353. 1884.

<sup>6)</sup> A. Baginsky, H. 12, 434. 1888.

<sup>7)</sup> R. Kerry und S. Fränkel, Monatshefte f. Chemie 12, 350. 1891.

<sup>8)</sup> L. Pasteur, Jahresber. Fortschritte d. Chemie 1862, 477.

<sup>9)</sup> M. W. Beijerinck, Über die Butylalkoholgärung. Amsterdam 1893.

schaft bei Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden erwähnt haben. Neuerdings hat G. Bredemann<sup>1)</sup> in einer umfangreichen Studie dargestellt, daß bei Verwendung rein fortgeplanter Stämme der Gattung *Amylobacter* — und zu ihr gehören nach seinen Ausführungen die ihm zugänglich gewesenen harmlosen Buttersäurebildner — die Vergärung milchsaurer Salze nicht beliebig reproduzierbar ist, auch mit Rohkulturen und frischen Reinzüchtungen selten gelingt und daß bei Reinkulturen das dargebotene Material nur in geringfügigem Grade zum Umsatz gelangt. Die Gärung von Calciumlactat soll weitgehend von noch nicht erforschten Bedingungen der Symbiose und des Nährmediums abhängen. Die Vergärung von Glycerin<sup>2)</sup> ist bisher nie quantitativ zu Ende geführt worden, und auch die Kleinlebewesen, die als typische Glycerinverzehrer herangezüchtet werden, büßen vielfach bei längerer Kultivierung auf künstlichen Nährsubstraten diese Fähigkeit ein, wie auch wir an den von uns benutzten Stämmen haben beobachten können. Erhalten bleibt allen diesen Mikroorganismen jedoch das Vermögen, echte Kohlenhydrate anzugreifen.

Auf Grund des seiner Zeit vorliegenden Materials hat Fitz immerhin als erster versucht, sich eine Vorstellung von dem Mechanismus des beobachteten Vorganges zu machen; er wies nämlich darauf hin, daß Milchsäure bei verschiedenen Reaktionen Acetaldehyd liefern und sich dieser zu Aldol kondensieren könne, das wie die Buttersäure 4 Kohlenstoffatome in gradliniger Kette enthält. Acetaldehyd oder Aldol freilich hat Fitz niemals, so wenig wie die nachstehend erwähnten Forscher, bei der Buttersäuregärung nachgewiesen und auch gar keine experimentelle Begründung seiner ganz beiläufigen Äußerung versucht; jedoch ist er mithin der Vater jener öfter herangezogenen, aber auch wiederholt bekämpften Theorie der Buttersäuregärung geworden.

M. Nencki<sup>3)</sup>, K. Spiro<sup>4)</sup>, L. Hugounenq<sup>5)</sup>, A. Magnus-Levy<sup>6)</sup>, C. Neuberg und F. Blumenthal<sup>7)</sup>, H. St. Raper<sup>8)</sup> sowie E. Buchner

<sup>1)</sup> G. Bredemann, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 2. Abt., **23**, 385. 1909; Ch. C. **1909**, II. 1147.

<sup>2)</sup> G. Bredemann, l. c. 470.

<sup>3)</sup> M. Nencki, Journ. f. prakt. Chemie **17**, 105. 1878.

<sup>4)</sup> K. Spiro, zit. bei Magnus-Levy.

<sup>5)</sup> L. Hugounenq, Rev. de méd. **8**, 301. 1887.

<sup>6)</sup> Ad. Magnus-Levy, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **42**, 140. 1899; Verhandl. der Berl. Physiol. Gesellsch. 1902.

<sup>7)</sup> C. Neuberg und F. Blumenthal, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **2**, 241. 1902.

<sup>8)</sup> H. St. Raper, Journ. Chem. Soc. **91**, 1831. 1907; s. a. J. Smedley, Ch. C. **1911**, II. 1516; H. Hammarsten, Ann. **421**, 313. 1920.



und J. Meisenheimer<sup>1)</sup> haben dieser Hypothese voneinander ein wenig abweichende, im Grunde aber übereinstimmende Fassungen gegeben; die letzte beachtenswerte Variante rührt von J. Smedley und E. Lubrzynska<sup>2)</sup> her; sie nahmen, nachdem die bedeutsame Rolle der Brenztraubensäure in der Natur bekannt geworden war, — allerdings ohne durch biologische Experimente beigebrachte Stützen für ihre Meinung — an, daß der Acetaldehyd sich nicht mit sich selber, sondern mit Brenztraubensäure etwa zur ungesättigten Säure  $\text{CH}_2 \cdot \text{CH} : \text{CH} \cdot \text{CO} \cdot \text{COOH}$  kondensiere, die dann entweder durch carboxylatische Spaltung Crotonaldehyd oder durch Oxydation Crotonsäure liefere usw.

Andere Autoren dagegen, wie F. Hoppe-Seyler<sup>3)</sup>, Th. Curtius und H. Franzen<sup>4)</sup>, haben jene Hypothese abgelehnt.

In der Tat fehlte es bis vor kurzem an jeder tatsächlichen Grundlage für diese Theorie, die letzten Endes immer auf eine Acetaldehyd- oder Crotonaldehyd-Condensation herausläuft und durch mehrfache Wiederholung dieser Reaktion auch die natürliche Bildung höherer Fettsäuren erklären will. Aber man hat auf physiologischem Wege weder aus Acetaldehyd noch aus Acetaldehyd oder dergleichen jemals Buttersäure und Butylalkohol erhalten, auch sind die betreffenden Stoffe, wie schon bemerkt ist, nicht als Zwischenstufen der Butylgärung<sup>5)</sup> festgestellt gewesen.

Erst die Untersuchungen von C. Neuberg und F. F. Nord<sup>6)</sup> haben dargetan, daß bei bakteriellen Abbauprozessen in der Zuckerreihe, genau wie bei der alkoholischen Zuckerspaltung durch Hefen, Acetaldehyd nachgewiesen werden kann. Mit Hilfe eines sogenannten „Abfangverfahrens“, das in der Festlegung intermediär auftretenden Acetaldehyds durch Bindung an gleichzeitig zugefügte sekundäre schweflige Säure Salze besteht<sup>7)</sup>, gelang es den Genannten, beträchtliche Mengen

<sup>1)</sup> E. Buchner und J. Meisenheimer, B. 41, 1410. 1908.

<sup>2)</sup> J. Smedley und E. Lubrzynska, Biochemical Journ. 7, 372. 1913; vergl. hierzu analoge Annahmen und Beobachten von B. Homolka, B. 18, 987, 1885; 19, 1089. 1886 sowie E. Erlenmeyer, B. 32, 1453. 1899.

<sup>3)</sup> F. Hoppe-Seyler, H. 3, 357. 1879.

<sup>4)</sup> Th. Curtius und H. Franzen, Ann. 390, 114. 1912.

<sup>5)</sup> Mit dem Namen „Butylgärungen“ bezeichnet man zweckmäßig die Entstehung der genetisch zusammengehörigen Körper der 4-Kohlenstoffreihe.

<sup>6)</sup> C. Neuberg und F. F. Nord, diese Zeitschr. 96, 133. 1919.

<sup>7)</sup> C. Neuberg und E. Färber, diese Zeitschr. 78, 238. 1916; C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 365 u. 92, 234. 1918.

Acetaldehyd bei der Vergärung von Zucker mit Hilfe verschiedener Bakterien anzuhäufen. Dies glückte ihnen auch bei dem Erreger des Gasbrandes, dem Fränkelschen Bacillus, der ein ausgesprochener Anaerobier ist. Dieser letzterwähnte Mikroorganismus wird in der Regel zu den Buttersäurebildnern gerechnet. Es trifft zu, daß das Fränkelsche Bakterium Buttersäure wie auch Butylalkohol erzeugen kann; diese Stoffe sind aber nicht immer die Hauptprodukte<sup>1)</sup> der herbeigeführten Zuckerspaltung, so daß der Beweis für einen Zusammenhang zwischen der wahren Butylgärung und intermediären Abbaustufen des Zuckers sich am ehesten erbringen ließ durch Untersuchungen an einem typischen Buttersäurebacterium. Wir wählten hierfür den Bacillus butylicus fitzianus, der wiederholt zur Einleitung einer reinen Buttersäuregärung gedient hat und in seinen chemischen Leistungen am besten untersucht ist. In der Tat ist es möglich, durch Vermittelung dieses Erregers Zucker in Gegenwart von Dinatriumsulfit unter Ansammlung von Acetaldehyd zu vergären. Es gelang uns, den Acetaldehyd in ansehnlicher Ausbeute zu 9,8% vom Gewichte des angewendeten Zuckers, zu isolieren und charakterisieren. Wie auch bei anderen Gärungen<sup>2)</sup> haben wir die Beobachtung gemacht, daß die Menge des Acetaldehyds trotz Gegenwart schwefligsaurer Salze beim Stehen wieder abnehmen kann. Dieses Verhalten erscheint verständlich, wenn man bedenkt, daß bei Brutschranktemperatur unter dem Einflusse des als Bodenkörper reichlich vorhandenen kohlensauren Kalks sowie des sich in der Lösung (gemäß der Umsetzung:  $\text{CH}_3 \cdot \text{CHO} + \text{Na}_2 \text{SO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3 = \text{CH}_3 \cdot \text{CH OH} \cdot \text{O} \cdot \text{SO}_2\text{Na} + \text{NaHCO}_3$ ) bildenden Natriumbicarbonats bzw. Natriumcarbonats die Dissoziation der Aldehyd-Sulfit-Verbindung merklich ist<sup>3)</sup>, also Aldehyd frei wird, der anderweitig wieder verbraucht werden kann. Weiterhin ist in Betracht zu ziehen, daß der als recht hoch anzusehende Acetaldehydertrag nach 13 Tagen zu verzeichnen war, d. h. zu einem Zeitpunkte, an welchem noch keines-

<sup>1)</sup> Vgl. A. Schattenfroh und R. Graßberger, Arch. f. Hyg. 1900—1907.

<sup>2)</sup> C. Neuberg und F. F. Nord, diese Zeitschr. 96, 166. 1919.

<sup>3)</sup> Vgl. hierzu C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 384. 1918; B. 52, 1682. 1919 sowie C. Neuberg und F. F. Nord, l. c.

wegs aller angewandter Zucker vergoren war; denn abweichend von der Hefe vermag der *Bacillus butylicus* Fitz in Anwesenheit von Sulfit das Kohlenhydrat nicht quantitativ umzusetzen, zumal er bekanntlich selbst Maischen, die keine andere Zugabe als die erforderliche von kohlen-saurem Kalk enthalten, auch erst nach mehr als 3—4 Wochen angenähert vollständig zu verarbeiten imstande ist.

In reichlicher Menge kann also Acetaldehyd bei den Umwandlungen zu Tage gefördert werden, die der erwähnte Erreger der Butylgärung auslöst; damit ist der erste experimentelle Beweis dafür erbracht, daß Acetaldehyd in Beziehungen zu den Vorgängen der wahren saccharogenen Buttersäurebildung steht.

Daß eine bestimmte Abhängigkeit von den Geschehnissen vorhanden ist, die zum Auftreten der Acetaldehyds führen, ergibt sich mit völliger Schärfe auch daraus, daß im Abfangversuche weder Buttersäure noch Butylalkohol überhaupt auftreten und daß die Umwandlungsstoffe des Zuckers, soweit sie nicht in Form gasförmiger Verbindungen vorliegen, eben aus Acetaldehyd bzw. seinen Dismutationsprodukten, Essigsäure und Äthylalkohol, bestehen<sup>1)</sup>.

Um bündigere Vorstellungen über die Art dieser Zusammenhänge zu gewinnen, lag es nahe, Acetaldehyd sowie Acetaldol mit dem Erreger in Berührung zu bringen und hinsichtlich ihrer Fähigkeit zum Übergange in Buttersäure und Butylalkohol zu prüfen. Diese Versuche haben insofern ein völlig negatives Ergebnis ge-

---

<sup>1)</sup> Das Auftreten von Essigsäure und Äthylalkohol auch bei normaler Anstellung der Buttersäuregärung in Gegenwart von Calciumcarbonat und zwar in Mengen, die selbst bei gleichem Erreger und Nährboden innerhalb weiter Grenzen schwanken, (Grimbert, Duclaux, Brede-mann, l. c.) erwähnen alle Autoren, die bisher über dieses Thema schrieben; wir haben diese Angaben bestätigt gefunden. (Bei dem den eigentlichen Buttersäurebildnern ferner stehenden Tetanusbazillus führen S. Kitasato und Th. Weyl (Zt. f. Hygiene 8, 404. 1890) von flüchtigen Säuren allein Buttersäure an.) Die vollständige Unterbindung der Produktion von 4-Kohlenstoffkörpern bei Umsetzung von Kohlenhydraten oder Glycerin durch Erreger der typischen Buttersäuregärungen war dagegen noch nie beobachtet worden.

habt, als der *Bacillus* nach Zusatz der üblichen Nährsalze, ferner auch bei Anwendung der genannten Aldehyde als Ammoniakverbindungen nicht gedieh und Acetaldehyd sowie das Acetaldol unverändert zurückließ.

Nachdem der carboxylatische Zerfall der Brenztraubensäure in  $\text{CO}_2$  und Aldehyd entdeckt worden war, wird jene Ketosäure mit guten Gründen als Vorstufe des Acetaldehyds betrachtet. Man konnte also vermuten, daß die Brenztraubensäure wie bei der alkoholischen Zuckerspaltung so auch bei der Butylgärung ein Zwischenglied darstellt und daß der Acetaldehyd, durch eine in den Bakterien enthaltene Carboxylase in Freiheit gesetzt, sich bei Vorhandensein sekundärer schwefligsaurer Salze anhäuft. Denn auch die Pyruvinatsulfite besitzen erwiesenermaßen<sup>1)</sup> eine große Tendenz zu glattem Zerfall in Kohlensäure und in den Aldehyd-Schwefligsäure-Komplex. Es ist aber damit zu rechnen, daß normalerweise nicht der ganze Abbauprozess über die Stufe fertigen Acetaldehyds führt<sup>2)</sup>, sondern daß die erforderliche Kondensation sich bereits an einem vorangehenden Gebilde abspielt, d. h. mit anderen Worten, daß nicht zwei Acetaldehydreste sich zu Aldol zusammenschließen, sondern daß die Aneinanderlagerung z. B. an der Brenztraubensäure vollzogen wird.

Das entsprechende Aldol der Brenztraubensäure ist in Form seines Anhydrids bekannt, und schon im Jahre 1913 ist auf die Möglichkeit verwiesen, daß diese Verbindung, die  $\alpha$ -Keto- $\gamma$ -valerolacton- $\gamma$ -carbonsäure, sich in bedeutendem Maße an biochemischen Umsetzungen, insbesondere auch an den Vorgängen bei der Buttersäurebildung beteiligt<sup>3)</sup>. Eine Bestätigung findet nun diese Annahme durch das Verhalten, das der Buttersäurebacillus einmal gegenüber Brenztraubensäure und ein andermal gegenüber ihrem Aldol zeigt. Der genannte Erreger wächst ohne Schwierigkeiten auf einer Lösung von brenztraubensaurem Kalk. Er nutzt das Pyruvinat durchaus als Kohlenstoffquelle aus, jedoch tritt keine Buttersäure auf; es entstehen allerhöchstens Spuren. Die Reaktion verläuft weder wie bei der

<sup>1)</sup> C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. **89**, 413. 1918; B. **52**, 1689. 1919; **53**, 1039. 1920.

<sup>2)</sup> Vielleicht nur insoweit, als Alkohol und Essigsäure entstehen.

<sup>3)</sup> C. Neuberg, in C. Oppenheimers Handb. d. Biochemie Ergänzungsband, S. 603 vom 27. II. 1913.

Brenztraubensäurespaltung mittels Hefe<sup>1)</sup> unter Freiwerden von Acetaldehyd (Neuberg und Karczag), noch wie bei der Zersetzung durch Paratyphus- oder Coli-bacillen teils gaslos, teils unter Wasserstoffentwicklung (Bouillonnährböden)<sup>2)</sup>, sondern nach Art der Beobachtungen von Neuberg und Mitarbeitern<sup>3)</sup> über das Verhalten von Brenztraubensäure (und Homologen) zu Fäulnisregern so, daß Essigsäure und Ameisensäure als Hauptprodukte gebildet werden. Es ist fraglich, ob dabei die Brenztraubensäure einfach als Acetyl-ameisensäure fungiert, oder ob sie zunächst carboxylatische Spaltung in Acetaldehyd und Kohlendioxyd erfährt, von denen ersterer oxydiert (oder dismutiert) und letzteres reduziert wird. Anders dagegen ist das Verhalten des Brenztraubensäurealdols, das wir ebenfalls in Form des Calciumsalzes anwenden. Hier wird in der Tat reichlich Buttersäure (neben nur geringen Mengen von Essigsäure) erzeugt. Somit wird man zu der Vorstellung geleitet, daß auch im Verlaufe der Buttersäuregärung der Abbau des Zuckers über die Brenztraubensäure schreitet und daß diese dann die maßgebende Kondensation erfährt; das entstandene Produkt, das ja noch zur Reihe der  $\alpha$ -Ketosäuren gehört, kann darauf unter Kohlensäureverlust und Sauerstoffwanderung zu Buttersäure werden. Der erste dieser Vorgänge, die Loslösung des Kohlendioxyd aus einer  $\alpha$ -Ketosäure, ist durch das eingehende Studium der Carboxylasewirkung geklärt. Hinsichtlich des zweiten Prozesses sind wir zur Zeit noch auf Vermutungen angewiesen. Wir können die Reaktion summarisch als eine Saccharinumlagerung auffassen, da sie analog ist den chemisch wohl erforschten Übergängen von Galactose (bzw. Lactose) in die Meta- und Para-saccharinsäuren<sup>4)</sup>:



Die einfache carboxylatische Spaltung des anhydrischen Brenztraubensäurealdols könnte natürlich  $\beta$ -Oxybutylaldehyd geben;

<sup>1)</sup> C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. **36**, 68. 1911.

