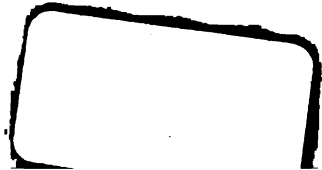
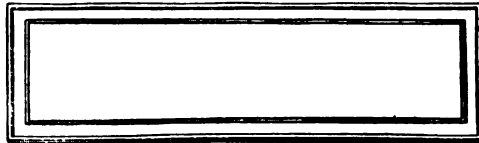
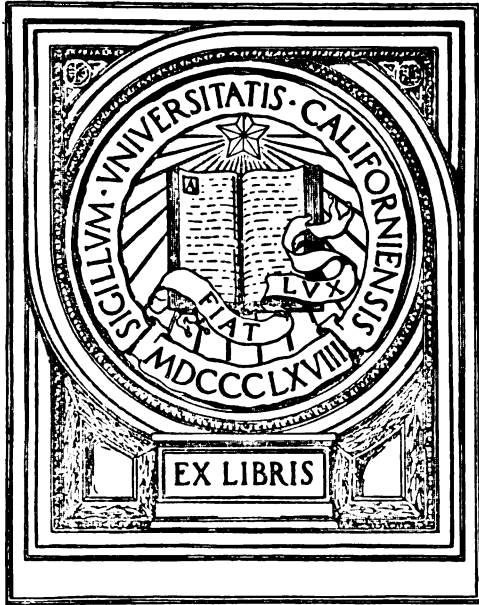


ISCHE  
RIFT

6  
M...

UNIVERSITY OF CALIFORNIA  
MEDICAL CENTER LIBRARY  
SAN FRANCISCO













Vertical line on the left side of the page.

Vertical line on the right side of the page.

JAN 2 1962

**Biochemische Zeitschrift**

San Francisco, 22

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Napoli, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, H. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, H. Friedberger-Greifswald, S. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, P. Härl-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Häggland-Åbo, Y. Henri-Paris, Y. Henriques-Kopenhagen, E. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, H. Jacoby-Berlin, F. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., E. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, F. A. Levine-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michaelis-Nagoya, H. Moilich-Wien, H. Murschauer-Düsseldorf, W. Norast-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, E. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Fohl-Breslau, Ch. Focher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, F. Boas-Berlin, H. Sachs-Haidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, E. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, S. F. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanasawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappelner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wiechowki-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgenuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

**C. Neuberg-Berlin****Hundertvierundsiebzigster Band**

Erstes bis drittes Heft

Abgeschlossen am 6. Juli 1926



Berlin

Verlag von Julius Springer

1926

Die

## Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28,—.

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

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hiltorfstr. 18, zu richten.*

*Das Honorar beträgt M 40,— für den 16 seitigen Druckbogen.*

*Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.*

### Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

174. Band.

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1/3.

	Seite
<b>Sterkin, Emmanuel.</b> Zur Frage nach dem Einfluß der Ca <sup>++</sup> - und K <sup>+</sup> -Ionen auf den Blutzuckerspiegel. . . . .	1
<b>Bona, P. und H. Kleinmann.</b> Untersuchungen über die Beziehung zwischen Substratdispersität und Fermentwirkung mittels einer neuen Methode zur Bestimmung der fermentativen Fettspaltung	18
<b>Kleinmann, Hans.</b> Zur Methodik der nephelometrischen Phosphorsäurebestimmung. . . . .	43
<b>Erlandsen, Lars.</b> Über die Löslichkeit von Cholesterin in Äthyl- und Methylalkohol bei verschiedenen Temperaturen . . . . .	53
<b>Völker, Hans.</b> Zur Wirkung des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel	55
<b>Botstiber, Georg.</b> Versuche über die analytische Verwendbarkeit der verschiedenen Oxydationsfähigkeit organischer Substanzen. . .	68
<b>Stappuhn, O. und A. Timofejewa.</b> Über das Wesen der Autolyse. IV. Mitteilung: Weitere Beiträge zur Beeinflussung der Autolyse durch Jod . . . . .	84

*Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe S. Umschlagseite.*



# Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, Y. Henri-Paris, Y. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michaelis-Nagoya, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertvierundsiebzigster Band

Berlin

Verlag von Julius Springer

1926

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig

# Inhalt.

	Seite
<b>Sterkin, Emmanuel.</b> Zur Frage nach dem Einfluß der Ca <sup>++</sup> - und K <sup>+</sup> -Ionen auf den Blutzuckerspiegel . . . . .	1
<b>Rona, P. und H. Kleinmann.</b> Untersuchungen über die Beziehung zwischen Substratdispersität und Fermentwirkung mittels einer neuen Methode zur Bestimmung der fermentativen Fettspaltung	18
<b>Kleinmann, Hans.</b> Zur Methodik der nephelometrischen Phosphorsäurebestimmung . . . . .	43
<b>Erlandsen, Lars.</b> Über die Löslichkeit von Cholesterin in Äthyl- und Methylalkohol bei verschiedenen Temperaturen . . . . .	53
<b>Völker, Hans.</b> Zur Wirkung des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel	55
<b>Botstiber, Georg.</b> Versuche über die analytische Verwendbarkeit der verschiedenen Oxydationsfähigkeit organischer Substanzen . . .	68
<b>Steppuhn, O. und A. Timofejewa.</b> Über das Wesen der Autolyse. IV. Mitteilung: Weitere Beiträge zur Beeinflussung der Autolyse durch Jod . . . . .	84
— — — — Über das Wesen der Autolyse. V. Mitteilung: Die Beeinflussung der Proteolyse durch Jod in vivo . . . . .	90
<b>Jendrassik, L. und J. Geldrich.</b> Die Abhängigkeit der Oberflächenspannung des Blutes von der Wasserstoffionenkonzentration . .	99
<b>Nilsson, Ragnar und Erik Sandberg.</b> Zur Kenntnis der Gärungsspaltungen in Milchsäurebakterien und in Hefen . . . . .	106
<b>Sbarsky, B. und D. Michlin.</b> Weitere Versuche über die Reinigung der Oxydoredukase (Schardingerenzym, Perhydridase) . . . . .	116
<b>Janke, Alexander und Stephan Kropacsy.</b> Zur kolorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration . . . . .	120
<b>Nito, José de.</b> Über die Totenstarre und die postmortale Säurebildung in verschiedenen Organen des Tierkörpers, insbesondere unter dem Einfluß von Giften . . . . .	131
<b>Vollmer, Hermann.</b> Photoaktivitätsstudien. IV. Mitteilung: Eigentümliche Farbreaktion einiger photoaktiver Substanzen . . . . .	143
<b>Fukui, Tomio.</b> Über den Einfluß von Saponinen auf den Eisenstoffwechsel und auf die Milz . . . . .	146
<b>Kirchner, Otto und Hermann Nagell.</b> Die Verwendbarkeit der Methoden zur quantitativen Katalase- und Peroxydasebestimmung für Untersuchungen an Bakterien . . . . .	167
<b>Arnd, O. und E. A. Hafner.</b> Zur Biochemie des Strontiums. Die quantitative Bestimmung des Strontiums in Gegenwart von Calcium . . . . .	182
<b>Buckenauer, Hans.</b> Stickstoff- und Fettansatz während der Mast wachsender Schweine bei Ersatz des Futtereisweißes durch Glykokoll und Ammonacetat . . . . .	188
<b>Abelln, I., E. Goldener und B. Kobori.</b> Über die Bedeutung des Fettes für die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse. (Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Schilddrüsenwirkung.) . . . . .	232
<b>Gigon, Alfred.</b> Insulin und Hypophysisextrakt in ihrer Wirkung auf einige Blutbestandteile . . . . .	257
<b>Fehér, D. und St. Vágl.</b> Untersuchungen über die Einwirkung von Nitriten auf das Wachstum der Pflanzen . . . . .	262