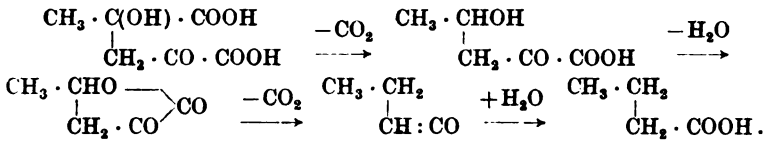
<sup>2)</sup> G. Wagner, C. f. Bact. I. Abt. **71**, 25, 1912; L. Karczag und E. Schiff, diese Zeitschr. **70**, 325, 1915; **84**, 229. 1917.

<sup>3)</sup> C. Neuberg, diese Zeitschr. **67**, 90. 1914; vgl. auch C. Neuberg und J. Jamakawa, diese Zeitschr. **67**, 123. 1914 und C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. **71**, 122. 1915.

<sup>4)</sup> Vgl. A. Windaus, Chem. Ztg. **29**, 564. 1905; H. Kiliari, B. **41**, 2650. 1908; J. U. Nef, Ann. **376**, 52 u. folg. 1910.

es wäre auch kein Widerspruch, daß der letztgenannte Körper für sich kein geeignetes Nährmedium für den *Bacillus* darstellt; denn er ist biochemisch viel differenter als das Kalksalz der zugehörigen Dicarbonsäure<sup>1)</sup>.

Vorstellbar wäre noch ein ganz anderer Weg der Brenztraubensäureumwandlung, auf den vor Jahren schon einmal der eine von uns<sup>2)</sup> aufmerksam gemacht hat. Das Brenztraubensäurealdol, das zum Übergange in Brenzweinsäure (Carboxy-buttersäure) befähigt ist, könnte auf eine analoge Weise Äthyllessigsäure liefern:



Das Problem der Buttersäuregärung hat deshalb seit langem das allgemeine Interesse der Chemiker und Biologen erregt, weil sie als ein Paradigma für einen der physiologisch bedeutsamsten Prozesse gelten kann, für den der Bildung höherer Fettsäuren aus Zucker. Das Auftreten von Ameisensäure und Essigsäure vermag in dieser Beziehung keinen Aufschluß zu verschaffen, weil die Ameisensäure selbst durch Reduktion aus Kohlensäure und die Essigsäure auf verschiedene Weise aus den Kohlenhydraten hervorgehen kann. Bei der Buttersäure liegt der Fall insofern schon anders, als bei ihrer Entstehung aus Körpern der 3-Kohlenstoffreihe, aus Glycerin und Milchsäure, augenscheinlich eine Synthese im Spiele ist. Gestützt auf die erwähnte, in ihrer ursprünglichen Form aber nicht bewiesene Aldolhypothese hatte man die Anschauung entwickelt, daß auch die mittleren und höheren Fettsäuren durch eine fortgesetzte Aldolcondensation in der Natur gebildet würden. (Siehe hierzu S. 280—281.)

Diese Ansicht geht auf den Umstand zurück, daß unter den Überbleibseln der technisch hergestellten Gärungsbuttersäure gelegentlich höhere Fettsäuren gefunden worden sind.

Sticht<sup>3)</sup> scheint die erste hierhin gehörige Beobachtung gemacht zu haben, indem er im Jahre 1868 bei der Gärung von „200 Pfund Kartoffel-

<sup>1)</sup> Es sei bei dieser Gelegenheit übrigens bemerkt, daß das Brenztraubensäurealdol, die  $\alpha$ -Keto-valerolaktone- $\gamma$ -carbonsäure, auch durch Hefe unter Kohlensäureentbindung angegriffen wird.

<sup>2)</sup> C. Neuberg, *Monogr. Jena* 1913, S. 35 u. 36.

<sup>3)</sup> Sticht, *Jahresber. d. Fortschritte d. Chemie* 1868, 522.

stärke 12 Unzen ölige Säure“ angetroffen und als Capronsäure angesprochen hat. Darauf hat Linnemann<sup>1)</sup> eine ähnliche Säure aus den Abfällen der industriellen Buttersäureerzeugung im Jahre 1871 abgetrennt, und Lieben<sup>2)</sup>, Grillone<sup>3)</sup> und Henry<sup>4)</sup> haben seine Angaben bestätigt. Dementsprechend konnte F. Hoppe-Seyler (l. c.) auf die synthetische Bildung höherer Fettsäuren und Alkohole durch mehrere Jahre andauernde bakterielle Gärungen hinweisen. Béchamp<sup>5)</sup> zählte Capron- und auch Caprinsäure auf, Raper<sup>6)</sup> auch Caprylsäure. Abweichend von den meisten früheren Autoren, die nur den Säuren mit einer geraden Anzahl von Kohlenstoffatomen begegneten, führte im Jahre 1902 R. Locquin<sup>7)</sup> noch Valeriansäure an, nachdem übrigens bereits Béchamp die Anwesenheit des Angehörigen der 3-Kohlenstoffreihe, der Propionsäure, behauptet hatte, eine Angabe, die mit den ausdrücklichen gegenteiligen Befunden von Buchner und Meisenheimer (l. c.) in Widerspruch steht, jedoch mit Fitz<sup>8)</sup>, Beijerincks<sup>9)</sup> sowie R. Kerry und S. Fränkels (l. c.)-nebst Graßberger und Schattenfrohs Beobachtungen der Produktion von Propylalkohol u. Propionsäure<sup>10)</sup> durch Granulobakter butylic. bzw. den Bacillus des malignen Ödems übereinstimmen würde. Ferner ist zu erwähnen, daß O. Emmerling<sup>11)</sup> bei seinen Untersuchungen mit dem Bacillus butylicus Fitz neben Butylderivaten einen hochmolekularen Körper von Säurecharakter auftrat, den er als Palmitinsäure betrachtete; auch Bredemann (l. c.) stieß auf eine fettige Substanz.

Es darf freilich nicht außer acht bleiben, daß eine Reihe der älteren Angaben über die Bildung kohlenstoffreicherer Fettsäuren sich auf die gewerbliche Gewinnungsweise bezieht, bei der sowohl Mischkulturen als verhältnismäßig reichliche Mengen von rohen Eiweißkörpern, z. T. wohl auch von Fetten in den Maischen vorhanden gewesen sind, bei denen also mit anderen Worten der strikte Beweis der Herkunft aus dem Zucker- oder Glycerinmolekül fehlt und proteinogene wie lipogene Abstammungen mit in Betracht kommen können.

1) E. Linnemann, Ann. **160**, 224. 1871.

2) A. Lieben, Ann. **170**, 89. 1873.

3) G. B. Grillone, Ann. **165**, 127. 1873.

4) L. Henry, Ch. C. **1905**, II. 214.

5) Béchamp, Chem-Ztg. **18**, 970. 1894.

6) H. S. Raper, zit. nach Maly, **37**, 891. 1907.

7) R. Locquin, Chem-Ztg. **26**, 756. 1902.

8) A. Fitz, Ber. **13**, 36. 1880.

9) M. W. Beijerinck, frdl. Privatmitt. d. Autors u. zit. bei O. Emmerling.

10) R. Graßberger u. A. Schattenfroh, Ch. C. **1903**, II. 843.

11) O. Emmerling, B. **30**, 453. 1897.

Bei dieser Sachlage schien uns eine Prüfung der Frage unerlässlich, ob bei der Vergärung von Kohlenhydraten in sonst vollkommen mineralischer Lösung und mit Reinkulturen höher molekulare Fettsäuren entstehen.

Zu diesem Behufe haben wir entsprechende große Gäransätze angestellt. Es gelang uns, bei der Vergärung von 3990 g Traubenzucker in 2—3proz. Lösung mit einer Reinzucht des *Bacillus butylicus* Fitz tatsächlich das Auftreten der Capronsäure sowie höherer Fettsäuren von den Eigenschaften der Capryl- und Caprinsäuren festzustellen. Die kohlenstoffreichen, sicherlich vom Zucker abstammenden Fettsäuren wurden in einer Gesamtmenge von 34,9 g isoliert; doch ist die wahre Ausbeute daran wegen des unvollkommenen Abscheidungsverfahrens höher zu veranschlagen (siehe den experimentellen Teil). Das Hauptprodukt der Gärung war hier, wie bei den Versuchen im kleinen, Buttersäure, die außerdem von nicht zu vernachlässigenden Mengen Butylalkohol, Weingeist sowie Essig- und Milchsäure stets begleitet wurde.

Die neuerdings, nach Abschluß unserer Arbeit auftauchende Angabe<sup>1)</sup>, daß bei Ausführung einer Butylgärung<sup>2)</sup> ohne kohlen-sauren Kalk Aceton neben den Butylderivaten auftritt, und zwar schon nach 24—30 Stunden, haben wir nicht eingehend nachprüfen können. In den wenigen darauf gerichteten Ergänzungsversuchen ist es uns nicht gelungen, unseren Erreger, der ja zu den säureempfindlichen Organismen gezählt wird, in einem calciumcarbonatfreien Nährmedium zu einem nennenswerten Verbrauch des Zuckers zu veranlassen. Das Wachstum war spärlich und der Umsatz schritt nur äußerst langsam fort. Keine der scharfen qualitativen Proben auf Aceton war im destillierten Gärgut zu erzielen. Es würde übrigens die Entstehung des Acetons neben der Buttersäure und dem Butylalkohol durchaus mit den entwickelten Anschauungen in Einklang zu bringen sein, indem der Weg nach diesbezüglichen Darstellungen von Neuberg und Blumenthal vom Jahre 1902 sowie ebensolchen späteren Neubergs<sup>3)</sup> auf die jüngst Peterson und Fred<sup>4)</sup> verweisen,

<sup>1)</sup> H. B. Speakman, Chem. Centralblatt 1919, IV. 737; J. Reilly und W. J. Hickinbottom, Chem. Centralblatt 1920, I. 112; vgl. hierzu die Bildung von Phoron bei Spaltpilzgärung des Glycerins, K. E. Schulze, B. 15, 64. 1882.

<sup>2)</sup> Die Natur des Erregers ist aus den Referaten nicht ersichtlich.

<sup>3)</sup> C. Neuberg und F. Blumenthal, B. ch. Phys. und Path. 2, 237. 1902; C. Neuberg, diese Zeitschr. 43, 491. 1912, und Monogr., Jena 1913.

<sup>4)</sup> W. H. Peterson und E. B. Fred, Biochemical Journ. 44, 38. 1920.



natürlich über die Stufen Brenztraubensäure  $\rightarrow$  Acetaldehyd  $\rightarrow$  Aldol  $\rightarrow$   $\beta$ -Oxybuttersäure  $\rightarrow$  Acetessigsäure zu Aceton führen könnte.

Nach unseren unter einwandfreien Bedingungen — in anorganischen Nährlösungen und mit einer Reinzucht — erzielten Ergebnissen werden allem Anscheine nach Fettsäuren mit gerader Anzahl von C-Atomen gebildet. Bekanntlich kommen diese vorwiegend in der Natur vor.

Außer den auf S. 271 u. 272 erwähnten Autoren, von denen die Aldolhypothese entwickelt worden ist, haben E. Fischer<sup>1)</sup> sowie Th. Curtius und H. Franzen (l. c.) Erklärungen für diese Tatsache zu geben versucht. Ersterer nahm an, daß in vitro bisher nicht gelungene Kohlenstoffverkettungen von Hexosen untereinander oder mit mehreren Molekülen Pentosen zu den höheren Fettsäuren führen würden (z. B. 3 mal  $C_6$  zur  $C_{18}$ -Säure,  $C_6 + C_5 + C_5$  zur  $C_{14}$ -Säure, 2 mal  $C_6$  zur  $C_{10}$ -Säure). Curtius und Franzen sowie Smedley und Lubrzynska (l. c.) haben auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die diese Hypothese in sich birgt. Bei der Entstehung der Myristinsäure ( $C_{14}$ ) müßten etwa Glykolaldehyd oder die Tetrosen mitgewirkt haben, die jedoch bislang in der Natur nicht sicher nachgewiesen sind und jedenfalls nicht in wesentlichen Mengen zur Verfügung stehen dürften. Auch wäre es schwer verständlich, daß falls z. B. 1 Mol. Hexose mit 2 Mol. Pentose zur Palmitinsäure oder je 2 Mol. Hexose und Pentose zur Erucasäure ( $C_{22}$ ) zusammentreten könnten, nicht auch der Zusammenschluß von 1 oder 2 Mol. Hexose mit 1 Mol. Pentose zu den Säuren  $C_{11}$  oder  $C_{17}$  erfolgen sollte. Ausgehend von der bemerkenswerten Auffindung des  $\alpha, \beta$ -Hexylenaldehyds haben Curtius und Franzen eine andere Theorie der natürlichen Bildung höherer Fettsäuren aufgestellt. Jenen in den grünen Blättern vorkommenden ungesättigten Aldehyd,  $C_6H_{10}O = CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH : CH \cdot CHO$ , denken sie sich durch weitgehende Reduktion einer Hexose entstanden. Sie betrachten ihn selbst oder seine Vorstufe beispielsweise auch als die Muttersubstanz der Capronsäure und nehmen ferner wiederholte Anlagerungen von Glykolaldehyd nebst Reduktionen und Sauerstoffverschiebungen an, wodurch aus dem Hexylenaldehyd Fettsäuren mit paariger C-Zahl hervorgehen könnten. Aber auch diese überaus anziehende Hypothese ist nicht frei von bestimmten Voraussetzungen, über deren Wahrscheinlichkeit man streiten kann. Zunächst handelt es sich wieder um das Postulat von hinreichend vorhandenem, verwendungsbereitem Glykolaldehyd, dann kommt der Umstand in Betracht, daß der Blätteraldehyd nur in grünen Gewächsen aufzutreten und im Dunkeln (C. u. F. l. c., S. 109) zu verschwinden scheint. Mag die Hexylenaldehydhypothese für die Entstehung der natürlichen Pflanzenfette gelten, die Bildung höherer Fettsäuren bei bakteriellen Prozessen und bei chlorophyllosen Organismen allgemein deutet sie zunächst nicht; denn diesen würde weder der  $\alpha, \beta$ -Hexylen-

<sup>1)</sup> E. Fischer, Faraday-Lecture, deutsch bei J. Springer, Monogr. 1908, S. 11.

aldehyd noch assimilatorisch erzeugtes und zur Kondensation zu Glykolaldehyd<sup>1)</sup> befähigtes Formalin zur Verfügung stehen.

Man darf aber nicht außer acht lassen, daß in der Natur auch Säuren (sowie Alkohole) mit ungrader Kohlenstoffzahl vorkommen und aus Zuckern hervorgehen dürften. In dieser Richtung erklärt nun manches unsere Beobachtung, daß die biologische Aldolisierung schon in der C<sub>3</sub>-Reihe, an der Brenztraubensäure, erfolgen kann. Von ihrem Aldol, das auch als Lacton der  $\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -oxy- $\alpha$ ,-ketoglutarensäure aufgefaßt werden kann und erwiesenermaßen der Buttersäuregärung unterliegt, führen Wege zu Körpern sowohl mit gerader als mit ungerader Zahl von C-Atomen. Dieses Verhalten mahnt zugleich zur Vorsicht bei der Aufstellung von Theorien.

Ganz nebenbei sei bemerkt, daß auch durch zahlreiche reif chemische Reaktionen Verbindungen der 3-Kohlenstoffreihe mit hierhin gehörigen Substanzen höheren Molekulargewichtes zusammenhängen. Wir erwähnen nur einige der auffallendsten Umsetzungen.

J. U. Nef<sup>2)</sup> hat gefunden, daß Acetol, Acrolein und Hydracrylaldehyd mit ganz verdünnten Alkalien Crotonaldehyd liefern; dies wird verständlich, wenn man Acetaldehyd als Zwischenstufe annimmt im Sinne der Formulierungen:



Mit ähnlichen Dissoziationserscheinungen dürften die vom gleichen Autor beobachteten Übergänge von Glycerinaldehyd und Dioxyacetol in Erythronsäure zu erklären sein. Nach Guerbet<sup>3)</sup> entsteht ferner beim Erhitzen von Äthylalkohol und Bariumäthylat der n-Butylalkohol und aus Butylalkohol und Natriumbutylat der Dibutylalkohol C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>O. Die Bildung kleiner Mengen von Buttersäure bei Belichtung von Milchsäure in Gegenwart von Quecksilbersalz, die von Duclaux<sup>4)</sup> beschrieben worden ist, wird wohl auch über die Stufen der Brenztraubensäure bzw. des Acetaldehyds erfolgen. Weniger durchsichtig sind die Verhältnisse für die Alkalischnmelzen von Lactaten und Glycerin, durch die nach F. Hoppe-Seyler<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Letzterer könnte immerhin bei der Verwendung von Zucker gemäß Neubergs Beobachtungen über Depolymerisation von Kohlenhydraten (Diese Zeitschr. 12, 337. 1908) aus höheren Zuckern hergeleitet werden. Schwieriger ist dies aber im Falle der Vergärung von Glycerin oder noch mehr bei der von Lactaten.

<sup>2)</sup> J. U. Nef, Ann. 335, 220, 225, 250, 323, 325. 1904.

<sup>3)</sup> M. Guerbet, Chem. Centralbl. 1901, II. 621; 1902, I. 298; 1902, II. 567.

<sup>4)</sup> E. Duclaux, Bull. de la Soc. chim. 47, 385. 1887.

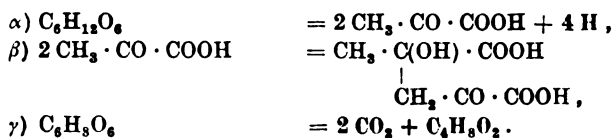
<sup>5)</sup> F. Hoppe-Seyler, H. 2, 14. 1878.

und E. Herter<sup>1)</sup> Buttersäure erzeugt wird, sowie für die trockene Erhitzung von Calciumglycerat, bei der Destrem<sup>2)</sup> Hexenylalkohol,  $C_6H_{12}O$ , auftreten sah, während die gleiche Verbindung bei der Zinkstaubdestillation<sup>3)</sup> Phoron,  $C_6H_{14}O$ , liefert, was auch eine fortgesetzte Kondensation zur Voraussetzung hat.

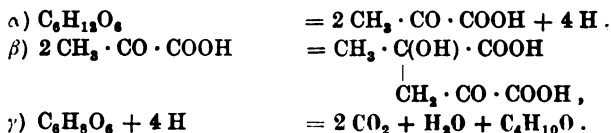
Die mitgeteilten Ergebnisse der von uns vorgenommenen Versuche über die Buttersäuregärung zeigen die Brenztraubensäure wieder in einem neuen Lichte. Nach den bisherigen Feststellungen durfte sie als Muttersubstanz des Acetaldehyds und weiterhin des bei Gärungsvorgängen entstehenden Weingeistes sowie der Essigsäure betrachtet werden. Nunmehr kann sie auch als Vorstufe der Buttersäure gelten<sup>4)</sup>. Vom Zucker, vom Glycerin und von der Milchsäure führen in ungezwungener Weise Reaktionen zu dieser so umsetzungsfähigen  $\alpha$ -Ketosäure.

Will man sich ergebende Vorstellungen in — selbstredend schematische — Formeln kleiden, so gelangt man für den Teil der Vorgänge, die Butyl derivative liefern, zur folgenden einfachsten Umschreibung, bei der insbesondere die zwischen Ausgangsmaterial und Brenztraubensäure liegenden Umwandlungen nicht verzeichnet werden und die Lactonbildung des Brenztraubensäurealdols außer Betracht bleibt:

#### A. Buttersäuregärung des Zuckers.



#### B. Butylalkoholische Zuckerspaltung.



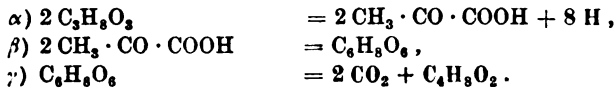
<sup>1)</sup> E. Herter, B. **11**, 1167. 1878.

<sup>2)</sup> A. Destrem, Ann. de Chim. [5] **27**, 50, 58. 1882.

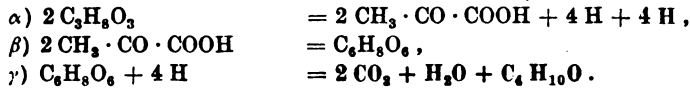
<sup>3)</sup> K. E. Schulze, l. c.

<sup>4)</sup> Ihre allgemeinere Bedeutung für Kernsynthesen erhält auch aus dem Verhalten gegenüber der Carboligase, dem jüngst von C. Neuberg und J. Hirsch (diese Zeitschr. **115**, 282. 1921) aufgefundenen Kohlenstoffketten knüpfenden Ferment.

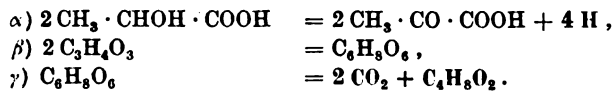
C. Buttersäuregärung des Glycerins.



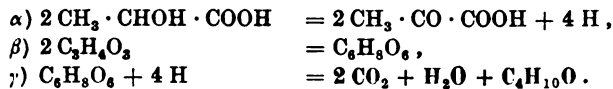
D. Butylalkoholische Gärung des Glycerins.



E. Buttersäuregärung der Milchsäure.



F. Butylalkoholische Gärung der Milchsäure.



Die üblichen Nebenprodukte der Butylgärungen sind im Zusammenhange mit den neuen Befunden gleichfalls leicht erklärlich. Alkohol und Essigsäure können ihre Entstehung der Dismutation von Acetaldehyd verdanken, der durch carboxylatische Spaltung der Brenztraubensäure bekanntermaßen hervor gebracht wird; Milchsäure dürfte vom Brenztraubenaldehyd, dem Methylglyoxal, herkommen. Auch die Bildung von Ameisensäure (s. S. 289, 298 u. 304) wird verständlich. Die gasförmigen Erzeugnisse der Buttersäuregärung sind Kohlendioxyd und Wasserstoff. Wenn Brenztraubensäure oder ihr Aldol zu Stoffen der C<sub>4</sub>-Reihe werden, so muß sich CO<sub>2</sub> ablösen. Das Grundschema dafür ist die typische Carboxylasewirkung. Der Oxydationshub auf die Pyruvatstufe muß, da er ohne Mitwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs geleistet wird, irgendwie Wasserstoff zur Verfügung stellen. Während nun bei der gewöhnlichen alkoholischen Zuckerspaltung dieser beweglich gemachte Wasserstoff in letzter Linie zur Reduktion des beim Brenztraubensäurezerfall gebildeten Acetaldehyds dient, demnach entsprechend zur Dehydrierung verbraucht wird, ist ihm eine solche Betätigungsmöglichkeit im Falle der Buttersäuregärung infolge der einsetzenden „Saccharinumlagerung“ (s. S. 276) verwehrt. Letztere schafft aus der Carbonylver-

bindung (vom Aldoltypus) durch die Sauerstoffwanderung eine gesättigte Fettsäure, also eine Substanz, die nicht mehr als H-Acceptor dienen kann. Infolgedessen muß der frei gewordene Wasserstoff in elementarer Gestalt entweichen: „Wasserstoffgärung.“ Ein Teil kann natürlich — zumal im atomaren Entstehungszustande — weitergehende Desoxydationen veranlassen<sup>1)</sup> und so den Butylalkohol und fernerhin höhere Fettsäuren aus den Aldolen usw., außerdem Ameisensäure aus Kohlendioxyd hervorbringen. In diesen wechselseitigen Zusammenhängen dürfte es auch begründet sein, daß keine scharfe stöchiometrische Beziehung zwischen den einzelnen Gärungserzeugnissen zu erkennen ist. Wasserstoff kann andererseits auch durch Zerfall von Ameisensäure entstehen, und so wird das von den Idealgleichungen geforderte Mengenverhältnis der Reaktionsprodukte ersichtlich von vielen Faktoren abhängig.

Nach ihren wesentlichen Grundzügen steht aber die Butylgärung anderen bereits genauer erkannten Arten biochemischer Zuckerspaltungen nahe; die Buttersäuregärung ist gewissermaßen eine vierte Vergärungsform.

Als erste Vergärungsform bezeichnen wir die übliche alkoholische Zuckerspaltung; bei ihr wird durch intermediäre Oxydation als Zwischenstufe Brenztraubensäure gebildet, deren carboxylatisches Zerfallsprodukt Acetaldehyd dann korrelative Reduktion zum Weingeist erfährt, während die Carboxylase zugleich die Gärungskohlensäure bereitstellt.

Die zweite Vergärungsform ist in der Acetaldehyd-Glycerinzerlegung des Zuckers gegeben. Man erzielt sie, wie C. Neuberg mit E. Färber und E. Reinfurth<sup>2)</sup> dargetan haben, wenn der aus der Brenztraubensäure neben CO<sub>2</sub> hervorgegangene Acetaldehyd durch ein „Abfangmittel“ gefesselt und vor weiterer Hydrierung zum Äthylalkohol geschützt wird. Der reduktive Ausgleich erfolgt dann durch Anlagerung von Wasserstoff an einen Zuckerrest und ergibt das Glycerin im Gegenwertverhältnis zu dem Acetaldehyd und der Kohlensäure:



Zur dritten Vergärungsform gelangte man mit Hilfe des Dismutationsverfahrens, das von C. Neuberg und J. Hirsch<sup>3)</sup> aufgefunden ist; sie wird ausgedrückt durch die Gleichung:  $2 C_6H_{12}O_6 + H_2O$

<sup>1)</sup> Über eine biologische Reduktion einer Carbonylgruppe zum Methylenrest vgl. F. Knoop und R. Oeser, H. 89, 144. 1914.

<sup>2)</sup> C. Neuberg und E. Färber, diese Zeitschr. 78, 238. 1916; C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 365 und 92, 234. 1918.

<sup>3)</sup> C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 96, 175; 100, 304. 1919; C. Neuberg, E. Reinfurth und J. Hirsch, diese Zeitschr. 105, 307. 1920.

$= \text{CH}_3 \cdot \text{COOH} + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2 \text{CO}_2 + 2 \text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ . In Anwesenheit von Salzen, die keine spezifische Bindekraft für Acetaldehyd besitzen, werden nämlich je 2 Mol. dieses durch Decarboxylierung von Brenztraubensäure erzeugten Körpers in Essigsäure und Spirit umgelagert, während wiederum im Glycerin das vollkommene Reduktionsäquivalent für die erfolgte Oxydation zur Stufe der Brenztraubensäure bzw. des Acetaldehyds zugegen ist, wenigstens bei entsprechender Umsetzung des Zuckers durch Hefen. Ein etwas anderer Typus liegt bei den Gärungen unter dem Einflusse der Bakterien aus der Coli-Dysenterie-Gruppe vor; bei ihnen entstehen Alkohol und Essigsäure wohl auch auf dem Wege der Dismutation, während der „Gärungswasserstoff“ keinen Empfänger findet, sondern sich in molekularem Zustande gasförmig verflüchtigt.

Hinzu tritt nun als vierte Umwandlungsart die Grundform der bei der Buttersäuregärung sich abspielenden Umsetzungen (s. S. 282). Der Abbau dürfte auch hier über das Glied der Brenztraubensäure stattfinden. Der Teilvorgang, der Essigsäure und Äthylalkohol liefert, führt über die Brenztraubensäure hinaus und hat die Dismutation des carboxylatisch erzeugten Acetaldehyds zur Folge. Die Verkettung scheint dagegen schon auf der Brenztraubensäurestufe<sup>1)</sup> einzusetzen. Die Ketosäure kondensiert sich zu ihrem Aldol, und eine Saccharinumlagerung am Produkte seiner einmaligen und zweimaligen Decarboxylierung<sup>2)</sup> ergibt die Buttersäure. Diese Substanz stellt keinen funktionstüchtigen Acceptor für den „Gärungswasserstoff“ mehr dar, so daß er nicht fixiert, sondern als solcher in Freiheit gesetzt wird.

Demnach beschreitet die Natur in den Grundzügen denselben Weg bei den wichtigsten biochemischen Abbaureaktionen der Kohlenhydrate. Nur der Schlußakt ist je nach den Lebensbedürfnissen der einzelnen Organismen verschieden.

### Experimentelles.

Wie bereits erwähnt, diente als Erreger bei den Untersuchungen über die Zwischenstufen der Buttersäurebildung und die sich anschließenden Fragen der *Bacillus butylicus* Fitz, der außer

<sup>1)</sup> Damit soll nicht gesagt sein, daß nicht bestimmte Organismen auch den Acetaldehyd selbst aldolisieren oder zu „Benzoinkondensationen“ verwenden können. Siehe C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 115, 307. 1921; vgl. auch P. Lindners Untersuchungen über die Frage der Fettbildung aus Alkohol, Zeitschr. f. techn. Biolog. 7, 68 und 79.

<sup>2)</sup> Bezüglich eines anderen Umwandlungsmechanismus siehe vorher S. 277.

von seinem Entdecker namentlich von O. Emmerling (l. c.) eingehend untersucht worden ist. Durch die Güte des Herrn Professor Emmerling gelangten wir in den Besitz einer Kultur dieses Mikroorganismus; er stammt ursprünglich aus dem Elsaß. Herrn Professor Ficker und Fräulein Köster sind wir für die dauernde Kontrolle der Reinheit zu Dank verpflichtet.

Neben dem *Bacillus butylicus* Fitz kam noch ein anderes Buttersäurebacterium zur Anwendung, das wir vom Institut für Gärungsgewerbe in Berlin bezogen haben. Es gehört hinsichtlich seiner Züchtungs- und Gestaltverhältnisse offenbar in die Klasse des *Amylobacter*, während der *Bacillus butylicus* Fitz nach seinen morphologischen und kulturellen Eigenschaften, wie uns Herr Professor Ficker mitteilte, dem *B. coli* näher steht<sup>1)</sup>.

Die in ihren allgemeinen Ergebnissen zuvor gewürdigten Tatsachen wurden mit dem Fitzschen *Bacillus* beobachtet. Von einer ausgiebigen Benutzung des anderen Erregers nahmen wir Abstand. Denn erstens gedieh er nicht recht (s. S. 295) in peptonfreien Lösungen, ein Umstand, der die Herkunft von Buttersäure aus Eiwaißabkömmlingen nicht mit voller Sicherheit auszuschließen gestattete; dann zeigte er ein eigentümliches Verhalten bei der Kultivierung in Gegenwart schwefligsaurer Salze. Er erzeugte nämlich unter den Bedingungen, bei denen noch ein Wachstum zu erzielen war, aus verschiedenen konzentrierten Sulfitlösungen durch weitgehende Desoxydation stets Schwefelwasserstoff, einerlei ob lösliches Dinatriumsulfit oder unlöslicher schwefligsaurer Kalk zur Anwendung gelangte. Die hydrierende Kraft des Fitzschen *Bacillus* kann ebenfalls dazu führen daß in Flüssigkeiten mit einem Gehalt von weniger als 1% Dinatriumsulfit Schwefelwasserstoff auftritt, aber bei den durchaus brauchbaren höheren Konzentrationen von 2—2,5% an schwefligsaurem Salz unterbleibt diese Reduktion vollkommen. Bei dem anderen Erreger war die H<sub>2</sub>S-Entwicklung nicht zu unterdrücken, auch nicht bei dem maximal ertragenen

---

<sup>1)</sup> Es sei jedoch erwähnt, daß G. Bredemann (l. c.) den *bac. butylicus* Fitz zur Klasse *Amylobacter* zu zählen geneigt ist. Dabei ist in Betracht zu ziehen, daß sowohl A. Schattenfroh und R. Graßberger (l. c.) als Bredemann, welche diesen Zweig von Mikroorganismen recht eingehend erforscht haben, auf die bedeutende Variabilität hinweisen, die dieser Gruppe von Erregern in den Wachstumsformen wie im Chemismus eigen ist.

Gehalte von 1,5%  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ; Acetaldehyd wurde hier außerdem nur spärlich manifest, und hinzu kam, daß infolge von Vergiftung der Prozeß nach kurzer Zeit überhaupt still stand.

Aus dem folgenden ergibt sich, welche eine bedeutende Anzahl zeitraubender Vorversuche erforderlich war, bevor die für unsere Fragestellungen geeigneten Bedingungen befriedigende Erfüllung fanden.

#### A. Die benutzte mineralische Nährlösung (m. N.).

Die m. N. hatte durchgängig, wenn nichts anderes vermerkt ist, die Zusammensetzung:

- 1000 com Leitungswasser,
- 1,00 g Dikaliumphosphat,
- 0,30 g Magnesiumsulfat kryst.,
- 0,02 g Natriumchlorid,
- 0,01 g Ferrosulfat kryst.,
- 0,01 g Mangansulfat kryst. und
- 0,50 g Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle.