	Seite
<b>Richter, A. F.</b> Beitrag zur Begründung der Ausdrücke $r_{(n)}$ und $r_{(p)}$ von D. Giribaldo . . . . .	271
<b>Wwedensky, Nikolaus.</b> Über den Einfluß des Insulins auf die Magensekretion . . . . .	276
<b>Nitschke, A. und H. J. Freyschmidt.</b> Über die Zustandsform des Calciums im Serum . . . . .	287
<b>Bona, P. und Ken Iwasaki.</b> Beiträge zur Frage der Glykolyse. VI. Mitteilung: Über die Verteilung des Phosphors im Blute . . . . .	293
<b>Pauli, Wolfgang und Hugo Witt.</b> Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinen. VI. Mitteilung: Säureglutine . . . . .	308
<b>Lasch, Fritz und Karl Neumayer.</b> Über die Resorption von Calcium bei peroraler Verabreichung . . . . .	333
<b>Fellenberg, Th. von.</b> Untersuchungen über den Jodstoffwechsel. II. — — Versuche über die Jodspeicherung in den einzelnen Organen . . . . .	341
— — Über jodiertes Kochsalz. III. . . . .	355
— — Über jodiertes Kochsalz. III. . . . .	364
<b>Nicolai, H. W.</b> Die Bestimmung der Lipase in keimenden Kiefern-samen. . . . .	373
<b>Meler, Rolf.</b> Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen. Vorläufige Mitteilung . . . . .	384
<b>Wada, Hideo.</b> Über das Verhalten des Harnquotienten C:N bei Fütterung von Schilddrüsen- und Hypophysenpräparaten . . . . .	392
— — Beobachtungen über das Verhalten des Harnquotienten C:N nach der Kastration, während der Schwangerschaft und nach Zufuhr von Ovarialsubstanzen . . . . .	400
<b>Wagner, Oktavian.</b> Zur Kenntnis des Menschenfettes . . . . .	412
<b>Mayer, Paul.</b> Zur Biochemie des Asymmetrieproblems . . . . .	420
<b>Gorr, Günther und Genia Perlmann.</b> Über die Einwirkung des Sauerstoffs auf den Verlauf der alkoholischen Zuckerspaltung . . . . .	425
— — — — Weitere Untersuchungen über die Bildung von Milchsäure aus Methylglyoxal durch Ketonaldehydmutase tierischer und pflanzlicher Herkunft . . . . .	433
<b>Binder-Kotrba, G.</b> Über die Vergärung der Phenylglyoxylsäure . . . . .	440
— — Die Umwandlung von Phenylglyoxal in Mandelsäure durch die Ketonaldehydmutase grüner Pflanzen . . . . .	443
— — Über die Dismutation des Acetaldots durch <i>Bacterium ascendens</i> . . . . .	448
<b>Neuberg, Carl und Ernst Simon.</b> Über die Dismutation des Methyl-äthyl-acetaldehyds . . . . .	452
<b>Neuberg, Carl und Joachim Wagner.</b> Über die Verschiedenheit der Sulfatase und Myrosinase. VIII. Mitteilung über Sulfatase . . . . .	457
<b>Neuberg, Carl und Maria Kobel.</b> Weiteres über die Reaktion einzelner Zuckerarten mit verschiedenen Aminosäuren nebst Bemerkungen über die Vergärung von Aminosäuren-Zucker-Gemischen . . . . .	464
— — — — Neue vergleichende Versuche über die Vergärung von Hexose-di-phosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose und Invertzucker durch Hefensäfte sowie frische Hefen unter verschiedenen Bedingungen . . . . .	480
— — — — Über die Wirkung wechselnder Mengen von Arsenat auf die Phosphorylierung . . . . .	493
<b>Warburg, Otto.</b> Über die Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure . . . . .	497
<b>Helanzan, M.</b> Berichtigung . . . . .	500
<b>Autorenverzeichnis</b> . . . . .	501

## Zur Frage nach dem Einfluß der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Ionen auf den Blutzuckerspiegel.

Von

Emmanuel Sterkin (Charkow).

[Aus dem Laboratorium für Pathologische Physiologie des Medizinischen  
Instituts in Charkow (Ukraine).]

(Eingegangen am 27. April 1926.)

Mit 14 Abbildungen im Text.

Es unterliegt heute keinem Zweifel, daß die Elektrolyte zu den Hauptfaktoren gehören, welche die Statik und Dynamik der Zelle bestimmen. In dem Maße, in dem der Stoffwechsel im Organismus mit demjenigen der Zelle zusammenfällt, ergibt sich durch die Aufklärung der Rolle der Elektrolyte bzw. der Ionen im Mechanismus dieses oder jenes Stoffwechsels die Möglichkeit, an die Lösung einer ganzen Reihe von Problemen heranzutreten, die mit der Physiologie und Pathologie eben dieses Stoffwechsels verbunden sind, insbesondere an die Frage seiner Regulation. In dieser Hinsicht ist das Studium der Rolle der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Ionen von großem Interesse, sowohl was die Erforschung der Wechselbeziehungen zwischen Ca<sup>++</sup>, K<sup>+</sup> und dem Hauptregulationsapparat des vegetativen Nervensystems anbetrifft als auch in bezug auf die Untersuchung der Rolle, welche die Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Ionen als solche im Mechanismus der Stoffwechselregulation durch physikalisch-chemische Faktoren spielen.

Es genügt hier der Hinweis auf eine ganze Reihe systematischer Untersuchungen vieler Autoren. *F. Kraus* und *S. G. Zondek* erklären die Beziehungen zwischen Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> einerseits und den sympathischen und parasympathischen Abteilungen des viszeralen Nervensystems andererseits in der Weise, daß die Wirkung des Ca<sup>++</sup> identisch ist mit der des Sympathicus, und diejenige des K<sup>+</sup> gleichbedeutend mit der des Vagus, daß ferner die Einführung irgend eines der erwähnten Ionen im Überschuß in das Blut eine Erregung des betreffenden Abschnitts des vegetativen Nervensystems hervorruft, und daß schließlich Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> diejenigen Stoffe vorstellen, vermittelt welcher die Wirkung des Sympathicus und Vagus zustande kommt.

Von diesen Beziehungen ausgehend, erscheint die Aufklärung der Rolle dieser Ionen im Mechanismus desjenigen Stoffwechsels, bei dessen Regulierung das viszerale Nervensystem ausschlaggebende Bedeutung besitzt — nämlich im Mechanismus des Kohlehydratstoffwechsels — nicht ohne Interesse. Besonders genau ist in dieser Hinsicht die Rolle des Sympathicus erforscht.

Gegenwärtig kann man als unwiderleglich festgestellt betrachten, daß die Reizung des Sympathicus eine Hyperglykämie hervorruft, wofür der *Claude Bernardsche* Zuckerstich als Beispiel dienen kann. Bei Durchschneidung der Nervi splanchnici tritt aber keine Hyperglykämie auf; diese kommt unter der Wirkung sympathicotroper Stoffe zustande, z. B. von Adrenalin u. a. Die Frage nach der Wirkung des Vagus hingegen, der als ständiger Antagonist des Sympathicus erscheint und von dem man infolgedessen den entgegengesetzten hypoglykämischen Effekt erwarten kann, ist als noch nicht vollkommen aufgeklärt anzusehen. So hatte im Jahre 1894 *Claude Bernard* und sein Mitarbeiter *Battez* (1) den Einfluß der Durchschneidung der Vagi weder auf den normalen Zuckergehalt des Blutes, noch auf den Verlauf gewisser Hyperglykämien (nach dem Zuckerstich, Depankreatisation, Chloroformnarkose usw.) festgesetzt. *Claude Bernard* (1) fand auch nicht den Effekt der Reizung der Nervi vagi, und die zur gleichen Zeit (1894) veröffentlichten Mitteilungen von *Battez* und *Levene* (1) berichten sogar von einer Hyperglykämie bei Vagusreizungen. In letzter Zeit fand *de Corral* (2), nach vorhergehender Ausschaltung der sympathischen Innervation der Leber, bei Reizung der peripheren Vagusenden ober- und unterhalb des Diaphragmas Hypoglykämie. Bemerkenswert ist, daß in jüngster Zeit *Rupp* (3) Hypoglykämie schon bei bloßer Ausschaltung des Sympathicus erhielt, die durch Blockade des Splanchnicus mittels Novocain erreicht wurde. Die Erforschung der Rolle des Vagus im Kohlehydratstoffwechsel erfolgte ebenfalls auf dem Wege der Einwirkung spezifischer pharmakologischer Stoffe, wodurch jedoch gleichfalls keine Aufklärung in dieser Frage erfolgte. *Rajael*, *Wertheimer*, *Battez* (1) und *Mac Guigan* (1) fanden nach Verwendung von großen Dosen Atropin, wobei die Möglichkeit einer zentralen Wirkung nicht ausgeschlossen ist, Hyperglykämie und Glykosurie. Mittlere Dosen von Atropin sind nach *Bornstein* und *Vogel* (4) wirkungslos. *Bornstein* (4) und seine Mitarbeiter weisen auf die Anwesenheit eines geringen, jedoch beständigen hyperglykämischen Effekts nach Injektion von Pilocarpin, Physostigmin, Cholin und Acetylcholin hin. *Torres Umana* (5) fand, daß nach mittleren Dosen von Pilocarpin die Zuckermenge manchmal erhöht ist, manchmal unverändert bleibt und sich nur selten vermindert. Die Erklärung dieses Befundes wird noch durch die Beobachtung von *Bornstein* und *Vogel* (4) erschwert, daß die gleichzeitige Einführung von Adrenalin und Pilocarpin nicht summierend wirkt, d. h. die Hyperglykämie wird nicht stärker, sondern im Gegenteil, die beiden Stoffe hemmen sich gegenseitig.