#### B. Prüfung der Eignung und Eigenheiten des *Bacillus butylicus* Fitzlanus als Erreger der Butylgärungen.

Von einer Reinkultur des *Bacillus* auf Traubenzucker-Schräg-Agar überimpften wir mittels Platinöse in große, an drei aufeinander folgenden Tagen im Dampftopfe sterilisierte Reagensgläser, und zwar auf nachstehende Substrate:

1. 2proz. Lösung reinsten Traubenzuckers in m. N.,
2. desgleichen unter Zusatz von Calciumcarbonat,
3. 2proz. Lösung von Glycerin in m. N.,
4. ebenso mit Kreide als Bodenkörper.

Bei einer Brutschranktemperatur von  $36^\circ$  zeigten die Glucoseröhrchen 1 und 2 nach 24 Stunden Gärung, die jedoch bei 1 schwach und am darauf folgenden Tage nicht mehr wahrnehmbar war, obgleich eine Probe mit Fehlingscher Lösung reichlich unvergorenen Zucker erkennen ließ. In Röhrchen 2 bemerkte man noch nach 5 Tagen ununterbrochenes Aufsteigen von Gasblasen, und der Glucosegehalt hatte dementsprechend bereits stark abgenommen. Die Dextrosemenge betrug dann nur noch 0,6% (gegen 2% zu Versuchsbeginn).

Die Glycerinröhrchen wiesen keine Gasentwicklung auf, wohl aber Trübung der Flüssigkeit infolge Wachstums des *Bacteriums*.



**C. Die Vornahme der gleichen Versuche bei anaeroben Bedingungen** (unter einer evakuierten Gasglocke in Gegenwart alkalischer Pyrogalllösung) führte zu keiner Abweichung von dem oben beschriebenen Verhalten der gewöhnlichen zuckerhaltigen Kultur-Röhrchen. Zumeist unterblieben daher weiterhin besondere Maßnahmen zur Fernhaltung der Luft. Erneute Gäransätze mit Glycerin hatten bei vielfach variierten Bedingungen wiederum keinen Erfolg.

#### D. Buttersäurenachweis.

Die keimfreie Lösung von 4 g Dextrose in 200 ccm m. N. mit 3 g Calciumcarbonat wurde mit 2 ccm steril dem zuvor erwähnten Gärröhrchen Nr. 2 entnommener flüssiger Bakterienkultur versetzt. Die Gärung war bereits am nächsten Morgen im Gange. Der Kolben wurde nach einer Woche zum Zwecke des Nachweises von Buttersäure aufgearbeitet, ohne daß aller Zucker vollständig verbraucht gewesen wäre. Nach kurzem Aufkochen des gesamten Kolbeninhalts wurden 150 ccm abfiltriert, mit verdünnter Schwefelsäure bis zur Reaktion auf Kongopapier angesäuert und mit Wasserdampf am absteigenden Liebig- und Schlangenkühler, die miteinander verbunden waren, von flüchtiger Säure befreit. Es wurden 2500 ccm Destillat aufgefangen, zu deren Neutralisation 11,69 ccm n-Natronlauge erforderlich waren. Diese Menge entspricht bei der Berechnung als Buttersäure:  $\frac{11,69 \cdot 88}{1000}$  = 1,029 g. Da in den verarbeiteten 150 ccm Gärgut 3 g Dextrose enthalten gewesen waren, so ergibt sich eine prozentische Ausbeute an Säure von  $\frac{1,029 \cdot 100}{3} = 34,3\%$  des angewendeten Zuckers.

2200 ccm des Destillates wurden sodann mit reiner Natronlauge übersättigt, bis zu einem kleinen Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, zur vollständigen Neutralisation des Alkaliüberschusses mit CO<sub>2</sub> behandelt, darauf zur Trockne gebracht und dreimal mit je 30 ccm abs. Alkohol auf dem Wasserbade extrahiert. Die Auszüge wurden durch ein Filter gegossen, die auf ihm zurückgebliebenen Salzmassen gründlich mit heißem Weingeist ausgewaschen, so daß sich alles fettsaure Natron im alkoholischen Filtrat befand. Nunmehr wurde das Solvens verjagt und der beim Abkühlen entstandene Brei weißer Krystalle abgenutscht; dieselben wurden in wenig Wasser aufgenommen

und unter Eiskühlung und Schutz vor direktem Tageslicht mit einer konzentrierten Lösung von 1,7 g  $\text{AgNO}_3$  gefüllt; der Niederschlag wurde sofort abgesaugt und im Dunkelexsiccator getrocknet, während das Filtrat, das die Waschwässer sowie den zur schnellen Entwässerung benutzten Sprit enthielt, sich bald dunkel färbte, was auf Anwesenheit von Ameisensäure schließen ließ.

Analyse des Silbersalzes.	0,2161 g gaben 0,1214 g = 56,17% Ag.
Ber. für Silberbutyrat	55,38% Ag.
Ber. für Silberacetat	64,66% Ag.

Es lag also zum ganz überwiegenden Teile das Salz der Buttersäure vor.

**E. Bei fortgesetzter Überimpfung unseres Erregers aus gärender Glucoselösung in dasselbe Nährmedium**

(s. oben) und ebenso bei gleichen Ansätzen mit auf Zuckeragarplatten weitergezüchteten Kolonien machten wir die auch sonst angegebene Erfahrung, daß die Gärkraft des Bacillus sehr bald erheblich nachließ. Versuch Nr. 139 z. B., der ganz analog dem Versuch 2 (S. 287) vorgenommen war, ergab 3 Monate später, daß der Erreger innerhalb 9 Tagen nur noch 40% des zugefügten Kohlenhydrats überhaupt anzugreifen vermochte.

**F. Erhaltung konstanten Gärungsvermögens.**

Weiterhin wurde folgendes ermittelt:

$\alpha$ ) Glucose, Rohrzucker, Invertzucker, Maltose und Stärkesirup, nicht aber Kartoffelstärke, können in zwei- bis dreiprozentiger Lösung in 3 oder 4 Wochen vom Erreger in gärtichtigem Zustande zu Ende vergoren werden.

$\beta$ ) Ein Gehalt an Pepton von 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> beschleunigt etwas das Wachstum und den Eintritt der Vergärung; aber jene organische Stickstoffquelle ist bei keinem der erwähnten Zucker für die Umsetzung unerlässlich.

$\gamma$ ) Die wechselseitige Überimpfung aus einer peptonhaltigen 2proz. Maltoselösung in 2proz. Glucoselösung ohne oder mit Pepton oder in eine Lösung von Stärkesirup von entsprechender Konzentration hielt Wachstum und Gärfähigkeit dauernd auf der Höhe.

Auch Grimbart (l. c.) hat eine ähnliche Erfahrung bei von ihm benutzten Erregern anderer Art gemacht in bezug auf den günstigen Einfluß sich ablösender Züchtungen auf Dextrose-, Glycerin- und Inulin-nährböden.

Nach unseren Feststellungen für den *Bac. butylicus* Fitz verfahren wir daher so, daß wir für die meisten Versuche aus einer flüssigen Reinkultur in 2proz. Maltoselösung, die außer der notwendigen Kreide  $1\frac{0}{100}$  Pepton enthielt, auf die Lösungen von Traubenzucker in der mineralischen Nährflüssigkeit aussäten.

#### G. Abfangung von Acetaldehyd bei der Butylgärung.

Die Ansätze wurden teils mit Dinatriumsulfit, teils mit frisch gefälltem Calciumsulfit gemacht. Die genauen Angaben über die jeweiligen Mengenverhältnisse finden sich bei den einzelnen Versuchen.

Die qualitative Probe auf fixierten Acetaldehyd wurde in wenigen ccm des steril dem Gärkolben entnommenen Inhalts mittels Nitroprussidnatrium und 3proz. Piperidinlösung angestellt. Da das Ergebnis infolge des sich manchmal entwickelnden Schwefelwasserstoffes bei direkter Prüfung nicht deutlich ist, so wurden 5—20 ccm nach einer an das quantitative Bestimmungsverfahren (s. unten) sich anlehnenden Methode (nach Ausfällung überschüssigen Sulfits durch Bariumchlorid sowie zur Bindung des  $H_2S$  unter Zugabe von etwas Bleiacetat und stets mit  $CaCO_3$ ) aus einem kleinen Kölbchen destilliert und das Übergehende in einem eisgekühlten Reagensglase mit etwa 1 ccm verd. Alkohol aufgefangen. Es gelang so auch dort, wo die Proben mit dem Gärgut selbst unsicher gewesen wären, eine klare Entscheidung herbeizuführen.

Die Identifizierung und quantitative Bestimmung des Acetaldehyds erfolgten nach den von Neuberg und Reinfurth<sup>1)</sup> ausgearbeiteten Methoden. Die Ausbeuten sind stets als g Aldehyd pro 100 ccm Gärgut angegeben; in letzterem waren ursprünglich 2 g Traubenzucker vorhanden, so daß der auf Glukose bezogene prozentische Ertrag durch Multiplikation mit 50 gefunden wird.

#### 1. Versuchsreihe.

Zu den Versuchen 133 und 134 wurden die Natriumsulfit- und die Glucose-Nährsalz-Lösung jede für sich sterilisiert, letztere

<sup>1)</sup> C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 390. 1918; 106, 281. 1920.

dreimal im strömenden Dampf, erstere durch einmaliges Kochen unter Luftabschluß. Die Mengen waren so bemessen, daß nach dem Zusammengießen das Volumen 100 ccm betrug. Der Zusatz des sekundären schwefligsauren Natriums geschah bei Nr. 133 und 134 vor der Impfung, bei Nr. 135 am Tage nach der Aussaat, während das Calciumsulfid in den Ansätzen 136–138 mit der Kulturflüssigkeit zusammen sterilisiert wurde. Jeder Kolben erhielt sodann 2 g durch Erhitzen auf 180° keimfrei gemachtes Calciumcarbonat für je 100 ccm Nährlösung. Die Impfung wurde schließlich mit 1 ccm flüssiger Reinkultur (s. vorher S. 290) pro 100 ccm des Gemisches vorgenommen.

Tabelle I.

Nr.	Gehalt	Abfangmittel	Acetaldehydreaktion am			Aldehydmenge am 11. Tage in 100 ccm g
			3. Tage	5. Tage	8. Tage	
133	2 g Glucose in 100 ccm m. N.	0,58 g Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	schwach	schwach	negativ	0
134	desgl.	1,74 g Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	positiv	stark positiv	etwas schwäch.	0,0704
135	desgl.	1,16 g Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	„	positiv	stark positiv	0,0665
136	desgl.	1,25 g CaSO <sub>3</sub>	negativ	negativ	negativ	0
137	desgl.	3,75 g CaSO <sub>3</sub>	„	„	„	0
138	10 g Glucose in 500 ccm m. N.	7,5 g CaSO <sub>3</sub>	„	„	—	0

Bemerkungen: Wachstum (zunehmende Trübung der Flüssigkeit) sowie Gasentwicklung waren in Gefäß 133 und 134 am Tage nach der Impfung kaum wahrnehmbar; Ansatz 135, noch ohne Sulfid, gar sehr stark. In den Calciumsulfidkolben trat vom zweiten Tage an bei recht lebhafter Gärung Schwefelwasserstoff auf, der durch den Wattebauschverschlus hindurch am Geruch sowie durch die Reaktion mit Bleisalz erkannt wurde; vom vierten Tage ab ließ die Gärung beträchtlich nach und hörte bald ganz auf, während der reichlich vorhandene Bodenkörper sich deutlich dunkelgrau färbte (ausgeschiedenes Schwefeleisen).

Auch der Natriumsulfidkolben Nr. 133 mit der geringen Konzentration (von 0,58 g Natriumsulfid) zeigte vom dritten Tage ab deutliche Schwefelwasserstoffentwicklung, die gleichfalls zur Dunkelfärbung des Inhaltes führte. Etwa vom selben Zeitpunkte an nahm der Acetaldehydgehalt wieder ab. Im Kolben 134 wurde kein H<sub>2</sub>S beobachtet, während kleine Mengen dieses Gases im Gefäß 135 aufstiegen.

Zu den quantitativen Aldehydbestimmungen, bei denen natürlich gleichfalls Bleiacetat angewendet wurde, dienten je 50,0 ccm des ursprünglichen Gärgutes. Am zehnten Tage aus den Ansätzen Nr. 133, 136 und 138 auf Zucker-Agar-Platten gemachte Ausstriche ergaben Abwesenheit von wachstumsfähigen Keimen, während 135 als lebende Reinkultur des *Bac. but.* erwiesen wurde. Demnach scheint eine andauernde starke Schwefelwasserstoffbildung dem Erreger unzutraglich zu sein.

## 2. Versuchsreihe.

Je 600 ccm m. N. mit 10 g Kreide und 15 g Traubenzucker (bei Nr. 148 nach Zugabe auch von 5 g Pepton) waren sterilisiert beimpft und zwei Tage später mit Sulfit versetzt, und zwar bei Nr. 148 und 149 mit 15 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  in 150 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  sowie bei Nr. 150 mit 7,5 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  in 150 ccm  $\text{H}_2\text{O}$ . Die Aldehydbestimmungen erfolgten hier mit je 100 ccm Gärgut.

Tabelle II.

Nr.	Inhalt	Acetaldehyd in 100 ccm am			
		4. Tage g	6. Tage g	10. Tage g	32. Tage g
148	750 ccm mit 2% Dextr. und 2% $\text{Na}_2\text{SO}_3$ sowie 0,66% Pepton	0,0465	verunglückt	0,0953	0,0543
149	750 ccm mit 2% Dextr. und 2% $\text{Na}_2\text{SO}_3$ (kein Pepton)	0,0141	0,0210	0,0257	0,0498
150	750 ccm mit 2% Dextr. und 1% $\text{Na}_2\text{SO}_3$ (kein Pepton)	0,0128	0,0174	0	0

Eine reduzierende Wirkung gegenüber dem schwefligsauren Salz machte sich nur bei dem sulfitärmen Kolben Nr. 150 bemerkbar, dessen Bodensatz am 10. Tage ganz geschwärzt war. Ein Ausstrich auf Traubenzuckeragar zeigte die Sterilität der Probe an. In Nr. 148 und 149 waren noch am 32. Tage die Keime nicht durch fremde Erreger verunreinigt und wachstumsfähig. Der Aldehydgehalt in Nr. 148 war zum Schlusse geringer als am 10. Tage. (Vgl. S. 293.) Ansatz 149 hatte möglicherweise gleichfalls einen Gipfelpunkt zwischen dem 10. und 32. Tag, wo eine Prüfung Laboratoriumsschlusses halber hatte unterbleiben müssen.

Bei Zugabe des Dinatriumsulfits zu den drei Kolben entstand etwas  $\text{CaSO}_3$  infolge Umsetzung mit dem bis dahin (d. h. innerhalb 48 Stunden) erzeugten löslichen fettsauren Calcium. Trotzdem war eine Bildung von  $\text{H}_2\text{S}$  in den Gefäßen Nr. 148 und 149 nicht nachweisbar, so daß sein Auftreten offenbar hauptsächlich von der Konzentration der Sulfitionen in der Flüssigkeit und weniger von der Natur der Base abhängt. Allerdings ist bekannt<sup>1)</sup>, daß auch lösliche Alkalisulfate durch rein chemische Mittel schwerer reduziert werden als unlösliche schwefelsaure Erdalkalien.

<sup>1)</sup> Siehe Gmelin-Kraut, Band 2, Abt. 1, S. 54, 324; Abt. 2, S. 33, 218, 233.

3. Versuchsreihe.

Je 800 ccm m. N. wurden mit 10 g Kreide sowie 20 g Dextrose beschickt und nach Sterilisation mit einer aufgekochten Lösung von 20 bzw. 25 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  in je 200 ccm m. N. versetzt. Alsdann wurde mit je 10 ccm einer Reinkultur in 2proz. Maltoselösung geimpft. Obgleich sich in Versuch Nr. 148 (Tabelle II) die Beigabe von Pepton als günstig erwiesen hatte, nahmen wir bei den Ansätzen Nr. 181 und 182 davon Abstand, um bezüglich der Aldehydabstammung ein in jeder Hinsicht unanfechtbares Resultat zu haben. Die Kolben zeigten vom zweiten Tage an Wachstum sowie Auftreten von Acetaldehyd.

Tabelle III.

Nr.	Inhalt der Gärgefäße bei ca. 12 cm hoher Schicht	Acetaldehyd in 100 ccm am							
		4. Tage	7. Tage	9. Tage	10. Tage	11. Tage	13. Tage	18. Tage	26. Tage
181	1000 ccm m. N. mit 2% $\text{Na}_2\text{SO}_3$ und 2% Traubenzucker	0,0746	0,1083	0,1378	—	0,1557	0,1567	0,1447	0,1279
182	1000 ccm m. N. mit 2,5% $\text{Na}_2\text{SO}_3$ und 2% Traubenzucker	0,0481	0,1353	—	0,1790	—	0,1956	0,1752	0,1508

Schwefelwasserstoff wurde nicht beobachtet. Die Aldehydbestimmungen erfolgten nach der Destillations-Titrations-Methode mit je 100 ccm Gärgut.

Eine Übersicht über das Verhalten gibt folgende Darstellung in Kurven.

Somit konnten wir bei der Um-

setzung des Zuckers durch die Buttersäurebacillen in rein mineralischer Lösung bis rund 10% Acetaldehyd mit Hilfe des Abfangverfahrens festlegen.

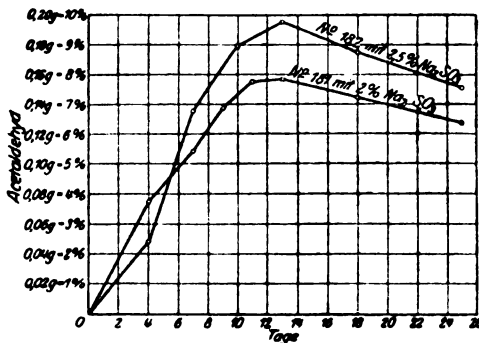


Abb. 1.

**H. Abfangversuch unter anaeroben Bedingungen.**

Nr. 184. 200 ccm m. N. mit 2 g Kreide, 2 g Glucose und 5 g  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  wurden mit dem Bacillus beimpft; die Luft in und über der Flüssigkeit war durch Wasserstoffgas verdrängt und dauernd ferngehalten (Quecksilberschluß). Das Wachstum gestaltete sich vom vierten Tage an merklich. Bereits am neunten Tage wurde der Ansatz aufgearbeitet und ergab einen Gehalt von 3,9% des angewendeten Zuckers an Acetaldehyd.

Nr. 192. Dieser Abfangversuch wurde mit Stärkesirup ausgeführt, dessen Zuckergehalt zu 85% ermittelt worden war. Die benutzte Mischung war in bezug auf Hexose 2prozentig, und 2,5prozentig an sekundärem schwefligsauren Natrium.

Tabelle IV.

Zusammensetzung	Acetaldehyd in 100 ccm am			
	11. Tage g	12. Tage g	14. Tage g	18. Tage g
1000 ccm m. N. mit 2% Hexose und 2,5% $\text{Na}_2\text{SO}_3$	vorhanden	0,1473	0,1545	0,1588

Am 11. Tage war die Bakterienentwicklung deutlich; am 18. Tage, d. h. beim Abbruche des Versuches, wurde die Kultur rein befunden.

Bemühungen, die Sulfitmenge über 2,5% zu steigern, blieben ergebnislos wegen der Unfähigkeit des Bacillus, die damit einhergehende Schädigung zu überwinden; die Mikroorganismen gingen zugrunde.

**I. Versuche mit dem Amylobacter.****a) Ansätze mit dem Originalstamm.**

Wie sich im folgenden zeigt, hatte dieser Erreger zunächst nicht die Fähigkeit, Lösungen, die frei von organisch gebundenem Stickstoff waren, zu vergären. Dagegen setzte er Zucker, Stärkesirup und auch Kartoffelstärke in Lösungen, die 0,5% Pepton oder 5% Hefeautolysat enthielten, in erheblich schnellerer Zeit um als der Bacillus but. fitzianus. Die optimale Temperatur war 34 bis 35°.

Auch in Gegenwart von Calciumsulfit griff er zwar die Kohlenhydrate kräftig an, aber er entwickelte zugleich massenhaft  $\text{H}_2\text{S}$ , und die Gärung versiegte nach 2–3 Tagen fast vollständig.

Schon die geringe Konzentration von 0,5% Natriumsulfit hinderte jedes Wachstum, einerlei ob die Lösungen damit vor der Impfung oder nach Angärung versetzt wurden. Das Verhalten war unter anaeroben Bedingungen das gleiche.

b) Ansätze mit dem aufgefrischten Erreger.

Wir beschränkten nun den von Bredemann vorgezeichneten Weg zur Regeneration des Bacillus.

Er gehörte in die Klasse *Amylobacter*, und zwar zu den nicht streng luftscheuen Vertretern, indem er bei aerob eingeleitetem Gärprozeß infolge Verdrängung gelöster atmosphärischer Gase durch Eigenerzeugung von Kohlendioxyd und Wasserstoff sich selbst bis zu einem gewissen Grade eine sauerstofffreie Umgebung schafft. Trotzdem machten wir die Beobachtung, daß die Anwendung unmittelbar zuvor ausgekochter Nährlösungen von günstigem Einflusse auf die Entwicklung war. Die Gruppe *Amylobacter* vergärt, frisch herangezüchtet, auch stickstofflose Medien, indem recht erhebliche Mengen  $N_2$  aus der Luft gebunden werden. Die Fähigkeit hierzu geht bei der fortgesetzten Kultivierung auf künstlichen Medien vielfach verloren ebenso wie das Vermögen, Nährböden mit gebundenem anorganischen Stickstoff auszunutzen. Diese Eigenschaft wird jedoch wiedererlangt, wenn man ein Röhrchen mit fein gepulverter Gartenerde füllt, mehrfach sterilisiert, sodann die wässrige Aufschwemmung einer Reinkultur des Bacillus (auf Zucker-Agar) hineingibt und den ursprünglich feuchten Gefäßinhalt unter Verschuß mit einem sterilen Wattebausch bei Zimmertemperatur in 2 oder 3 Monaten eintrocknen läßt. Eine erneute Herauszüchtung des Bacillus aus solchen Erdröhrchen läßt die Kraft zur Stickstoffassimilation neu erstehen und stärkt zugleich sowohl das Wachstum als die Gärtüchtigkeit.

Nachdem wir unseren Erreger dieser Behandlung unterworfen hatten, glückte uns zwar weder die Vergärung von stickstofffreien Kulturflüssigkeiten noch von irgendwelchen Glycerinnährböden, wohl aber erreichten wir eine begrenzte Umsetzung bei peptonfreien Lösungen, ferner einen verstärkten Zuckerverbrauch in Hefautolysat oder peptonhaltigen Mischungen, so daß die Glucose hier manchmal bereits nach 6 Tagen verschwunden war, und schließlich gelang uns auch die Vergärung in Gegenwart von Natriumsulfit, die allerdings bald wieder zum Stillstande kam.

Eine solche Kultur wurde mittels Platinnadel (Agarstichzüchtung) in folgende Ansätze eingesät: 400 cem m. N. inkl. 4 g Kreide, 0,4 g Pepton und 8 g Dextrose. Das Sulfit war bei Nr. 210 am Tage nach der Impfung, in den übrigen Versuchen vor derselben hinzugefügt worden.



Tabelle V.

Nr.	Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> %	Beginn sichtbarer Gärung nach	Proben auf Acetaldehyd nach		
			2 Tagen	5 Tagen	9 Tagen
210	1	24 Stunden (dann Sulfitzugabe)	negativ	negativ	negativ
211	1	3 Tagen	Spuren	Spuren	negativ
214	1	2 Tagen	positiv	negativ	—
215	1,5	3 Tagen	positiv	positiv	—

Die Reduktion des Sulfit zu Schwefelwasserstoff setzte am kräftigsten in Kolben 210 ein, und zwar schon 3 Stunden nach der Zumischung. Hier wie bei Nr. 211 war die an sich schwache Gärung ungefähr nach einer Woche erloschen.

Im Versuch 214 und 215 schien die Schädigung durch das schweflige Säure Salz nach 2 bzw. 3 Tagen überwunden zu sein. Die Schwefelwasserstoffentwicklung war wiederum (vgl. S. 292) in dem Kolben mit der größeren Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Konzentration erheblich schwächer. Die Aldehydreaktionen waren recht deutlich. In beiden Ansätzen hörte die Gärung nach 9 Tagen auf. In allen 4 Kolben war mit Oatscher Lösung nach Beseitigung von Sulfit und schweflige Säure Salz noch sehr reichlich Zucker nachweisbar. Die Menge des qualitativ einwandfrei festgestellten Acetaldehyds reichte zur quantitativen Bestimmung nicht aus. Bei höheren Sulfitkonzentrationen, durch die wir eine Steigerung der Aldehydausbeute zu erzielen hofften, gelang es uns nicht, eine Vergärung herbeizuführen.

Grundsätzlich unterscheiden sich somit die beiden Buttersäurebildner, der *Amylobacter* und der *Bac. but. Fitz*, nicht hinsichtlich der Fähigkeit, Acetaldehyd aus Zucker zu bilden.

#### K. Ansätze mit Brenztraubensäure.

##### a) Vorversuche.

4 breite Reagensgläser, die je 1 g Calciumcarbonat sowie 0,1 g Pepton-Witte in 20 ccm m. N. enthielten und sterilisiert waren, wurden folgendermaßen mit wasserfreier, frisch destillierter Brenztraubensäure beschickt:

1. mit 0,16 ccm = rund 1%.
2. desgleichen,
3. mit 0,08 ccm = ca. 0,5% und
4. mit 0,05 ccm = etwa 0,3%.

Nach 3 Stunden, in denen die Säure neutralisiert war, wurden Nr. 1, 3 und 4 mit einer flüssigen Reinkultur des *Bac. but. Fitz*

besät, während 2 als Kontrolle unbeimpft blieb und samt den übrigen Proben in den Brutschrank kam. Die Gärung in 3 und 4 war bereits am folgenden Tage und in 1 nach 48 Stunden eingetreten, während Röhrechen 2 dauernd unverändert blieb.

#### b) Versuch in größerem Maßstabe.

3 l m. N. mit 7,5 g Pepton wurden sterilisiert, mit 50 g keimfreier Kreide und nach Abkühlung mit ca. 15,0 ccm = 19,32 g frisch fraktionierter reiner Brenztraubensäure versetzt. Die Umwandlung zum Calciumpyruvinat wurde durch häufiges Schütteln befördert. Nach 14 Stunden erfolgte Impfung durch 5 ccm einer Reinkultur des Bac. butyl. Fitz in 0,5proz. Pyruvinatlösung. Bereits am Morgen des folgenden Tages war die Gasentwicklung erheblich und am 6. Tage keine Brenztraubensäure mehr nachweisbar. 2700 ccm wurden alsdann von unverbrauchtem kohlen-saurem Kalk abfiltriert, und von der neutral reagierenden Flüssigkeit wurden 1800 ccm abdestilliert. Der Rückstand wurde auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz eingedickt.

In dem durch Anreicherung auf 100 ccm gebrachten Destillate waren weder Alkohole noch Aldehyd (oder Aceton) nachweisbar. Der soeben erwähnte Rückstand wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert, dann wurden mit Wasserdampf 6000 ccm Destillat abgeblasen; sie verbrauchen zur Neutralisation 138,0 ccm n-NaOH.

Zu 5600 ccm des Destillats wurde etwas überschüssige Natron-lauge gegeben, darauf wurde eingeengt, freies Hydroxyd durch eingeleitete Kohlensäure beseitigt, zur Trockene gedampft und dreimal mit Alkohol in der Siedehitze extrahiert. Aus dem fil-trierten und etwas konzentrierten alkoholischen Auszuge der fett-sauren Natriumsalze krystallisierte eine erste Fraktion von 3,5 g. Die Mutterlauge wurde eingeengt und ergab eine zweite Portion von 2,8 g. 2700 ccm verarbeitetes Gärgut entsprachen 90 % der ursprünglich angewendeten 19,32 g Brenztraubensäure. Weiter-hin hatten von den erhaltenen 6000 ccm fettsäurehaltigen De-stillats 5600 ccm zur Bereitung der obigen Natriumsalze gedient, die demnach die Ausbeute aus  $19,32 \cdot 0,9 \cdot \frac{5}{8} = 16,2$  g Brenz-traubensäure darstellen.

Analyse der ersten Fraktion: Nach Überführung in das Silber-salz auf die gewöhnliche Weise lieferten

0,0980 g Substanz: 0,0632 g = 64,49% Ag.

Ber. für Silberacetat: 64,66% Ag.

Bei der zweiten Fraktion wurde 1 g Natriumsalz in 5 ccm Wasser gelöst, filtriert, auf zirka 8 ccm verdünnt und viermal anteilweise mit je 0,5 g salpetersaurem Silber in ganz wenig Wasser gefällt. Für jede folgende Fällung diente das unverdünnte Filtrat der vorhergehenden. Die letzten 0,5 g  $\text{AgNO}_3$  bewirkten ungeachtet des Arbeitens im Dunkeln und trotz Eiskühlung eine Schwärzung der gesamten Flüssigkeit. Dies Verhalten deutete auf die Gegenwart von Ameisensäure, die auch im ursprünglichen Wasserdampfdestillate nachweisbar gewesen war.

Wir führen folgende Analysen der zweiten und einer späteren Fraktion an:

1. Fällung: 0,0719 g Silbersalz gaben 0,0456 g = 63,42% Ag.
3. Fällung: 0,1250 g Silbersalz gaben 0,0794 g = 63,52% Ag.
Ber. für Silberbutyrat: 55,38% Ag.
Ber. für Silberacetat: 64,66% Ag.

Nach diesen Ergebnissen konnte die Menge der eventuell vorhandenen Buttersäure nur minimal sein; qualitative Proben, wie z. B. Verreiben mit Kaliumbisulfat, ließen lediglich den Geruch nach Essigsäure hervortreten.

c) Ansätze von Brenztraubensäure und dem *Amylobacter*.

Zwei Röhren mit 0,5% Brenztraubensäure nebst  $\text{CaCO}_3$  enthaltender Nährlösung zeigten nach Beimpfung mit einer Reinkultur des durch Erdröhrenpassage gekräftigten Erregers am folgenden Tage Gärung, während ein keimfreier Kontrollansatz unverändert blieb. Nach 5 Tagen war keine Brenztraubensäure in den gegorenen Proben mehr nachweisbar. Somit ist auf die Umsetzbarkeit der Brenztraubensäure auch durch den anderen Buttersäurebacillus zu schließen.

L. Bildung von Buttersäure aus dem Brenztraubensäure-aldol.

Als Brenztraubensäure-aldol bezeichnen wir der Einfachheit wegen die  $\alpha$ -Keto- $\gamma$ -valerolacton- $\gamma$ -carbonsäure, die nach den Angaben von L. Wolff<sup>1)</sup> und A. W. K. de Jong<sup>2)</sup> auf verschiedene Weisen durch — die auch freiwillig verlaufende — Kondensation zweier Moleküle Brenztraubensäure erhalten werden kann.

<sup>1)</sup> L. Wolff, Ann. 305, 156. 1899; 317, 22. 1901.

<sup>2)</sup> A. W. K. de Jong, Rec. 20, 81. 1901; 23, 147. 1904.

## a) Vorversuche.

Je 4 R ö h r c h e n mit 1 g Calciumcarbonat als Bodenkörper und mit einer Lösung von 0,1 g Pepton in 20 ccm m. N. wurden nach Sterilisation mit dem Aldol in der Weise beschickt, daß dessen Konzentrationen betragen bei

R ö h r c h e n I	II	III	IV
0,06 g	0,10 g	0,175 g	0,175 g
(= rund 0,3%)	= 0,5%	= 0,9%	= 0,9%

Die nach einer halben Stunde beendete Gasentwicklung zeigte die Neutralisation des Anhydrids zu dem unter diesen Bedingungen entstehenden Calciumsalz der  $\alpha$ -Keto- $\gamma$ -valerolacton- $\gamma$ -carbonsäure an.

Die R ö h r c h e n I, II und III wurden sodann mit je 0,1 ccm einer aufgefrischten Reinkultur des Bacillus infiziert, IV blieb unbeimpft. R ö h r c h e n I und II befanden sich am folgenden Tage bereits in G ä r u n g, III erst nach 48 Stunden. Die Entbindung von G ä r u n g s g a s e n hielt bis zum 5. Tage deutlich an; alsdann waren die Reaktionen auf die Oxyketosäure in II und III noch wahrnehmbar, während I keine mehr zeigte. R ö h r c h e n IV blieb unverändert, die übrigen enthielten Reinkulturen des Erregers.

## b) Versuch im Großen.

Zwei Gefäße mit je 2 l m. N., 40 g Kreide nebst 10 g Pepton wurden sterilisiert und mit der aufgekochten Lösung von je 10 g Brenztraubensäure-aldol in 50 ccm Wasser versetzt. 6 Stunden später, nachdem die Absättigung mit kohlen saurem Kalk unter häufiger Schüttelung praktisch vollzogen war, wurden je 10 ccm einer Reinkultur des Bacillus (auf 0,5proz. Pyruvatlösung) eingeimpft. Bei 37° war am nächsten Vormittage die G ä r u n g im Gange. Am 15. Tage war Ausgangsmaterial kaum noch erkennbar. Nachdem die Reinheit beider Kulturen nach genau 3 Wochen festgestellt war, wurde mit der Aufarbeitung begonnen.

Das vereinigte Gärgut wurde von der unverbrauchten Kreide abgesaugt und der Rückstand quantitativ nachgewaschen. Dann wurden 2,5 l (ohne Dampf) abdestilliert. Im Destillate fanden sich weder Acetaldehyd (noch Aceton) vor; auch nach entsprechender Konzentration fiel die Jodoformprobe nur ganz undeutlich aus. Der neutral reagierende Rückstand wurde auf dem Wasserbade weitgehend eingeengt und nach dem Ansäuern durch Schwefel-

säure mit Wasserdampf behandelt, bis 12,5 l Destillat abgetrieben waren.