Wenn also die Rolle des Sympathicus in der Regulation des Kohlehydratstoffwechsels, oder richtiger des Blutzuckerspiegels hinreichend festgestellt erscheint, so ist die Frage nach dem Verhalten des Vagus weniger geklärt. Ebenso wenig wie man den Einfluß des Vagus auf den Blutzuckergehalt leugnen kann, so läßt sich doch keine irgendwie bestimmte Wirkung als erwiesen ansehen.

Ausgehend von diesen Beziehungen zwischen den  $K^+$  und  $Ca^{++}$ -Ionen und dem vegetativen Nervensystem sowie zwischen letzterem und dem



Kohlehydratstoffwechsel, untersuchten in jüngster Zeit eine Reihe von Forschern den Einfluß dieser Salze auf das Bild des Blutzuckers.

So konstatierte *Hochfeld* (6) einen innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegenden Einfluß von K<sup>+</sup> und Ca<sup>++</sup> auf den Kohlehydratstoffwechsel und kam zu dem Schluß, daß das Ca<sup>++</sup> die Konzentration des Blutzuckers im Mittel um 10 Proz. erhöht, das K<sup>+</sup> dagegen um 10 Proz. vermindert. *S. Zondek* und *Benatt* (7) beobachteten nach Einführung von Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Salzen in den Blutkreislauf der Leber durch die V. portae bei der Untersuchung des Blutes der V. hepaticae auf Zucker eine Hyperglykämie nach Ca<sup>++</sup> und eine Hypoglykämie nach K<sup>+</sup>. *Kylin* und *Nyström* (8) fanden eine Hyperglykämie nach Ca<sup>++</sup>. *Barath* (9) erhielt unter 15 Versuchen mit CaCl<sub>2</sub> in drei Fällen Hypoglykämie, in drei Fällen Hypoglykämie und in neun Fällen Schwankungen innerhalb der Norm. *Schenk* (10) fand bei Einfuhr großer Dosen von Ca<sup>++</sup> (bis zu 5 g) in der Regel Hypoglykämie.

Aus dieser kurzen Übersicht ist zu ersehen, daß die Beobachtungsergebnisse über die Wirkung des Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> auf den Blutzucker einander widersprechen und daher kein bestimmtes Urteil über diesen Einfluß zu fällen erlauben.

Dieser Umstand bewog uns, vor allem den Einfluß von Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> auf den Blutzucker normaler Tiere zu untersuchen.

In unseren Versuchen dienten hauptsächlich Hunde als Versuchstiere, in einigen Fällen kamen Kaninchen zur Verwendung. Nach Entnahme zweier Blutproben aus den kleinen Ohrvenen zur Untersuchung des normalen Zuckergehalts wurden den Hunden in eine Vene am Bein und den Kaninchen in die Randvene des Ohres Salzlösungen injiziert. Wir verwendeten CaCl<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O und KCl. Die Salze wurden in nicht mehr als 2 ccm Wasser gelöst, und wurde um so langsamer injiziert, je konzentrierter die Lösung war, so daß die Injektionsdauer der größten Dosen von CaCl<sub>2</sub> ungefähr 1 Minute betrug. Die Tiere blieben für gewöhnlich vollständig ruhig und zeigten auch nach der Injektion keine Veränderung ihres Verhaltens, d. h. es wurde an ihnen weder Unruhe, noch beschleunigte Atmung oder Tremor usw. beachtet. Die wenigen Fälle von Unruhe im Fesselgestell wurden im Versuchsprotokoll besonders vermerkt. Indem wir von den Arbeiten *Hetenyis* (11) und *Jansens* (12) ausgingen, die fanden, daß fast sofort nach der Injektion von Ca<sup>++</sup> dessen Ausscheidung aus dem Blute vor sich geht und daß dieses schon nach 5 Minuten eine kaum merkliche Erhöhung an Ca<sup>++</sup> aufweist, die weiterhin gänzlich verschwindet, entnahmen wir die erste Probe 3 bis 5 Minuten nach der Injektion, und die weiteren nach 10, 20, 30 Minuten, in einigen Fällen nach 40 bis 60 Minuten. Der Zucker wurde nach der Mikromethode von *Bang* bestimmt. Der Fehler der Methode betrug, wie bei allen Untersuchern, bis ± 6 Proz.

Wir gehen nunmehr zur Diskussion der von uns erhaltenen Resultate über. Zunächst (Tabelle I und II) fehlt sowohl in den Versuchen mit CaCl<sub>2</sub> als auch mit KCl ein qualitativ gleichartiger Effekt, einesteils tritt Hyperglykämie auf, anderenteils Hypoglykämie, und in der Mehrzahl der Fälle zeigt die Blutzuckerkurve überhaupt keine Abweichung von der Norm. So stellte sich nur in vier von 22 Versuchen mit CaCl<sub>2</sub> (Versuch 5, 9, 20 und 21) eine die Fehlergrenzen der Methodik deutlich überschreitende Hyperglykämie ein, in vier Fällen (Versuch 1,

Tabelle I.

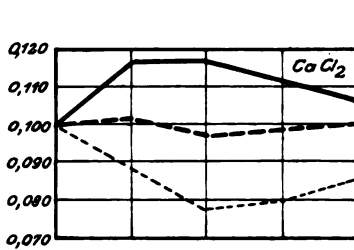
Versuchs-Nr.	Tier	Gewicht kg	CaCl <sub>2</sub> in g		Blutzuckerspiegel in Proz.							Bemerkungen	
			pro Dosi	pro kg	Norm (Durchschnitt)	Zeit nach der Injektion							
						3-5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	80 Min.		
1	Kaninchen Nr. 1	2,0	0,03	0,015	0,118	0,132	0,132	0,129	—	—	—	—	4 Stdn. nach Fütterung, etwas unruhig
2	" " 1	2,0	0,03	0,015	0,110	0,100	0,101	0,114	—	—	—	—	
3	" " 1	2,0	0,1	0,05	0,114	0,122	0,109	0,116	—	0,104	—	—	
4	" " 2	2,25	0,05	0,022	0,092	0,100	0,108	0,112	0,110	—	—	—	
5	" " 2	2,25	0,05	0,022	0,115	0,137	0,148	0,107	0,093	0,082	—	—	
6	Hund Nr. 2	6,0	0,19	0,0316	0,126	0,116	0,096	0,102	0,101	0,100	—	—	4 Stdn. nach Fütterung, etwas unruhig
7	" " 3	7,8	0,03	0,0038	0,120	0,127	0,133	0,115	—	—	—	—	
8	" " 3	7,8	0,03	0,0038	0,091	0,090	0,099	0,089	—	—	—	—	
9	" " 3	7,8	0,05	0,00615	0,072	0,104	0,067	0,075	—	—	—	—	
10	" " 3	7,8	0,05	0,00615	0,120	0,122	0,120	0,117	0,122	—	—	—	
11	" " 6	15,0	0,2	0,0133	0,097	—	0,093	0,087	0,094	—	—	—	4 Stdn. nach Fütterung, ruhig
12	" " 6	15,0	0,4	0,0266	0,070	0,068	0,074	0,061	—	—	—	—	
13	" " 6	15,0	0,05	0,0033	0,114	0,115	0,106	—	0,116	—	—	—	
14	" " 6	15,0	0,1	0,0066	0,094	0,090	0,088	—	0,088	—	—	—	
15	" " 6	15,0	0,8	0,0532	0,112	0,108	0,092	0,097	0,098	—	—	—	
16	" " 6	15,0	1,0	0,0666	0,092	0,103	0,081	—	0,082	—	—	—	24 Stdn. nach Fütterung, ruhig, vagus-puls.
17	" " 6	15,0	1,8	0,12	0,120	0,105	0,103	—	0,116	—	—	—	
18	" " 6	15,0	1,9	0,126	0,106	0,109	0,110	0,120	0,114	0,110	0,111	—	
19	" " 8	11,0	0,1	0,009	0,130	0,118	0,100	—	0,108	—	—	—	
20	" " 8	11,0	1,2	0,109	0,112	0,115	0,127	0,128	0,130	—	—	—	
21	" " 8	11,0	1,7	0,154	0,090	0,108	0,118	—	0,092	—	—	—	24 Stdn. nach Fütterung, vagus-puls
22	" " 8	11,0	2,2	0,2	0,109	0,102	0,092	—	0,090	—	—	—	

Tabelle II.