Das Destillat wurde alkalisiert, eingengt und weiterhin wie das entsprechende Destillat des Brenztraubensäureversuchs (s. S. 297) verarbeitet. Die gesamte so erhaltene Salzmenge betrug 13 g (feucht).

6,5 g wurden in sehr wenig Wasser gelöst, mit etwas gepulv.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  versetzt und nach Überschichten mit Äther in einem kleinen Scheidetrichter mit 50proz. Schwefelsäure angesäuert. Nach mehrmaligem Ausschütteln wurde die ätherische Lösung mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und der Äther abgedampft. Der Rückstand wurde fraktioniert und lieferte folgende Anteile:

- Ia) Flüssigkeit vom Siedepunkt 80–140° (Geruch nach Essigsäure),
- Ib) Flüssigkeit vom Siedepunkt 141–159° (Hauptmenge).

Die zweiten 6,5 g wurden in gleicher Weise verarbeitet.

Fraktion IIa) war ein Liquidum vom Kp. 80–140 (sehr wenig),  
Fraktion IIb) war ein Liquidum vom Kp. 141–162° (Hauptmenge).

Ib und IIb wurden nochmals zusammen rektifiziert und führten zu

- III. 3,1 g Säure vom Siedepunkte 138–154°
- und IV. 3,3 g Säure vom Siedepunkte 155–163°.

Das aus dieser letzten Fraktion dargestellte Silbersalz ergab folgende Analysenresultate:

0,1076 g Substanz:	0,0598 g = 55,57% Ag;
0,0987 g Substanz:	0,0547 g = 55,42% Ag.
Ber. für Silberbutyrat:	55,38% Ag.

Damit ist die Entstehung von Buttersäure aus dem Aldol der Brenztraubensäure nachgewiesen.

#### M. Vergleichende und quantitative Versuche über die Produkte der Butylgärung in Abwesenheit und Gegenwart des „Abfangmittels“.

Acht Jenaer 5-l-Stehkolben wurden beschickt mit je  $\alpha$ ) 40 g Kreide,  $\beta$ ) mit den erforderlichen Nährsalzen, entsprechend der Zusammensetzung der m. N., sowie mit  $\gamma$ ) 4 g Pepton.

In vier von diesen Kolben wurde eine Lösung von je 100 g Stärkesirup in 4 l Wasser eingefüllt und dann dreimal im strömenden Wasserdampf sterilisiert. Die anderen Kolben dienen zu einem Abfangversuch; sie wurden zunächst mit 100 g Sirup in 3 l Wasser beschickt und ebenfalls sterilisiert. Vor der Be-

impfung wurde ein jeder dieser letzten 4 Kolben mit einer Lösung von 200 g krystallisierten Natriumsulfits in 1000 ccm H<sub>2</sub>O versetzt, die für sich keimfrei gemacht war. Das Volumen war auch hier 4 l pro Kolben. Da jeder 100 g Stärkesirup = 85 g Hexose erhalten hatte, so waren überall 21,2 g Zucker pro 1000 ccm zugegen; in den Abfangkolben betrug die Sulfitkonzentration 2,4%, da das verwendete krystallisierte Salz einen Gehalt von 48% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> besessen hatte und 50 g des Salzes im Liter vorhanden waren.

Alle 8 Kolben wurden mit je 40 ccm einer gärkräftigen Reinkultur des *Bacillus butylicus* Fitz besät und bei 38° belassen. Nach 2 Tagen wurde in den Sulfitgefäßen das Wachstum deutlich, während sich die Kontrollkolben bereits in voller Gärung befanden und einen mehrere Zentimeter hohen Schaum aufwiesen. Die nach 23 Tagen gemachten Ausstriche auf Traubenzuckeragar ergaben die Reinheit aller 8 Ansätze. Nach dieser Zeit fingen wir mit der Aufarbeitung der Versuche an; sie hatten etwas länger gestanden, da der Stärkesyrup langsamer als reiner Traubenzucker vergoren wurde.

a) Abfangversuch.

Von jedem der 4-l-Kolben wurden 200 ccm entnommen und gemischt, nachdem zuvor überall die Anwesenheit von Acetaldehyd qualitativ festgestellt worden war. Zwei parallele Aldehyddestillationen (mit je 200 ccm) ergaben in je 2 Kontrollbestimmungen folgenden Gehalt an Acetaldehyd pro 100 ccm Urlösung:

I. 0,1420 g	und	0,1411 g,
II. 0,1436 g	und	0,1428 g.

Hieraus berechnet sich der Durchschnittswert von 0,1424 g Acetaldehyd für 100 ccm Gärgut.

400 ccm des gemischten Gärgutes dienten zur Ermittlung des nicht vergorenen Zuckers. Nach Ausfällung des freien Sulfits mit einer konz. Lösung von 30 g Bariumchlorid wurde mit 5 g Calciumcarbonat zwecks Austreibung des Acetaldehyds gekocht. Nach quantitativem Auswaschen der unlöslichen Salze wurde das Filtrat konzentriert und nach Hydrolyse etwa noch vorhandener Maltose oder Dextrine die restierende Hexosemenge bestimmt. Es ergab sich, daß pro Liter 2,5 g zugegen, also 21,2 — 2,5 g = 18,7 g Zucker vergoren waren.

Da vom *Bacillus* demnach pro Liter 18,7 g Kohlenhydrat umgesetzt waren, berechnet sich die Aldehydausbeute zu

$$\frac{10 \cdot 0,1424 \cdot 100}{18,7} = 7,61\%.$$

Zur Abscheidung entstandenen Alkohols wurde das Gärgut direkt destilliert, wobei auch durch Dissoziation des Sulfitkomplexes freiwerdender Acetaldehyd mit überging. Um eine spätere Kondensation desselben zu Produkten, welche die Deutlichkeit der Analysenresultate beeinträchtigen könnten, zu verhindern, verfahren wir folgendermaßen:

Aus jedem „Abfangkolben“ wurden die restierenden 3,8 l Gärgut in hohe Destillierblasen eingefüllt und in diesen Gefäßen mit je 20 g Kreide und einer Lösung von 250 g milchsaurem Kalk in 2 l Wasser versetzt. Calciumlactat wurde zur Ausfällung des überschüssigen Sulfits gewählt, da es ein leicht wasserlösliches Erdalkalisalz einer aus schwefelsaurer Lösung mit Wasserdämpfen so gut wie nicht flüchtigen Säure ist.

Von jedem der vier in dieser Weise hergestellten Gemische wurden je 4 l Destillat aufgefangen. Von besonderen Vorsichtsmaßregeln zur quantitativen Gewinnung des leicht flüchtigen Aldehyds konnte abgesehen werden, da seine Menge bereits anderweitig festgestellt worden war (s. oben). Die alkoholhaltigen Destillate aller 4 Kolben wurden vereint und durch Anreicherung auf 450 ccm gebracht, wobei die Zugabe von etwas Schwefelsäure mitgewandertes Ammoniak zurückhielt. Das dann neutral reagierende Destillat wurde zwecks Entfernung des Acetaldehyds mit 55 g m-Phenylendiamin-chlorhydrat<sup>1)</sup> und 100 ccm Wasser versetzt und 1 Stunde am Energie-Rückflußkühler gekocht; darauf wurden 330 ccm am absteigenden Kühler abgetrieben. Das Übergegangene, das jetzt frei von Aldehyd war, wurde bis zum Volumen von 160 ccm systematisch konzentriert. Der Alkohol wurde nunmehr mit Pottasche abgeschieden und mittels einer Pipette abgehoben; etwa 2 ccm wurden dabei nicht erfaßt; der Alkohol wurde sodann über geglühtem Kupfersulfat energisch getrocknet. Nach der Entwässerung wurde in einen kleinen Destillierkolben hinein filtriert und der Kupfersulfatrückstand auf dem Filter mit wenigen ccm absoluten Äthers ausgewaschen. Bei Destillation am mehrkugeligen Birektifikator ging bis auf

<sup>1)</sup> C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 98, 141. 1919.

den ätherhaltigen Verlauf der gesamte Kolbeninhalt bei 78—81° über. Die Menge dieses Destillats macht 36,2 g aus, die des Rückstandes im Kolben rund 0,5 g. Letzterer besaß nicht den Geruch des Butylalkohols und kann auch deshalb nicht daraus bestanden haben, da er sich klar mit dem gleichen Volumen Wasser mischte. Die ursprünglich von der Potasche nicht abheb-  
 • baren 2 ccm setzen wir mit zweimal 0,8 g = 1,6 g in die Ausbeuteberechnung ein. Es ergibt sich so die Entstehung von (36,2 + 0,5 + 1,6) g = 38,3 g Äthylalkohol. Da pro Liter Gärgut 18,7 g Zucker umgesetzt sind und obige Alkoholmenge bei der Verarbeitung von viermal 3,8 = 15,2 l gefunden wurde, so sind an Weingeist  $\frac{38,3 \cdot 100}{15,2 \cdot 18,7} = 13,47\%$  vom vergorenen Zucker gebildet.

Demnach erzeugt der Erreger, der für gewöhnlich Butylalkohol hervorbringt, unter den Bedingungen des „Abfangverfahrens“ als alkoholisches Produkt nur Weingeist. Offenbar werden die sonst zum Butylalkohol führenden Vorgänge durch den Eingriff in die maßgebliche Zwischenstufe unterbunden.

Zur Ermittlung der gebildeten Säure wurden die Rückstände der Alkoholdestillation vom kohlen-sauren und schwefel-sauren Calcium abfiltriert, mit reichlich heißem Wasser ausgewaschen und die vereinigten Filtrate bis auf etwa 10 l eingedampft. Aus den in Lösung befindlichen Kalksalzen wurden durch Umsetzung mit etwas überschüssiger Soda die Natriumverbindungen bereitet. Das Filtrat vom gründlich ausgewaschenen Calciumcarbonat machte nach Einengung 2415 ccm aus. Es gelangten 15,2 l Gärgut mit einem anfänglichen Zuckergehalt von 21,2 g pro 1000 ccm, also im ganzen von 15,2 · 21,2 g Zucker, zur Aufarbeitung. Demnach sind die Gärungsprodukte von 50 g angewendetem = 44,1 vergorenem Zucker in 2415 ·  $\frac{50}{21,2 \cdot 15,2}$  ccm = 374,8 ccm obiger Lösung enthalten.

Durch einfaches Ausäthern lassen sich aus der angesäuerten Lösung die Fettsäuren nicht isolieren, da Milchsäure mit extrahiert wird. Daher wurden im Vakuum 375 ccm der alkalischen Lösung bis zur Syrupkonsistenz eingeeengt und nach dem Ansäuern durch Wasserdampf 10,8 l Flüssigkeit übergetrieben. Diese Prozedur wurde abgebrochen, da bei dem vorliegenden Gemisch organischer Substanzen wegen der Neubildung von Ameisensäure



fortgesetzt ein schwach sauer reagierendes Destillat übergang<sup>1)</sup>. Dasselbe zeigte noch einen geringen Gehalt an  $\text{SO}_2$  und starke Reaktion auf Ameisensäure, deren Gegenwart durch Erwärmen eines aliquoten Teiles mit Quecksilberchlorid, Kochsalz und Natriumacetat (Kalomelreaktion) nachgewiesen wurde.

Die Fortschaffung der Ameisensäure durch Behandlung mit Chromsäure erscheint nicht empfehlenswert, da dieses oxydierende Agens auch Buttersäure angreift<sup>2)</sup>. Deshalb wurde die Ameisensäure nach der Methode von Neuberg und Brasch<sup>3)</sup> durch Mercurisulfat beseitigt. 8 l Destillat wurden mit Natriumcarbonat neutralisiert und mit einem kleinen Überschuß daran versetzt. Die Flüssigkeit wurde dann auf etwa 1 l eingeeengt und in einen Rundkolben mit aufgesetztem, gut wirkendem Rückflußkühler übergespült; durch sein offenes Ende wurde eine Lösung von 300 g Mercurisulfat in der gerade nötigen Menge 20%iger Schwefelsäure hinzugegeben, darauf wurde  $1\frac{1}{2}$  Stunde gekocht. Nach dem Erkalten wurde vom ausgeschiedenen Oxydulsalz abfiltriert, Schwefelwasserstoff bis zur vollständigen Ausfällung des Quecksilbers eingeleitet, das  $\text{HgS}$  entfernt und Luft in langsamem Strome bis zur Verdrängung allen in der Flüssigkeit befindlichen Schwefelwasserstoffes hindurchgedrückt. Alsdann wurde die Schwefelsäure durch eine warme Lösung von Bariumhydroxyd ausgefällt, der Überschuß mittels Kohlendioxyd beseitigt und von den Niederschlägen abfiltriert. Dieselben wurden zweimal mit Wasser ausgekocht, um alles fettsaure Salz in Lösung zu bringen, und mit 10 l siedendem Wasser ausgewaschen. Die sehr verdünnte Lösung der fettsauren Salze wurde bis auf 500 ccm eingedickt und von noch ausgeschiedenen kleinen Mengen Bariumcarbonats abfiltriert. Die weiter konzentrierte Flüssigkeit wurde schließlich in einem Meßkolben auf 200 ccm aufgefüllt.

Diese Lösung war frei von Ameisensäure (sowie schwefliger Säure) und entwickelte beim Ansäuern einen schwachen Geruch nach Essigsäure. Eine Menge von 50 ccm diente zur Bestimmung des Gesamtgehaltes an flüchtiger Säure. Sie wurde mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt, eine halbe Stunde unter Rückfluß zur Entfernung von Kohlendioxyd gekocht und dann das am absteigenden Kühler

<sup>1)</sup> Vgl. H. Fincke, diese Zeitschr. 51, 253. 1913.

<sup>2)</sup> O. Hecht, B. 11, 1053. 1878.

<sup>3)</sup> C. Neuberg und W. Brasch, l. c.

mit Wasserdampf übergetriebene Destillat Liter für Liter titriert. Die im sechsten Liter übergehende Flüssigkeit reagierte nicht mehr auf Lackmuspapier. Der Gehalt der verarbeiteten 50 ccm an flüchtiger Säure entsprach 277 ccm  $\frac{n}{10}$ -Natronlauge, der des gesamten Meßkolbeninhaltes also viermal 277 ccm  $\frac{n}{10}$ -NaOH. Da von den ursprünglichen 10,8 l fettsäurehaltigem Destillate 8 l in der oben beschriebenen Weise von Ameisensäure befreit worden und die übrigen in 8 l vorhandenen Fettsäuren (als Natriumsalze) auf ein Volumen von 200 ccm gebracht worden sind, so entspricht der gefundene Säuregehalt, für die gesamten anfänglich aufgefängenen 10,8 l berechnet,  $\frac{4 \cdot 277 \cdot 10,8}{8} = 1495,8$  ccm  $\frac{n}{10}$ -NaOH.

25 ccm vom Meßkolbeninhalte wurden verdünnt und dienten zur Bestimmung des Verhältnisses von Buttersäure zu Essigsäure gemäß dem Verfahren von E. Duclaux<sup>1)</sup>. Die vorliegende Säure erwies sich als reine Essigsäure.

Zur Bestätigung dieses Ergebnisses wurden 100 ccm der Natriumsalzlösung zur Trockene gebracht und mit Weingeist erschöpft. Der abgedampfte Auszug hinterließ 3,7 g Natriumsalz. Eine Probe davon, in ganz wenig Wasser gelöst und mit etwas Schwefelsäure angesäuert, roch nach Essigsäure und schied keine ölige Schicht ab. Das aus 1 g des Natriumsalzes dargestellte Silbersalz gab folgende analytische Daten:

1. 0,1106 g Substanz: 0,0712 g = 64,37% Ag;
  2. 0,0847 g Substanz: 0,0544 g = 64,23% Ag.
- Ber. für Silberacetat: 64,66% Ag.

Die bei der Gärung im „Abfangversuch“ gebildete Menge Essigsäure findet man folgendermaßen: 149,6 ccm n-NaOH sind das Äquivalent der Essigsäure, die aus 50 g dem Bacillus dargebotenen Kohlenhydrat hervorgegangen sind. Da von 21,2 g angewendetem Zucker 18,7 g vom Erreger verbraucht wurden, so entspricht obige Essigsäure-acidität  $\frac{50 \cdot 18,7}{21,2} = 44,1$  g vergorenem Zucker. Nun sind 149,6 ccm n-Essigsäure = 8,976 g; demnach sind  $\frac{8,976 \cdot 100}{44,1} = 20,35\%$  vom verzehrten Zucker als Essigsäure erschienen.

Somit ergibt sich, daß ebenso wie die Bildung des Butylalkohols auch die der zugehörigen Buttersäure bei Vor-

<sup>1)</sup> E. Duclaux, *Traité de Microbiologie* 3, 385. 1900.

nahme der Butylgärung in Gegenwart des Abfangmittels aufgehoben ist und an ihrer Stelle lediglich Essigsäure auftritt.