Ver- suchs- Nr.	Tier	Ge- wicht kg	KCl in g		Blutzuckerspiegel in Proz.						Bemerkungen	
			pro Dosi	pro kg	Norm (Durch- schnitt)	3-5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.		60 Min.
1	Kaninchen Nr. 1	2,0	0,03	0,015	0,129	0,133	0,156	0,151	—	—	—	4 Std. nach Fütterung. etwas unruhig
2	"	2,0	0,05	0,025	0,123	0,142	0,153	0,155	—	—	0,131	
3	"	2,0	0,08	0,04	0,122	0,154	0,160	0,164	—	—	0,147	
4	"	2,25	0,05	0,022	0,072	0,050	0,056	0,100	—	—	—	
5	"	2,25	0,05	0,022	0,131	0,171	0,143	0,123	—	—	—	
6	Hund Nr. 1	6,0	0,06	0,01	0,104	0,092	0,092	0,097	0,101	—	—	24 Std. nach Fütterung. ruhig
7	"	6,0	0,1	0,0166	0,082	0,085	0,092	—	—	—		
8	"	6,0	0,06	0,01	0,116	0,123	0,115	0,118	—	—	—	4 Std. nach Fütterung. ruhig
9	"	7,8	0,078	0,01	0,114	0,109	0,118	0,103	—	—	—	
10	"	7,8	0,02	0,0025	0,136	0,113	0,096	0,095	—	—	—	
11	"	7,8	0,01	0,0013	0,108	0,105	0,080	0,090	0,090	—	—	4 Std. nach Fütterung. etwas unruhig
12	"	7,8	0,03	0,0038	0,095	0,108	0,098	0,108	0,090	—	—	
13	"	7,8	0,05	0,0065	0,085	—	0,080	0,087	—	—	—	
14	"	7,8	0,02	0,0025	0,118	0,122	0,126	0,138	—	—	—	
15	"	7,8	0,05	0,0065	0,102	0,091	0,104	0,105	—	—	—	
16	"	7,8	0,02	0,0025	0,060	—	0,054	0,044	0,071	—	—	24 Std. nach Fütterung. ruhig
17	"	7,8	0,1	0,0128	0,085	—	0,076	—	0,100	0,092	0,082	
18	"	11,0	0,2	0,018	0,086	0,073	0,088	—	0,091	—	—	
19	"	15,0	0,3	0,02	0,096	0,098	0,086	—	0,093	—	—	

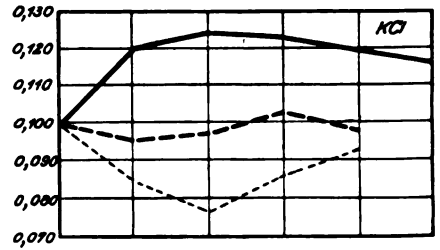
4, 7 und 18) eine Hyperglykämie nahe der Fehlergrenze, in fünf Fällen (Versuch 6, 15, 17, 19 und 22) eine mehr oder weniger ausgebildete Hypoglykämie; in den übrigen neun Fällen schließlich ließ die Zuckerkurve keinerlei Abweichung von der Norm erkennen. In der Abb. 1 sind die mittleren Kurven der Versuche von gleichartigem Charakter wiedergegeben.

Unter 19 Versuchen mit KCl befinden sich fünf (Versuch 1, 2, 3, 5 und 14) mit mehr oder weniger ausgebildeter Hyperglykämie, vier



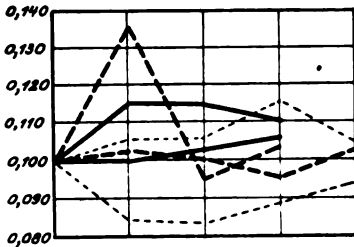
Vers. Nr. 5, 9, 20, 21 und 14, 9, 18 ———  
 Vers. Nr. 2, 3, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 16 - - - -  
 Vers. Nr. 6, 15, 17, 19, 22 - · - · -

Abb. 1.



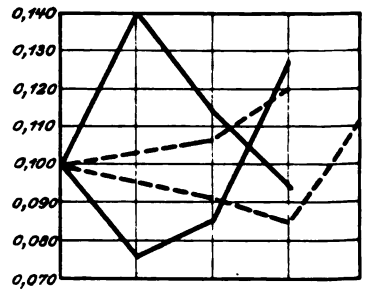
Vers. Nr. 1, 2, 3, 5, 14 ———  
 Vers. Nr. 6, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 17, 18, 19 - - - -  
 Vers. Nr. 4, 10, 11, 16 - · - · -

Abb. 2.



CaCl<sub>2</sub> 0,03; Kan. Nr. 1, Vers. 1, 2 ———  
 CaCl<sub>2</sub> 0,03; Hund Nr. 3, Vers. 9 u. 10 - - - -  
 CaCl<sub>2</sub> 1,0; Hund Nr. 6, Vers. 17 u. 18 - · - · -

Abb. 3.



KCl 0,05; Hund Nr. 2, Vers. 4 u. 5 ———  
 KCl 0,02; Hund Nr. 3, Vers. 14 u. 18 - - - -

Abb. 4.

Versuche (4, 10, 11 und 16) mit Hypoglykämie, in den übrigen zehn Fällen zeigt der Blutzucker keine Abweichung von der Norm. Die mittleren Kurven der Versuche von gleichem Typus sind in der Abb. 2 dargestellt.

Aus den mitgeteilten Resultaten geht hervor, daß es nicht möglich ist, irgend einen gleichgearteten und spezifischen Einfluß der in die Blutbahn injizierten Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Ionen anzunehmen. Wir bemerken gleichzeitig, daß dieser Wirkungswechsel anscheinend weder von der Tierart, noch von der Menge der injizierten Elektrolyte abhängig ist.

Sowohl der Einfluß der Tierart als auch derjenige der Dosis läßt sich leicht eliminieren, wenn man die Versuche 1 und 2, 9 und 10, 17 und 18, 21 und 22 miteinander vergleicht, bei denen die Ca<sup>++</sup>-Dosis dieselbe war (Abb. 3), und die Versuche 4 und 5, 14 und 16, bei denen die gleiche K<sup>+</sup>-Dosis angewandt wurde (Abb. 4). Bei ein und derselben äußeren Wirkung, bei ein und demselben Tiere ergeben sich verschiedene und zum Teil einander widersprechende Resultate. Zur besseren Übersicht sind die Zahlen dieser Versuche in den Abb. 3 und 4 im Verhältnis zum normalen Blutzuckergehalt auf 0,1 Proz. gebracht worden.

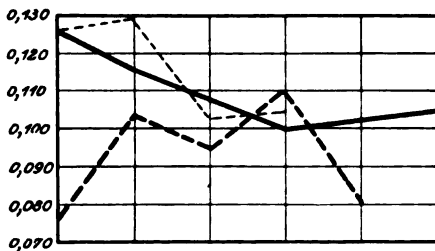
Was den psychischen Affekt anbelangt, so kann dieser Faktor bei der Untersuchung des Bildes des Blutzuckers nicht unbeachtet bleiben, da sein Einfluß schon lange als Fehlerquelle erkannt worden ist.

Ein besonderes Interesse beanspruchen die Arbeiten der letzten Jahre. So konnte *Maranon* (13) bei Fliegern unmittelbar vor und während des Fluges eine Hyperglykämie auffinden. *Canon* (14) stellte an vier von neun Studenten Glykosurie nach dem Examen fest. Nach seinen Angaben trat bei 12 von 25 Teilnehmern eines Fußballmatches Glykosurie auf, ferner bei zwei Reservespielern und einem Zuschauer, die nur mit den Augen dem Spiele folgten. Er beobachtete auch Hyperglykämie bei von Hunden verfolgten Katzen.

In unseren Versuchen kann aber das Verhalten der Tiere, wie dies aus den Bemerkungen zu ersehen ist, offenbar nicht als Kriterium für eine Beurteilung dienen. Uns scheint, als ob in dieser Beziehung der Verlauf der Zuckerkurve viel charakteristischer ist. So befand sich z. B. im Versuch 6 der Tabelle I, Hund 2 zum ersten Male als Versuchsobjekt im Laboratorium; die ungewohnte Lage, der Schnitt ins Ohr usw. beunruhigten das Tier, und der Zuckergehalt steigt bis auf 0,126 Proz., ein für die Norm des Nüchternzustandes recht ansehnlicher Wert. Im weiteren Verlauf beruhigt sich das Tier, und der Zucker kehrt zur Norm zurück, was sich in der Kurve in einer relativen Hypoglykämie ausprägt. Bemerkenswert erscheint hierbei, daß sich der Hund während der ganzen Zeit ruhig verhielt. Selbstverständlich ist unsere Ansicht über das Vorhandensein von „psychischem“ Zucker in diesem Falle als reine Hypothese aufzufassen. Abgesehen von dem Falle im Versuch 6, wurden alle Tiere zunächst dadurch an die Versuchsbedingungen gewöhnt, daß ihnen während mehrerer Tage hintereinander Blut zur Bestimmung der mittleren Norm unter denselben Verhältnissen und auf dieselbe Weise entnommen wurde, wie auch in den Versuchen mit den Salzinjektionen. Gleichzeitig dienen diese Versuche als Kontrolle. Im ganzen wurden 16 derartige Versuche angestellt, in sechs Fällen wurde eine Reizung durch Stich an einer Hinterextremität vorgenommen, wie dies auch bei Injektionen geschieht. In 13 Fällen hielt sich der Zuckergehalt innerhalb der normalen Grenzen, d. h. die Schwankungsbreite betrug bis zu 10 Proz. und nicht darüber; in drei Fällen wies

die Zuckerkurve bedeutende Abweichungen von der Norm auf. In der Abb. 5 bringen wir die Kurven nur dieser drei letzten Versuche in absoluten Zahlen. Die ziffernmäßigen Angaben sind in der Tabelle III wiedergegeben und beziehen sich gleichfalls nur auf diese drei Versuche. Die Ergebnisse dieser Kontrollversuche bestätigen noch einmal die Bedeutung des Einflusses des psychischen Affekts auf den Blutzucker-gehalt.

Wir kommen somit auf Grund unserer Versuche über  $\text{CaCl}_2$ - und  $\text{KCl}$ -Injektionen zu dem Schluß, daß unabhängig von der Größe der Dosis weder  $\text{Ca}^{++}$  noch  $\text{K}^+$  eine bestimmte qualitativ gleichgeartete Wirkung auf das Bild des Blutzuckers ausüben, und daß der Zuckergehalt weitaus am häufigsten normal bleibt, d. h. nur innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik schwankt. Zu bemerken ist auch, daß infolge



Hund Nr. 3 etwas unruhig ———  
 Hund Nr. 2 ruhig; Stich ins Hinterbein - - - -  
 Hund Nr. 2 ruhig; Stich ins Hinterbein . . . . .

Abb. 5.

des Einflusses der Salzinjektionen häufiger Abweichungen von der Norm vorkommen als in den Kontrollversuchen, die einen unspezifischen und ungleichartigen Charakter aufweisen.

Weder das Calcium noch das Kalium haben also für sich allein bei der Einführung ihrer Salze in die Blutbahn eine bestimmte Wirkung auf das Bild des Blutzuckers, möglicher-

weise deshalb, weil der gesunde, im Gleichgewichtszustand befindliche Organismus auf verschiedenen Wegen hartnäckig seine Zuckerkonstante festhält. Daher bietet die Untersuchung des  $\text{Ca}^{++}$ - und  $\text{K}^+$ -Einflusses auf den Blutzucker-gehalt unter solchen Verhältnissen Interesse, wo der Regulationsapparat des vegetativen Nervensystems aus dem Gleichgewicht gebracht erscheint. Zeigt sich nicht vielleicht eine spezifische Wirkung des  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$ , falls dieser oder jener Abschnitt des vegetativen Nervensystems vorherrscht?

Zu diesem Zwecke wurden eine ganze Reihe von Versuchen ausgeführt, bei denen die Injektion von  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$  von einer Einführung spezifischer Gifte des vegetativen Systems, wie Adrenalin, Atropin und Pilocarpin, begleitet war.

Die hierüber vorliegenden Befunde weisen im allgemeinen auf eine Sensibilisierung der sympathicotropen Gifte durch Calcium und der vagotropen durch Kalium hin. Bezüglich des Kohlehydratstoffwechsels sind jedoch die Angaben in der Literatur nur spärlich und nicht hinreichend genau. Hier sind die Arbeiten von *Kylin* (16) zu erwähnen, der mit seinen

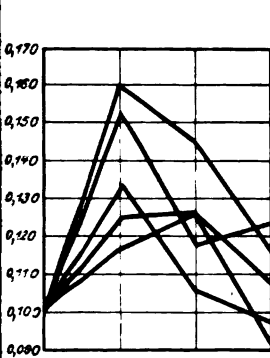
Mitarbeitern zeigte, daß das Ca<sup>++</sup> die hyperglykämische Phase der Adrenalinwirkung verstärkt, das K<sup>+</sup> hingegen sie vermindert. Sie stellten auch die Sensibilisierung der hyperglykämischen Phase der Pituitrinwirkung durch K<sup>+</sup> fest und ihre Hemmung durch Ca<sup>++</sup>. H. Zondek stellte die Sensibilisation der hypoglykämischen Phase der Insulinwirkung durch Kalium und ihre Hemmung durch Calcium fest.

Tabelle III.

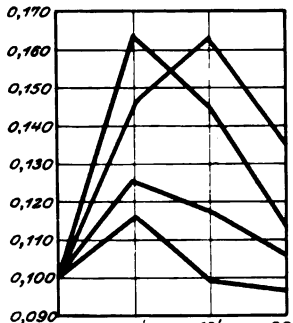
Kontrollversuche, die Abweichungen von der Norm zeigen.

Versuchs-Nr.	Tier	Blutzuckerspiegel in Proz.					Bemerkungen	
		Norm (Durchschnitt)	Zeit nach der Injektion					
			3-5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.		40 Min.
1	Hund Nr. 3	0,127	0,114	—	0,100	—	0,104	} Etwas unruhig Ruhig, Stich ins Hinterbein
2	" " 2	0,129	0,130	0,102	0,103	—	—	
3	" " 2	0,076	0,104	0,094	0,110	0,080	—	

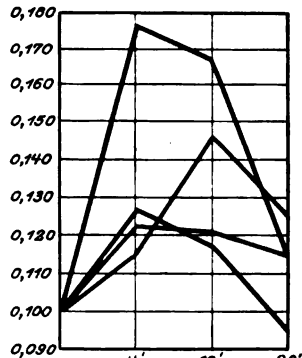
In unseren Adrenalinversuchen wurde dieses gleichzeitig entweder mit KCl oder mit CaCl<sub>2</sub> in eine Hautvene der hinteren Extremität injiziert. Das Blut wurde, wie in den Versuchen mit den reinen Salzen, in bestimmten Intervallen entnommen. In den Abb. 6, 7 und 8 sind



Adrenalin  
Abb. 6.



Adrenalin + CaCl<sub>2</sub>  
Abb. 7.



Adrenalin + KCl  
Abb. 8.

die Kurven dieser Versuche dargestellt, die Zahlen sind mit der Norm von 0,100 Proz. in Beziehung gebracht. Die von uns erhaltenen Resultate sprechen keinesfalls weder für eine Sensibilisation durch Ca<sup>++</sup>, noch für eine Hemmung durch K<sup>+</sup>. Die Kurven von Adrenalin + CaCl<sub>2</sub> und von Adrenalin + KCl unterscheiden sich in keiner Weise von den reinen Adrenalincurven, weder hinsichtlich der Höhe, noch in bezug auf ihren Charakter. Nur in einem Falle wurde eine Kurve erhalten, welche die Adrenalincurve um 20 mg überragte, wobei be-

merkwürdig ist, daß diese gewissermaßen geringe Sensibilisation nicht durch  $\text{Ca}^{++}$ , sondern durch  $\text{K}^+$  erreicht wurde (die Zahlen s. Tabelle IV, V und VI).

Tabelle IV.

Ver- suchs- Nr.	Hund	Adrenalin intravenös	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durch- schnitt)	Zeit nach der Injektion			
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.
1	Nr. 4	0,0002	0,125	0,142	0,149	0,132	0,130
2	" 4	0,0001	0,126	0,178	0,144	0,148	—
3	" 2	0,00005	0,100	0,126	0,122	0,090	0,090
4	" 2	0,0001	0,089	0,148	0,131	0,099	—
5	" 2	0,0001	0,097	0,130	0,102	0,091	0,109

Tabelle V.

Ver- suchs- Nr.	Hund	Adrenalin + $\text{CaCl}_2$ intravenös (gleichzeitig)	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durch- schnitt)	Zeit nach der Injektion			
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.
1	Nr. 4	0,0001 + 0,05	0,116	0,164	0,178	0,148	—
2	" 2	0,00005 + 0,05	0,111	0,128	0,110	0,106	0,096
3	" 2	0,00005 + 0,05	0,075	0,100	0,093	0,080	0,082
4	" 2	0,0001 + 0,05	0,087	0,151	0,129	0,101	0,092

Tabelle VI.