#### b) Normalversuch.

In den 4 Kolben ohne schwefligsaures Salz war der Zucker nach 33 Tagen praktisch vollständig vergoren; in einer Mischprobe, zu der aus jedem der 4 Gefäße je 20 ccm Gärgut entnommen wurden, waren nur noch Spuren Kohlenhydrat nachweisbar.

Aus jedem Kolben wurden dann 3,9 l abgefüllt und vereinigt. Die Destillation in zwei Portionen lieferte 10 l Flüssigkeit, worin die durch Gärung erzeugten Alkohole enthalten sein mußten. Durch die übliche Anreicherung, die einmal über verd. Schwefelsäure und einmal über Lauge zwecks Entfernung flüchtiger basischer und saurer Beimengungen geschah, wurden 80 ccm Flüssigkeit erhalten. Daraus wurden die Alkohole mittels Pottasche abgeschieden, mit einer Pipette abgehebert (1 ccm blieb zurück) und über geglühtem Kupfersulfat getrocknet. Die Menge betrug nach einmaliger Fraktionierung 12,1 g, wozu noch der nicht abgetrennte 1 ccm = 0,8 g tritt: die Gesamtausbeute läßt sich zu 13 g veranschlagen. Der Alkohol ging vollständig zwischen 78° und 92° über. Diese Quantität ist zu gering, als daß eine weitgehende Trennung im Äthyl- und Butylalkohol durchführbar gewesen wären. Der letzte Anteil war allerdings mit Wasser nicht mehr beliebig mischbar, sondern schied sich als Öl aus und zeigte den charakteristischen Geruch des Butylalkohols.

Legen wir für den Ertrag an C<sub>2</sub>- und C<sub>4</sub>-Alkohol denselben Quotienten zugrunde, der später bei einem umfangreicheren Ansatz (s. S. 311) ermittelt wurde, so ist das Verhältnis von Äthylalkohol: Butylalkohol gleich 76,3 g: 58,4 g. Wir finden demgemäß die Menge des gebildeten Äthylalkohols durch Multiplikation der Gesamtausbeute (13 g) an Alkoholen mit dem Faktor

$$\frac{76,3}{76,3 + 58,4},$$

und die an Butylalkohol durch Multiplikation mit

$$\frac{58,4}{76,3 + 58,4}.$$

Auf diese Weise errechnet man an Äthylalkohol 7,37 g und an Butylalkohol 5,62 g.

Da zur Isolierung dieser Alkohole viermal  $3,9 = 15,6$  l Gär-  
gut mit einem zum Umsatz gelangten Zuckergehalt von  $21,2$  g  
pro l gedient hatten, so ergibt sich die Ausbeute an

$$\text{Äthylalkohol zu } \frac{7,37 \cdot 100}{15,6 \cdot 21,2} = 2,23\% \quad \text{und}$$

$$\text{Butylalkohol zu } \frac{5,62 \cdot 100}{15,6 \cdot 21,2} = 1,70\%$$

vom vergorenen Kohlenhydrat.

Die restierende Lösung von Calciumsalzen der bei der Gärung  
erzeugten Säuren wurde von der Kreide getrennt. Diese wurde  
ausgewaschen, worauf die vereinigten Filtrate etwas eingeeengt  
wurden; mit Soda erfolgte dann in der Wärme Umwandlung in  
die Natriumverbindungen, deren Lösung nach gründlichem  
Auswaschen des gefällten kohlen-sauren Kalkes auf  $1000$  ccm  
konzentriert wurde. Darin waren die Gärprodukte von  $15,6$   
 $\cdot 21,2 = 330,7$  g Zucker enthalten (s. zuvor).  $50$  g Zucker entsprechen  
demnach  $\frac{1000 \cdot 50}{330,7} = 151,2$  ccm der Lösung.

$200,0$  ccm der Lösung wurden heiß von den letzten Spuren  
Calcium durch nochmalige Behandlung mit  $20,0$  ccm Natrium-  
carbonatlösung befreit und durch ein trockenes Filter abgegossen.  
Ein Volumen dieser Lösung von  $151,2 + 15,1 = 166,3$  ccm, wel-  
ches  $50$  g umgesetztem Zucker gleichkommt, wurde im Scheide-  
trichter nach dem Überschichten mit alkoholfreiem Äther durch  
 $50$ proz. Schwefelsäure angesäuert. Nach viermaligem Ausschütteln  
wurde die Hauptmenge des Extraktionsmittels am  $6$  kugeligen  
Birektifikator abgetrieben, der Rückstand mit geglühtem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   
getrocknet, vom Äther möglichst befreit und an einem kleinen  
Birektifikator fraktioniert.

Es wurden folgende Portionen aufgefangen:

I. Kp.	34—40°:	Ätherhaltiger Vorlauf,
II. „	41—102°:	Spur,
III. „	103—110°:	0,9 g,
IV. „	111—121°:	1,7 g,
V. „	122—135°:	2,5 g,
VI. „	136—157°:	3,7 g,
VII. „	158—162°:	7,0 g.

Der nach Fraktion VII noch vorhandene Rückstand wurde mit etwas wasserfreiem Äther in ein kleines Kölbchen übergespült und für sich destilliert; so wurde eine letzte Fraktion erhalten:

VIII. Kp. 159°—212°: 1,7 g.

Ihre Hauptmenge ging bei 160° über (war also gleichfalls Buttersäure), worauf das Thermometer rasch stieg und sich im seitlichen Rohr ein Körper vom Aussehen des Milchsäureanhydrids auszuschcheiden begann; sein Siedepunkt war bei 760 mm Druck 256°.

Die (gemäß den Siedepunkten) offenbar keine einheitlichen Substanzen darstellenden Fraktionen V, VI und VIII wurden folgendermaßen auf ihre Zusammensetzung geprüft. Sie wurden wieder vereinigt, und ihr Gesamtgehalt an flüchtiger Säure wurde durch eine Wasserdampfdestillation ermittelt. Bei dieser wurden 1500 ccm aufgefangen; sie verbrauchten 951 ccm  $\frac{n}{10}$ -Natronlauge. In 110 ccm dieses Destillats wurde dann nach der Methode von Duclaux das Verhältnis von Buttersäure zu Essigsäure fast genau gleich 2 : 1 Mol festgestellt. Daraus berechnet sich der den drei Fraktionen V, VI und VIII gemeinsame Gehalt an Buttersäure äquivalent  $\frac{2}{3} \cdot 951$  ccm  $\frac{n}{10}$ -NaOH, d. h. zu 5,58 g, und der an Essigsäure äquivalent  $\frac{1}{3} \cdot 951$  ccm  $\frac{n}{10}$ -NaOH, also zu 1,9 g.

Aus Fraktion IV und VII wurden Silbersalze bereitet, die bei der Analyse folgende Daten ergaben:

Für Fraktion IV:

1. 0,2796 g Substanz: 0,1766 g = 63,16% Ag;
  2. 0,2688 g Substanz: 0,1704 g = 63,39% Ag.
- Ber. für Ag-Acetat: 64,66% Ag.

Für Fraktion VII:

1. 0,3035 g Substanz: 0,1691 g = 55,71% Ag;
  2. 0,2374 g Substanz: 0,1312 g = 55,27% Ag.
- Ber. für Ag-Butyrat: 55,38% Ag.

Nach diesen Zahlen dürfte also die Fraktion IV fast ganz aus Essigsäure bestehen haben, während Fraktion VII als reine Buttersäure zu betrachten ist.

Erhalten sind aus 50 g umgesetztem Zucker rund

an Butter-	säure:	$7,0 \text{ g} + 5,58 \text{ g} = 12,58 \text{ g} = \frac{12,58 \cdot 100}{50} = 25,6\%$
an Essigsäure:		$1,7 \text{ g} + 1,9 \text{ g} = 3,6 \text{ g} = \frac{3,6 \cdot 100}{50} = 7,2\%$

Tabelle VI.

Vergleichende Zusammenstellung der Ergebnisse eines in größerem Umfange ausgeführten einfachen Gäransatzes und des zugehörigen Abfangversuches:

	Buttersäure %	Essigsäure %	Butyl- alkohol %	Ätylalkohol %	Acetalde- hyd %
Abfangversuch . .	0	20,35	0	13,47	7,61
Normalversuch . .	25,16	7,20	1,70	2,23	0

#### N. Die Gewinnung höherer Fettsäuren aus Zucker bei der Butylgärung in rein mineralischer Lösung.

Zur Vornahme ausgedehnterer Versuche mit je 400–600 g Stärkesyrup dienten starkwandige Glasflaschen von 25 l Inhalt. Diese wurden nach sorgfältiger mechanischer Reinigung mit einer 0,5 prozentigen Sublimatlösung gefüllt und mit Glasstopfen verschlossen mehrere Tage lang stehen gelassen. Dann wurde der Inhalt ausgegossen und jedes Gefäß, während der Hals zur Seite gehalten wurde, durch reichliche Mengen sterilen Wassers von Resten des Quecksilbersalzes befreit.

Die erste Flasche wurde noch einen Tag lang mit 70proz. Alkohol gereinigt, doch erwies sich diese Maßnahme als überflüssig, wie die bakteriologische Prüfung aller Versuche zu Beginn und Ende der Gärung zeigte; auch die nicht mit Sprit behandelten Gefäße enthielten während der durchschnittlich vierwöchentlichen Gärungszeit durchweg Reinkulturen. Einen ausreichenden Verschluss ergaben Wattebauschstopfen, die im Heißluftschranke keimfrei gemacht waren.

Die Nährflüssigkeit wurde in der Weise zubereitet, daß  $\alpha$ ) die Lösung des Stärkesyrups in Leitungswasser,  $\beta$ ) die Kreide und  $\gamma$ ) die Auflösung der Mineralstoffe jede für sich sterilisiert und in den zur Aufnahme inzwischen hergerichteten Gärgefäßen gemischt wurden.

$\alpha$ ) Der Stärkesyrup war in einem großen emaillierten Kochtopf mit gut schließendem Deckel in etwa 15 l Wasser gelöst und über der Flamme an drei aufeinander folgenden Tagen je eine halbe Stunde gekocht. Die Lösung war dann noch warm mittels eines großen trocken sterilisierten Trichters möglichst rasch in die Flaschen eingefüllt.

$\beta$ ) Die Kreide, 250 g für jeden Ansatz, war dreimal auf 180° erhitzt und schnell in die Flasche eingeschüttet.

γ) Die Nährsalze waren in zwei Portionen, und zwar

a) 15 g Dikaliumphosphat,

b) 10 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,

5 g  $\text{MgSO}_4$ ,

0,3 g NaCl,

0,15 g  $\text{FeSO}_4$  und

0,15 g  $\text{MnSO}_4$ .

in kleinen Erlenmeyer-Kölbchen in wenig Wasser gelöst, in strömendem Dampfe sterilisiert und gleichfalls in die Flaschen gebracht.

Bis dahin hatte als Schutz vor Infektionen der zugehörige Glasstopfen gedient. Nachdem sodann die Maische gut durchgemischt, mit 100 ccm einer Reinkultur des Bac. butylicus Fitz versetzt und nochmals geschüttelt worden war, wurde der Glasstöpsel gegen den sterilen Watteverschluß ausgetauscht und jedes Gefäß im Brutschrank bei 37–38° sich selbst überlassen.

Tabelle VII.

Nr.	Syrup g	Gelpft am	Frei von Zucker am	Beginn der Auf- arbeitung	Bemerkungen
I	450	19. IV. 1920	10. V. 1920	12. V. 1920	Bei der Aufarbeitung verunglückte die Hälfte
II	600	23. IV. 1920	11. V. 1920	14. V. 1920	
III	500	29. IV. 1920	31. V. 1920	1. VI. 1920	
IV	450	30. IV. 1920	31. V. 1920	1. VI. 1920	
V	530	12. V. 1920	8. VI. 1920	8. VI. 1920	
VI	575	18. V. 1920	10. VI. 1920	12. VI. 1920	
VII	600	20. V. 1920	12. VI. 1920	14. VI. 1920	
VIII	630	5. VI. 1920	20. VII. 1920	27. VII. 1920	
IX	600	8. VI. 1920	20. VII. 1920	28. VII. 1920	

Vorhanden waren die Umsetzungsprodukte von

4945 g

– 250 g =  $\frac{1}{3}$  vom Ansatz III

4695 g Syrup mit 85% Hexosegehalt = 3990 g Traubenzucker.

Der Inhalt eines jeden zu Ende gegorenen Behälters wurde in zwei gleiche Teile geteilt, die sofort destilliert wurden. Da die kohlenstoffreicheren, mit Wasserdämpfen noch z. T. flüchtigen Säuren der  $\text{C}_6$ -,  $\text{C}_8$ - und  $\text{C}_{10}$ -Reihe schwache Säuren sind und ihre Kalkverbindungen demzufolge teilweise hydrolytischen Zerfall erleiden, so wurde jeder Beschickung etwas Natronlauge zugesetzt. Vom Inhalt des Gefäßes, ca. 7,5 l, wurden jedesmal  $\frac{2}{3}$  übergetrieben.

### Die Alkohole.

Diese Destillate, in denen die gesamten, bei der Gärung gebildeten Alkohole enthalten waren, wurden durch wiederholte Konzentration allmählich auf ein kleines Volumen gebracht, miteinander vereinigt, zuletzt wiederum zur Befreiung von flüchtigen sauren und basischen Verunreinigungen sowohl über Natronlauge als Schwefelsäure destilliert und schließlich mit Pottasche gesättigt, die 195 ccm eines Alkoholgemisches aussalzte. Nach dem Trocknen über anhydrischem Kupfersulfat wurde dieses Alkoholgemenge, dessen Gewicht 147 g betrug, an einem vierkugeligen Birektifikator langsam destilliert. Nach achtmaligem Durchfraktionieren und Vereinigung der gleichsiedenden Anteile wurden gewonnen:

70,3 g	vom Kp.	78—81°	,
6,0 g	„	„	82—94°
Spur	„	„	95—111°
9,8 g	„	„	112—116°
48,6 g	„	„	116—117°
134,7 g			

Das Verhältnis des Sprits zum Butylalkohol war demnach ungefähr = 76,3 : 58,4. Ein letzter Destillationsrest von ca. 1 g roch brenzlich und sott zwischen 118 und 120°. Höhere Alkohole wurden nicht beobachtet.

### Die Fettsäuren.

Die nach Abtreiben der Alkohole verbliebenen Rückstände wurden von Calciumcarbonat noch heiß abfiltriert (Filtrat I) und die im wesentlichen aus Kreide bestehenden Niederschläge auf dem Filter mit viel heißem Wasser ausgewaschen, um die weniger löslichen Calciumsalze der höheren Fettsäuren möglichst vollständig in das Filtrat I zu bekommen. Die ausgelaugten Niederschläge wurden getrocknet und Filtrat I wurde eingedampft, bis Kristalle die Flüssigkeit zu durchsetzen begannen. Jedes so vorbereitete Quantum wurde gesammelt, bis der letzte Gäransatz verarbeitet war.

Alsdann wurden die eingengten Filtrate I zusammen auf ein Volumen von 12 l gebracht und mit einer konzentrierten Sodalösung in der Wärme umgesetzt. Vom ausgefallenen Calciumcarbonat wurde abfiltriert (Filtrat II), der Niederschlag nochmals mit ganz verdünnter Sodalösung ausgekocht, wiederum



abfiltriert (Filtrat III) und sorgfältig ausgewaschen. Die erwähnten getrockneten Niederschläge wurden fein gepulvert und gleichfalls mit verdünnter Natriumcarbonatlösung in der Wärme ausgezogen. Es wurde abfiltriert (Filtrat IV) und der Niederschlag planmäßig ausgewaschen. Diese Operation wurde wiederholt (Filtrat V). Die Filtrate II bis V wurden zusammen eingengt, bis feste Substanz sich auszuscheiden begann.

Diese von Krystallen durchsetzte Lösung wurde portionsweise im Scheidetrichter mit alkoholfreiem Äther überschichtet, mit 50 proz. Schwefelsäure angesäuert und je dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Da die Grenze zwischen ätherischer und wässriger Schicht sich nur langsam ausbildete, so wurde die Trennung durch etwas Aceton befördert. Der Äther wurde verjagt, sein Rückstand mit geglühtem Natriumsulfat behandelt, filtriert, das Glaubersalz mit entwässertem Äther ausgewaschen, nochmals mit Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert, mit Äther nachgespült und der Äther wiederum soweit als möglich auf dem Wasserbade am Birektifikator abgetrieben. Dieser Rückstand wurde in 4 Portionen aus einem Ölbad am 4 kugeligen Birektifikator fraktioniert, bis bei einer Außentemperatur von 210° der letzte bei 162° flüchtige Anteil übergegangen war. Die einander entsprechenden Fraktionen der 4 Operationen wurden vereinigt:

Fraktion a) 37–98° = 111 g (äther- und acetonhaltig),  
 „ b) 99–127° = 230 g (Ameisensäure, Essigsäure und etwas Buttersäure),  
 „ c) 128–152° = 413 g (Mischfraktion Essigs. u. Butters.),  
 „ d) 153–162° = 494 g (fast reine Buttersäure).