Ver- suchs- Nr.	Hund	Adrenalin + $\text{KCl}$ intravenös (gleichzeitig)	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durch- schnitt)	Zeit nach der Injektion			
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.
1	Nr. 4	0,0001 + 0,05	0,103	0,129	0,124	0,119	—
2	" 4	0,0001 + 0,05	0,061	0,139	0,124	0,073	—
3	" 2	0,00005 + 0,05	0,063	0,089	0,082	0,046	—
4	" 2	0,0001 + 0,05	0,080	0,097	0,129	—	0,101

Auf Grund unserer Adrenalinversuche können wir die Resultate *Kylins*, der eine Sensibilisation dieses Stoffes durch  $\text{Ca}^{++}$  und eine Hemmung seiner Wirkung durch  $\text{K}^+$  festgestellt hat, nicht bestätigen. Die Kurven unterscheiden sich nicht voneinander, weder in bezug auf die Höhe, noch hinsichtlich ihres Charakters, und gehen nicht über die für eine derartige Adrenalinmenge möglichen Grenzen hinaus. Weder das Kalium noch das Calcium zeigen also einen Einfluß auf den Verlauf der Adrenalinhyperglykämie, und ihre Wirkung gegenüber dem viszeralem Nervensystem, das im Sinne einer Verstärkung des Tonus bzw. der Erregung des Sympathicus aus seinem Gleichgewicht gebracht wurde, äußert sich nach keiner bestimmten Richtung hin.



Vielleicht zeigt sich aber eine spezifische Wirkung des Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> bei Prävalenz des sympathischen Abschnitts des vegetativen Nervensystems, die nicht durch Reizung des Sympathicus, sondern durch die Blockade seines Antagonisten durch Ausschließung des Vagus mit Hilfe von Atropin erzielt wird. Dieses wurde in unseren Versuchen in einer Menge von 0,001 g subkutan eingeführt, nach 7 Minuten injizierten wir intravenös Ca<sup>++</sup> oder K<sup>+</sup>-Salze und untersuchten das Blut in den gleichen Intervallen wie nach der Injektion der Salze allein. Die Versuche mit reinem Atropin zeigten, daß in der angewandten mittleren Dosis kein Einfluß auf das Bild des Blutzuckers ausgeübt wird, was in Übereinstimmung steht mit den Befunden von *Bornstein* und *Vogel*. Die Abb. 9, 10 und 11 zeigen die Kurven dieser Versuche, deren Zahlen in den Tabellen VII, VIII und IX angeführt sind.

Bei Betrachtung der Kurven von Atropin allein und der Kurven von Atropin mit CaCl<sub>2</sub> und KCl bemerken wir, daß die letzteren sich von den

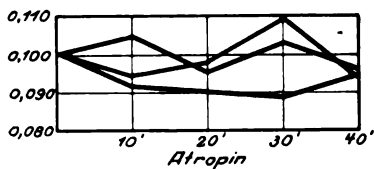


Abb. 9.

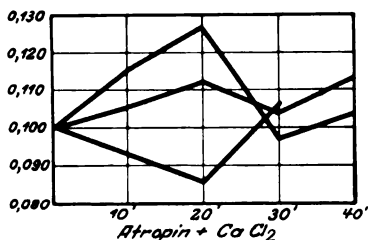


Abb. 10.

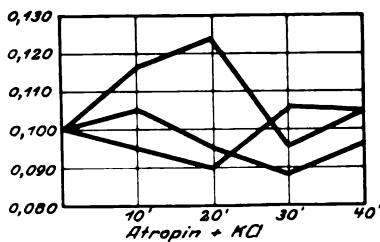


Abb. 11.

bei der Injektion der reinen Salze erhaltenen nicht unterscheiden. Wir können hier ebensowenig wie dort irgend einen spezifischen, qualitativ gleichartigen Effekt beobachten. Bemerkenswert ist, daß der Charakter der Kurve für Ca<sup>++</sup> wie für K<sup>+</sup> der gleiche ist.

Das nächste Ziel unserer Arbeit bildete die Untersuchung der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Wirkung bei Prävalenz des parasympathischen Abschnitts des vegetativen Nervensystems mit Hilfe von Pilocarpin. Das Pilocarpin wurde in einer Menge von 0,005 g subkutan eingeführt, eine mittlere Dosis, die nach 8 Minuten eine geringe Speichelabsonderung und nach 20 bis 25 Minuten Defäkation hervorrief, die aber gleichwohl nicht den Charakter eines Durchfalls trug. Bezüglich der Wirkung des Pilocarpins auf den Blutzuckerhalt können wir die Beobachtungen *Bornsteins*, der Hyperglykämie feststellte, nicht bestätigen. In unseren Versuchen kam nur ein einziges Mal eine unbedeutende, innerhalb der

Fehlergrenzen liegende Erhöhung von 16 mg zur Beobachtung, in den übrigen Fällen waren die Schwankungen des Zuckergehalts noch geringer, wie dies aus der Abb. 12 und der Tabelle X. ersichtlich ist. In einem Falle wurde eine verhältnismäßig große Dosis von 0,05 g angewandt; hier stieg der Zuckergehalt auf 25 mg an. Dem Pilocarpin die hyperglykämische Wirkung allein zuzuschreiben, liegt auf Grund dieser Beobachtung keine Veranlassung vor, da das Tier während des Versuchs viel Flüssigkeit verlor. Im Versuchsprotokoll ist von der fünften Minute an sehr starke Speichelabsonderung vermerkt, der sich von der achten Minute an ununterbrochener Durchfall und Harnabsonderung im Verlauf von 30 Minuten zugesellt, worauf die Erscheinungen nachzulassen beginnen, um nach 60 Minuten vollkommen zu verschwinden. Auf diese Weise verlor das Tier ungefähr 2 Liter Flüssigkeit. Die Wirkung von  $K^+$  und  $Ca^{++}$  wurde mit Hilfe einer mittleren Pilocarpindosis von 5 mg untersucht. Die Salze wurden 7 Minuten nach der subkutanen Injektion des Pilocarpins eingeführt und das Blut wie üblich nach 3, 10, 20 und 30 Minuten untersucht (die Zahlen s. Tabellen X, XI und XII).

Tabelle VII.

Versuchs-Nr.	Hund	Atropin subkutan	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durchschnitt)	Zeit nach der Injektion			
				10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.
1	Nr. 5	0,001	0,095	0,100	0,089	0,096	0,091
2	" 5	0,001	0,081	0,072	—	0,069	0,077
3	" 5	0,001	0,091	0,083	0,087	0,100	0,094

Tabelle VIII.

Versuchs-Nr.	Hund	7 Min. nach der Atropin-injektion wurde KCl injiziert	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durchschnitt)	Zeit nach der Injektion von KCl			
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.
1	Nr. 5	0,001 Atropin + 0,05 KCl	0,091	0,109	0,114	0,085	0,093
2	" 5	0,001 " + 0,05 "	0,085	0,090	0,081	0,073	0,081
3	" 5	0,001 " + 0,05 "	0,086	0,081	0,076	0,091	0,088

Tabelle IX.

Versuchs-Nr.	Hund	7 Min. nach der Atropin-injektion wurde $CaCl_2$ injiziert	Blutzuckerspiegel in Proz.				
			Norm (Durchschnitt)	Zeit nach der Injektion von $CaCl_2$			
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.
1	Nr. 5	0,001 Atropin + 0,1 $CaCl_2$	0,078	0,069	0,062	0,083	—
2	" 5	0,001 " + 0,1 "	0,080	0,087	0,091	0,081	0,093
3	" 5	0,001 " + 0,1 "	0,083	0,099	0,110	0,080	0,085

Z. exper. Med.

Ver- suchs- Nr.	Hund	Pilocarpin subkutan	Blutzuckerspiegel in Proz.					Bemerkungen
			Norm (Durch- schnitt)	Zeit nach der Injektion				
				5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	
1	Nr. 5	0,05	0,099	0,114	0,120	0,118	—	Nach 5 Min. ein großer Verlust an Flüssigkeit durch d. Speichelfl. u. Erbrechen, Urin u. Faeces Nach 8 Min. Speichelfluß, nach 20 Min. Defäkation
2	"	0,005	0,094	0,090	0,086	0,096	0,085	
3	"	0,005	0,092	0,090	0,082	0,088	0,089	
4	"	0,005	0,079	0,070	0,069	0,082	0,085	
5	"	0,005	0,088	0,083	0,091	0,096	—	
6	"	0,005	0,080	0,085	0,098	—	0,083	

Tabelle XI.

Ver- suchs- Nr.	Hund	7 Min. nach der Pilocarpin- injektion wurde CaCl <sub>2</sub> injiziert	Norm (Durch- schnitt)	Blutzuckerspiegel in Proz.				Bemerkungen
				Zeit nach der Injektion von CaCl <sub>2</sub>				
				3 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	
1	Nr. 5	Pilocarp. 0,005 + CaCl <sub>2</sub> 0,1	0,080	0,092	0,091	0,121	0,119	Nach 8 Min. Speichelfluß, nach 20 Min. Defäkation
2	"	" 0,005 + "	0,098	0,099	0,098	0,092	0,087	
3	"	" 0,005 + "	0,099	0,099	0,107	0,093	0,097	
4	"	" 0,005 + "	0,087	0,103	0,090	0,095	0,085	
5	"	" 0,005 + "	0,103	0,082	0,086	0,098	0,087	

Tabelle XII.