Keine der 4 Fraktionen zeigte optische Aktivität.

Der bei diesen Fraktionierungen nicht übergegangene Anteil wurde mittels getrockneten Äthers herausgespült und wog nach Abdunsten desselben 154 g.

Dieser Rückstand lieferte bei der Fraktionierung im Vakuum folgende Anteile:

Tabelle VIII.

Nr.	Druck mm	Temperatur Grad	Menge g	Eigenschaften
I	14	65–80	31,0	flüssig
II	13	81–90	17,4	"
III	13	91–120	28,5	"
IV	13	121–145	34,0	dickflüssig
V	13	146–180	32,5	von Krystallen durchsetzt.
			143,4	

Die Fraktionen I, II und III wurden zur Entfernung noch beigemengter Buttersäure jede mit dem 10fachen Volumen Wasser durchgeschüttelt, die öligen Schichten mit Äther aufgenommen, mit Natriumsulfat getrocknet und vom Äther befreit; dann wurde jede Fraktion für sich rektifiziert. Die einander entsprechenden Portionen wurden vereinigt und von neuem rektifiziert. Gewonnen wurden so (bei gewöhnlichem Druck):

- |                            |                             |
|----------------------------|-----------------------------|
| A. 5,1 g vom Kp. 160–162°, | C. 15,0 g vom Kp. 167–185°, |
| B. 6,0 g „ „ 163–166°,     | D. 14,5 g „ „ 186–220°.     |

Die oben angeführten Fraktionen Nr. IV und V enthielten nachweislich Lactid. Die Milchsäure, die als normales Gärungsprodukt auftritt, gelangte mit dem Äther in die Fettsäuregemische, in denen sie vielleicht auch besonders löslich ist.

Schon bei gewöhnlicher Temperatur, besonders aber beim Erhitzen auf 150° in Gegenwart von Säure, entsteht dann Lactid. Da Milchsäureanhydrid unter 12 mm Druck bei 138° siedet, so mußte es sich in den Fraktionen IV und V der Vakuumdestillation vorfinden.

Zur Verseifung von Lactid versetzten wir die betr. Fraktionen mit je 200 ccm 10proz. Kalilauge und erwärmten auf dem Wasserbade eine halbe Stunde; das Lactid war dann vollständig aufgespalten. Die in einen Scheidetrichter umgefüllte Flüssigkeit wurde mit 50%iger  $H_2SO_4$  angesäuert, die wässrige Schicht von dem sich abscheidenden Öl abgelassen, dieses nochmals mit Wasser gewaschen, in Äther aufgenommen und mit Natriumsulfat getrocknet. Die durch Abtreiben des Lösungsmittels zurückbleibenden Fettsäuren aus den Fraktionen IV und V wurden gemeinsam mit den in Fraktion D enthaltenen (aus den Portionen I–III stammenden) höheren Fettsäuren einer Rektifikation unterworfen. Wir erhielten so die Anteile:

- |                 |                        |
|-----------------|------------------------|
| VI              | Kp. 175–200° = 10,2 g, |
| VI <sub>1</sub> | „ 201–208° = 3,8 g,    |
| VI <sub>2</sub> | „ 209–210° = 2,5 g,    |
| VI <sub>3</sub> | „ 211–225° = 4,4 g,    |
| VI <sub>4</sub> | „ 226–232° = 4,2 g.    |

Da sich zuletzt eine leichte Zersetzung (Gasbildung) bemerkbar zu machen anfang, so wurde weiterhin im Vakuum bei 13 mm Druck destilliert:

- |                 |                       |
|-----------------|-----------------------|
| VI <sub>5</sub> | Kp. 137–145° = 4,3 g, |
| VI <sub>6</sub> | „ 146–165° = 1,4 g,   |
| VI <sub>7</sub> | „ 166–170° = 1,5 g,   |
| VI <sub>8</sub> | „ 171–205° = 2,6 g,   |
|                 | inagesamt: 34,9 g.    |

Die Fraktionen VI bis VI<sub>6</sub> waren wasserklar, VI<sub>7</sub> erstarrte in der Vorlage zu einem festen weißen Körper, während VI<sub>8</sub> gleichfalls fest, jedoch durch braune Partikeln, die zum Schluß übergingen, verunreinigt war. Als Rückstand, aus dem bei einer Temperatur des Ölbadens von 290° außer'gefärbten Nebeln sich nichts mehr verflüchtigte, blieben im Kolben etwa 10 g eines teerartig zähen Materials zurück.

Von den Fraktionen VI sowie VI<sub>5</sub>—VI<sub>7</sub> wurden Silbersalze dargestellt und analysiert; bei VI<sub>5</sub> bis VI<sub>7</sub> wurde in stark alkoholischer Lösung gearbeitet.

Fraktion VI:	0,1910 g Substanz:	0,0986 g = 51,62% Ag.
	Ber. f. Ag-butyrat:	55,38% Ag.
	Ber. f. Ag-capronat:	48,43% Ag.
Fraktion VI <sub>5</sub> :	0,1735 g Substanz:	0,0802 g = 46,23% Ag.
	Ber. f. Ag-capronat:	48,43% Ag.
	Ber. f. Ag-caprylat:	43,03% Ag.
Fraktion VI <sub>6</sub> :	0,1146 g Substanz:	0,0510 g = 44,50% Ag.
	Ber. f. Ag-capronat:	48,43% Ag.
	Ber. f. Ag-caprylat:	43,03% Ag.
Fraktion VI <sub>7</sub> :	0,2831 g Substanz:	0,1167 g = 41,22% Ag.
	Ber. f. Ag-caprylat:	43,03% Ag.
	Ber. f. Ag-caprinat:	38,71% Ag.

Aus diesen Analysen ergab sich mit Deutlichkeit, daß jede der obigen 4 Säurefraktionen ein Gemisch von mindestens je zwei Komponenten ist. Das ging auch aus einer Schmelzpunktestimmung mit der Substanz aus Anteil VI<sub>7</sub> hervor, die sich bei 14° bis 15° verflüssigte (Caprylsäure F. 16°, Caprinsäure F. 31°). Die Mengen waren zu klein, als daß eine weitere Aufteilung und Isolierung der C<sub>8</sub>- und C<sub>10</sub>-Säure möglich gewesen wäre.

Eine einheitliche Verbindung lieferte schließlich Fraktion VI. 8,0 g derselben wurden im Scheidetrichter noch zweimal mit viel Wasser durchgeschüttelt, davon abgetrennt und in Äther aufgenommen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und dann fraktioniert. Aus der bei 203—205° übergegangenen Hauptfraktion von 4,1 g wurde die Silberverbindung bereitet, deren Ag-Gehalt fast gleich dem theoretischen für capronsaures Salz war.

0,1324 g Substanz:	0,0646 g = 48,80% Ag.
Ber. f. Ag-capronat:	48,43% Ag.

Die Bildung kohlenstoffreicher Säuren bei reiner Butylgärung des Zuckers in vollkommen mineralischer Lösung ist damit erwiesen.

## Autorenverzeichnis.

- Abderhalden, Emil.** Ergänzungen zu der Arbeit „Gibt es Abwehrfermente gegen Polysaccharide?“ von E. Herzfeld und R. Klinger. S. 161.
- Arinstein, Bernhard s. Neuberg.**
- Baur, Emil und Eugen Herzfeld.** Über Gärung ohne Hefe. S. 96.
- Boas, Friedrich.** Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle. S. 166.
- Ma de Corral, José.** Einfluß der Temperatur auf die aktuelle Reaktion des Blutes. S. 1.
- Costantino, A.** Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des Plasmas und der Blutkörperchen nach I. Bang. S. 140.
- Elias, H. und U. Sarmmartino.** Über die Rolle der Säure im Kohlenhydratstoffwechsel. IV. Mitteilung. Die Beziehungen von Säure und Alkali zur Adrenalin-glykosurie. S. 10.
- Galeotti, Gino †.** S. 117.
- Hári, Paul.** Über einen aus normalem Menschenharn durch Behandlung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugten, rein dargestellten roten Farbstoff. S. 41.
- Herzfeld, Eugen s. Baur.**
- Hirsch, Julius.** Zur Kenntnis des oxydativen Zuckerabbaus im Tierkörper. (Vorläufige Mitteilung.) S. 113.
- Hofvendahl, Agda.** Die Bekämpfung der Cocainvergiftung im Tierversuch. S. 55.
- Kahho, Hugo.** Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenprotoplasmas durch Neutralsalze. I. S. 87.
- Karczag, L.** Studien über Oxydationskatalysen. I. S. 69.
- Klein, W.** Die Cellulosegärung im Pansen des Ochsen und ihre Bedeutung für Stoffwechselforschung. S. 67.
- Luger, Alfred.** Zur Kenntnis der Chininhämolyse. S. 145.  
— Über die Wirkung metallischen Kupfers und Silbers auf Diastase. Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten oligodynamischen Phänomene. S. 153.
- Murschhauser, Hans.** Drehungserscheinungen von Dextrose in Lösungen von tertiärem Natriumphosphat. Die Mutarotation als analytische Methode. S. 215.
- Neuberg, Carl und Bernhard Arinstein.** Vom Wesen der Buttersäure- und Butylalkohol-gärung. Abfangung von Acetaldehyd als Umsetzungsprodukt. Übergang von Brenztraubensäure-aldol in Buttersäure. Entstehung höherer Fettsäuren aus Zucker. S. 269.
- Sarmmartino, U. s. Elias.**
- Shimizu, Tomihide.** Über das Schicksal einiger Polysaccharide im Verdauungskanal bei Säugtieren. S. 227.

- Shimizu, Tomihide. Über die Spaltung von einigen Polysacchariden (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) im Verdauungskanal bei Säugetieren. S. 241.
- Über den Einfluß einiger Polysaccharide (Inulin, Lichenin und Hemicellulose) auf den Eiweißumsatz. S. 245.
- Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Gehirns. S. 252.
- Shimizu, Tomihide. Verhalten des Phrenosins im Tierkörper. S. 263.
- Verhalten des Pyrrols im Tierkörper. I. Mitteilung. S. 266.
- Wellmann, O. Über den Stoff- und Energieumsatz junger Ferkel auf Grund von Fütterungsversuchen, verbunden mit der Zerlegung ganzer Ferkelkörper. S. 119.

---

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

---

Soeben erschien:

# Fortschritte in der anorganisch- chemischen Industrie

an Hand der  
**Deutschen Reichs-Patente**  
dargestellt

Mit Fachgenossen bearbeitet und herausgegeben von  
**Ing. Adolf Bräuer** und **Dr.-Ing. J. D'Ans**

Erster Band  
1877—1917

Erster Teil  
Preis M. 460.—

Das Werk stellt sich zur Aufgabe, die Patente der anorganisch-chem. Industrie ebenso zu sammeln und nach sachlichen Gesichtspunkten zu ordnen und zu besprechen, wie es Friedlaender für die Patente der organisch-chem. Fabrikationszweige in seinem allgemein bekannten Werk „Fortschritte der Teerfarbenfabrikation“ laufend durchführt. — Es wurde ein überaus reiches Material (4000 Patente) bearbeitet. Alle 1910 noch bestehenden und von da ab erteilten Patente wurden vollständig aufgenommen. Jeder Abschnitt ist mit einer Einleitung über die Entwicklung des betreffenden Zweiges der Technik versehen. Daran schließt sich eine nach sachlichen Gesichtspunkten aufgestellte tabellarische Übersicht der Patentliteratur. Nach dieser geordnet folgen dann die Patentschriften selbst, die mit den wichtigsten amtlichen Daten und, wo erforderlich, mit kurzen Kritiken und Hinweisen auf entsprechende Auslandspatente versehen sind. Das Werk ermöglicht es, den Stand der Patentliteratur auf anorg.-chem. Gebiete mit geringstem Zeitaufwand zu übersehen und sich authentisch darüber zu unterrichten; es gibt gleichzeitig eine ausgezeichnete Übersicht über die chemischen und technischen Verfahren zur Herstellung der Erzeugnisse der anorg.-chem. Großindustrie. — Teil 2 und 3 des ersten Bandes werden in Jahresfrist folgen. Der zweite Band, enthaltend die Patente von 1918—1921, soll im nächsten Jahre erscheinen.

---

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

---

**FILTRIR PAPIER**

*In unerreichter Vollkommenheit und Vielseitigkeit liefern wir auf Grund 30jähriger Erfahrung unsere Filtrirpapier-Sonderheiten für die Zwecke der Technik und analytischen Chemie. Beim Einkauf achte man auf unsere in allen Kulturstaaen eingetragenen Etiketten und Schutzmarken. Carl Schleicher & Schüll, Düren (Rheinland)*

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Soeben erschien:

## **Körperbau und Charakter**

Untersuchungen  
zum Konstitutions-Problem und zur Lehre von den Temperamenten

Von

**Dr. Ernst Kretschmer**

Privatdozent für Psychiatrie und Neurologie in Tübingen

Mit 31 Textabbildungen — Preis M. 56.—; gebunden M. 66.—

Soeben erschien:

## **Einführung in die allgemeine Konstitutions- und Vererbungs-pathologie**

Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte

Von

**Dr. Hermann Werner Siemens**

Mit 80 Abbildungen und Stammbäumen im Text

Preis M. 64.—

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

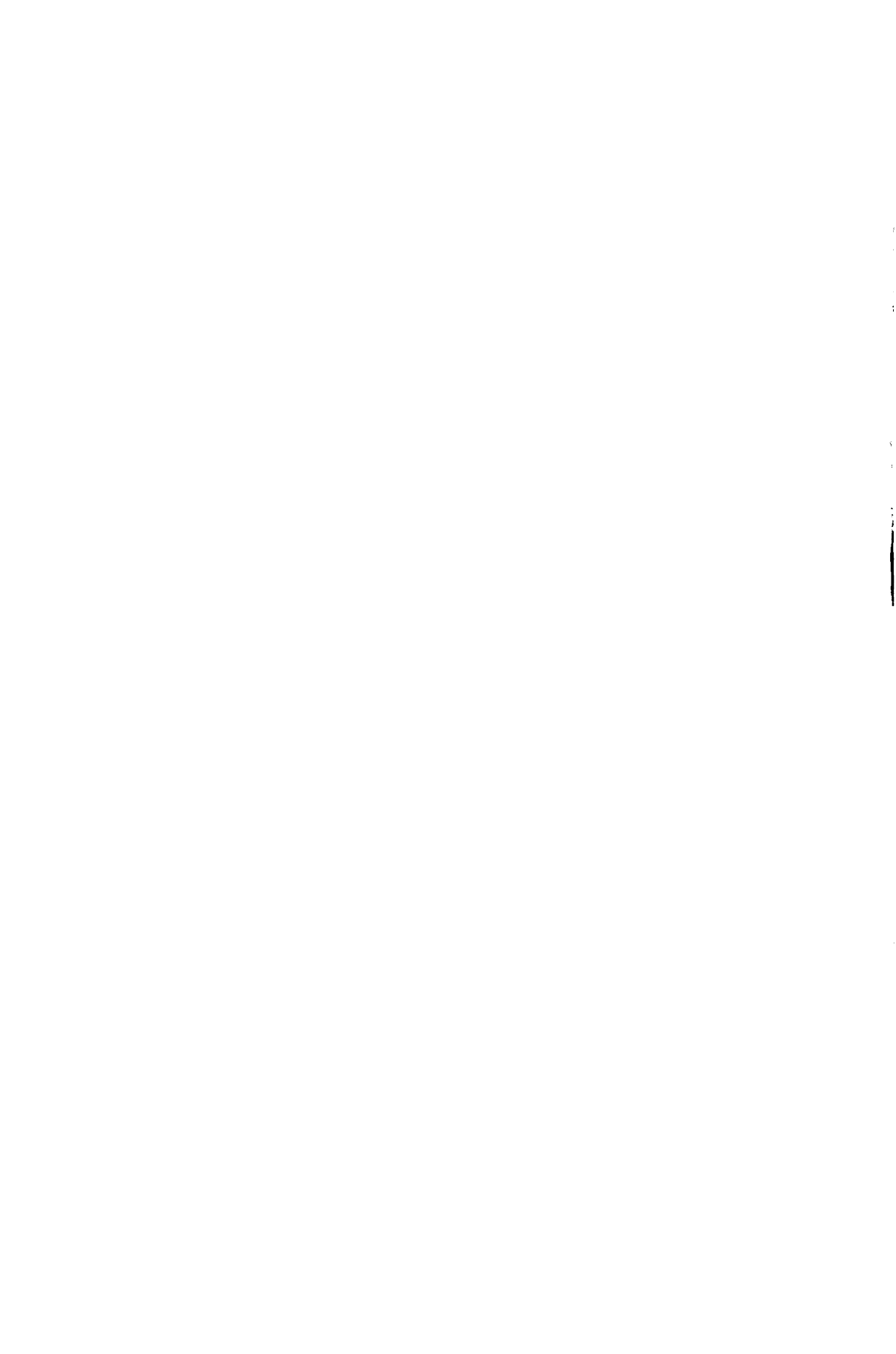
Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100









STACKS

141717