Ver- suchs- Nr.	Hund	7 Min. nach der Pilocarpin- injektion wurde KCl injiziert	Norm (Durch- schnitt)	Blutzuckerspiegel in Proz.				Bemerkungen
				Zeit nach der Injektion von KCl				
				5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	
1	Nr. 5	Pilocarp. 0,005 + KCl 0,05	0,080	0,076	0,075	0,081	0,074	Nach 8 Min. Speichelfluß, nach 20 Min. Defäkation
2	"	" 0,005 + "	0,092	0,101	0,109	0,095	0,097	
3	"	" 0,005 + "	0,069	0,077	0,079	0,078	0,070	
4	"	" 0,005 + "	0,099	0,091	0,110	0,119	0,116	
5	"	" 0,005 + "	0,087	0,073	0,065	0,071	0,067	

Bei Betrachtung der Kurven dieser Versuche (Abb. 12, 13 und 14) bemerken wir, daß, ebenso wie in den Versuchen mit Atropin, die Kurven von  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$  + Pilocarpin sich von denen des reinen Pilocarpins nach der Höhe des Anstiegs etwas unterscheiden, und zwar dadurch, daß die Schwankungsbreite etwas größer ist.

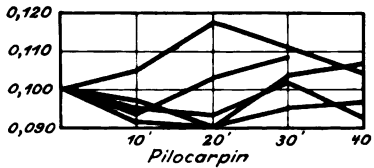


Abb. 12.

Aber auch hier gehen, wie in allen anderen vorhergehenden Versuchen, die Kurven von  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$  + Pilocarpin nicht über die Grenzen der bei den Salzen allein erhaltenen Kurven hinaus, weder nach dem Charakter ihres Anstiegs, noch nach ihrer Höhe. Augenscheinlich ist die vorhergehende Pilocarpininjektion ohne Einfluß auf [das Bild des Zuckers nach der  $\text{Ca}^{++}$ - und  $\text{K}^+$ -Darreichung.

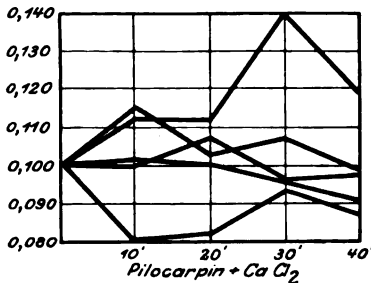


Abb. 13.

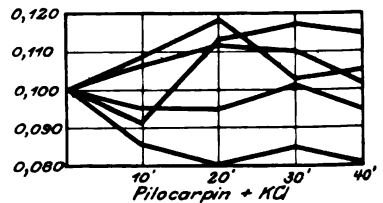


Abb. 14.

Man kann also weder den erwähnten spezifischen Effekt, noch überhaupt irgendwie bestimmte Wirkung feststellen. Das Bild des Zuckers trägt in unseren Versuchen nicht den Charakter normaler Schwankungen und ist gleichzeitig durchaus nicht eigenartig. Die Regulation des Zuckerspiegels wird gewissermaßen aus dem Gleichgewicht gebracht, und seine Konzentration zeigt häufigere und stärkere Schwankungen als in der Norm. Wenngleich wir auch den Einfluß des psychischen Affekts nicht ausschließen, so können wir die von uns beobachteten Erscheinungen dennoch nicht darauf allein zurückführen, schon aus dem Grunde nicht, weil die Kontrollen in dieser Hinsicht keine besonderen Abweichungen von der Norm liefern. Außerdem geben die Versuche über die Wirkung des  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$  an denselben Tieren bei Atropin- und Pilocarpininjektion die Möglichkeit, größere Schwankungen nach der Einführung von Salzen und Giften festzustellen als nach den Giften allein, obgleich das Auftreten eines psychischen Affekts bei den Versuchen mit reinen Giften eher möglich war. Vor allem deswegen, weil die Versuche von Anfang an mit den

Giften angestellt wurden und die Tiere zu der Zeit, als die Versuche mit Salzen vorgenommen wurden, bereits an die Laboratoriumsverhältnisse und die Manipulationen während der Versuche gewöhnt waren. Andererseits ist aber gleichzeitig das Fehlen der Sensibilisation des Adrenalins durch Calcium und der Hemmung durch Kalium zu erwähnen. Auch nach vorhergehender Einführung von Atropin und Pilocarpin verändert sich der Charakter der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Kurven nicht.

Offenbar führt die Untersuchung über die Wirkung des Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup>, wenn ihre Salze gesunden Tieren intravenös eingeführt werden, sowohl hinsichtlich ihres Einflusses auf den Kohlehydratstoffwechsel als auch bezüglich der Aufhellung der Beziehungen dieser Ionen zum vegetativen Nervensystem zu keinen schematisch einfachen Schlußfolgerungen.

In dieser Hinsicht erscheinen die Arbeiten von *Leites* (18) von großem Interesse, der eine Sensibilisation des Adrenalins durch Calcium in seiner vasokonstriktorischen Wirkung auf ein isoliertes Kaninchenohr nachwies und bei Versuchen am ganzen Tier zu ganz entgegengesetzten Resultaten gelangte. *Schmidt* (19) bestätigte durch seine Untersuchungen an Menschen die Resultate von *Leites* an Tieren. *Bricker* und *Tscharny* (20) beobachteten die nach *Kraus* und *Zondeks* Auffassung paradoxe Tatsache der Sensibilisierung des Pilocarpins durch Ca<sup>++</sup> bei Arbeiten über den Blutdruck an Kaninchen. Auch *Weiss* und *Benkowitzsch* (21) konnten eine Sensibilisation des Adrenalins durch Ca<sup>++</sup> bei ihren Arbeiten an Menschen nicht feststellen.

Zur Erklärung dieser Tatsachen und der von uns in der vorliegenden Abhandlung erhaltenen Resultate müssen wir die Aufmerksamkeit auf die Stärke aller regulatorisch-kompensatorischen Kräfte des Organismus lenken, wofür als Beispiel die beinahe unmöglich zu überwindende Schwierigkeit dienen kann, die Größe der  $p_H$  des Blutes durch Einführung von Säuren und Basen, oder seine Depression durch Einführung osmotisch-aktiver Elektrolyte zu ändern und anderes mehr. Außerdem ist dem Umstand Rechnung zu tragen, daß wir durch Injektion von CaCl<sub>2</sub> und KCl ins Blut eine Störung des Gleichgewichts nicht nur im Gehalt der von uns eingeführten Elektrolyte hervorrufen, sondern auch in der Konzentration anderer Ionen; höchstwahrscheinlich wird das gesamte physikochemische Blutbild verändert, um gleichwohl rasch zur Norm zurückzukehren. Von diesem Standpunkt aus ist ein Vergleich der Arbeiten von *Hetenyi* und *Jansen* interessant, welche fanden, daß das eingeführte CaCl<sub>2</sub> fast augenblicklich aus dem Blute herausgeführt und vorwiegend in den Knochen abgelagert wird, und der Arbeit von *Richter-Quittner*, die feststellte, daß die Einführung von Calcium eine Erhöhung der Kaliummenge und eine Veränderung im Gehalt an Mg, Na und Alkalireserven des Blutes zur Folge hatte. Ebenso ist die sogenannte Dissoziation der Calciumwirkung in Betracht zu ziehen, die eine Reizung des Vaguszentrums hervorruft, die besonders bei Verwendung großer Dosen bemerkbar ist. In den

Protokollen unserer Versuche mit großen Calciumdosen ist ein deutlich ausgeprägter Vaguspuls und in einigen Fällen Erbrechen vermerkt. Aber auch in diesen Versuchen war kein irgendwelcher bestimmter Einfluß des Calciums auf den Blutzuckergehalt zu verzeichnen, im Gegensatz zu den Resultaten von *Schenk*, der bei großen Dosen in der Regel eine Hypoglykämie auffand.

Möglicherweise kann die aus unseren Versuchen sich ergebende Unbeständigkeit und Ungleichartigkeit der  $\text{Ca}^{++}$ - und  $\text{K}^+$ -Wirkung auf das Bild des Blutzuckers auch eine Erklärung abgeben für die mannigfaltigen Schlußfolgerungen der verschiedenen Untersucher. Bezeichnend hierfür ist, daß, wie bei der Mehrheit der Autoren, die sich über die Wirkung des  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{K}^+$  des Blutes irgendwie bestimmt aussprechen, ebenfalls in einigen Fällen recht uncharakteristische, ja mitunter sogar ihren Schlußfolgerungen widersprechende Kurven finden. Unter den Versuchen von *Zondek* und *Benatt* befindet sich z. B. ein Fall, wo sowohl nach  $\text{Ca}^{++}$ - wie nach  $\text{K}^+$ -Injektion ein Effekt nicht nur fehlt, sondern entgegengesetzten Charakter aufweist. Dasselbe gilt auch von den Versuchen *Kylins* und *Nyströms*.

Nach Beendigung des experimentellen Teiles unserer Arbeit erschienen noch zwei Arbeiten von *H. Zondek* und *Icko* (22), die keine Wirkung des  $\text{Ca}^{++}$  auf den Blutzuckergehalt feststellten, und von *Heianzan* (23), der nach  $\text{Ca}^{++}$ -Injektion Hyperglykämie fand, während Kalium keinen sichtlichen Effekt hervorrief.

Zur Wertung unserer Versuchsergebnisse übergehend, muß man feststellen, daß die Versuche über die Einführung von Salzen in das Blut normaler Tiere zwar eine Reihe interessanter Resultate und Erscheinungen ergeben, aber dennoch keine Schlußfolgerung über irgend einen spezifischen Einfluß der  $\text{Ca}^{++}$ - und  $\text{K}^+$ -Ionen auf den Zuckerspiegel des Blutes erlauben. Vielleicht sind in dieser Beziehung Versuche an isolierten Organen und pathologischen Tieren, bei denen die Fähigkeit zur Regulation entweder ganz fehlt oder beträchtlich abgeschwächt und verändert ist, ergebnisreicher.

Die Schlußfolgerungen unserer Arbeit sind folgende:

1. Sowohl Calcium als auch Kalium rufen bei Einführung verschieden großer Dosen von  $\text{CaCl}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{KCl}$  auf den Zuckerspiegel des Blutes keine spezifische Wirkung hervor.
2. Für  $\text{Ca}^{++}$  wie für  $\text{K}^+$  ist eine Abhängigkeit von der Größe der Dosis nicht festgestellt worden.
3.  $\text{Ca}^{++}$  erzeugt ebenso wie  $\text{K}^+$  mitunter eine leichte Hyperglykämie, in manchen Fällen auch eine leichte Hypoglykämie, ruft in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle jedoch keinen irgendwie erkennbaren Effekt hervor.

4. Die Kurven des Zuckerspiegels weisen für Ca<sup>++</sup> und K<sup>+</sup> den gleichen Charakter auf.

5. Weder Ca<sup>++</sup> noch K<sup>+</sup> üben irgend einen deutlichen Einfluß auf den Charakter des Verlaufs der Adrenalinhyperglykämie aus.

6. Pilocarpin ruft in einer Dosis von 0,005 g eine innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegende Veränderung des Blutzucker-gehalts hervor, die nicht spezifisch ist.

7. Die vorhergehende subkutane Injektion von Atropin in einer Dosis von 0,001 g ruft für sich allein keine Veränderung des Blutzucker-gehalts hervor und ist auch auf den Charakter der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Wirkung ohne Einfluß.

8. Die subkutane Injektion von Pilocarpin in einer Dosis von 0,005 g ist ohne Einfluß auf den Charakter der Ca<sup>++</sup>- und K<sup>+</sup>-Wirkung.

#### Literatur.

1) Zitiert nach *Pollak*, *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk.* **23**, 1923: *Physiologie und Pathologie der Blutzuckerregulation.* — 2) *Zeitschr. f. Physiol.* **30**, 1915. — 3) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **44**, H. 3/4. — 4) *Diese Zeitschr.* **98**, 1921; **122**, 1921; **126**, 1922. — 5) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **37**, 1923. — 6) *Ebendasselbst* **37**, 1923. — 7) *Ebendasselbst* **43**, 1925. — 8) *Ebendasselbst* **45**, 1925. — 9) *Klin. Wochenschr.* **36**, 1924. — 10) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **12**, 1921. — 11) *Ebendasselbst* **43**, 1924. — 12) *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* **185**, 1924. — 13) *Ref. aus d. Deutsch. med. Wochenschr.* **45**, 1919. — 14) *Amer. Journ. of Physiol.* **33**, 1914. — 15) *Ebendasselbst* **29**, 1910. — 16) *Klin. Wochenschr.* Nr. **6**, 20, 43, 1925. — 17) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **44**, H. 3/4, 1925; **45**, H. 5/6, 1925. — 18) *Arch. f. exper. Pathol. u. Physiol.* **89**, H. 3/4, 1921. — 19) *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **1926**. — 20) *Ebendasselbst* **46**, H. 5/6, 1925. — 21) *Klin. Wochenschr.* **42**, 1925. — 22) *Diese Zeitschr.* **165**, 1925.

**Untersuchungen über die Beziehung  
zwischen Substratdispersität und Fermentwirkung mittels  
einer neuen Methode zur Bestimmung der fermentativen  
Fettspaltung.**

Von

**P. Rona und H. Kleinmann.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität  
Berlin.)

(Eingegangen am 28. April 1926.)

Mit 11 Abbildungen im Text.

**I.**

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob und wieweit Änderung in der Dispersität einer Fettemulsion die fermentative Fettspaltung beeinflusst.

Was die Methode anlangt, mit der die Fettspaltung geprüft werden sollte, so kam bei diesen Untersuchungen die Tropfmethode von *Rona* und *Michaelis* nicht in Frage, da sie Lösungen von Tributyrin, also kein disperses System voraussetzt. Titrationsmethoden der entstehenden Fettsäuren konnten nicht verwandt werden, da die Konzentration emulgierbaren Fettes in einem wässrigen System sehr gering ist.

Die von uns benutzten Emulsionen von Triolein waren 0,05proz., d. h. n/590. Bei einer Spaltung bis zu einem Drittel wären die Lösungen rund n/1800 an gebildeter Ölsäure, also untitrierbar. Leitfähigkeitsmessungen waren ebenfalls nicht möglich, da nur der Unterschied der Dissoziation des in den Emulsionen enthaltenen Kaliumcarbonats und der entstehenden Kaliumseife — bei den sehr geringen absoluten Konzentrationen — meßbar geworden wäre.

Es wurde daher eine optische Methode — und zwar die nephelometrische Messung von Fetttrübungen — zur Bestimmung der Lipasewirkung ausgearbeitet. Es ergaben sich hierbei besondere Schwierigkeiten, da eines der entstehenden Spaltprodukte — die Fettsäure — optisch wie das Substrat wirkt, d. h. trübt und entfernt werden muß. Außerdem ist die nephelometrische Methode an hochdisperse, be-



ständige Emulsionen geknüpft, während für die vorliegende Aufgabe auch gröber disperse Systeme untersucht werden mußten. Es gelang jedoch, die Methode so zu gestalten, daß man die lipatische Wirkung mit einem Fehler von etwa 2 Proz. verfolgen konnte. Mit ihr konnte gezeigt werden, daß wesentliche Oberflächenänderungen praktisch keinen Einfluß auf Verlauf und Geschwindigkeit der lipatischen Spaltung auszuüben vermochten.

## II. Herstellung verschieden disperser Ölemulsionen.

Die einfachste Form der Herstellung von Ölemulsionen, das Schütteln eines Öltropfens mit Wasser, gibt unvollständige und unbeständige Emulsionen und ist daher ungeeignet. Zusatz fremdstofflicher Emulgentien kam nicht in Frage, da die zu vergleichenden Emulsionen chemisch völlig gleichartig sein mußten. Spuren von Seife, schwach alkalische Reaktion und eine bestimmte Technik führten jedoch zur Herstellung von relativ groben, aber hinreichend stabilen Schüttelemlusionen.

Viel leichter als durch Dispersion gelangt man zu Fettemulsionen durch Kondensation.

Alkoholische Trioleinlösungen geben, wenn sie in nicht zu hoher Konzentration zu Wasser gesetzt werden, hochdisperse und auch ohne Schutzkolloide relativ haltbare Emulsionen. Es wurde versucht, auf diese Weise, aber durch Variation der Technik, zu verschiedenen Dispersitätsgraden zu gelangen. Dies erwies sich als unmöglich, da bei allen brauchbaren Kondensationsverfahren sich schließlich die gleiche Dispersität der Fettemulsion einstellte. Es war gleichgültig, ob die alkoholische Lösung langsam oder schnell, in kaltes oder heißes Wasser floß, die Dispersität, gekennzeichnet durch die Trübung der Emulsion, blieb die gleiche. Diese Eigenschaft der Fetttropfchen, bei der Kondensation einer bestimmten Größenordnung zuzustreben, machte die Herstellung fein disperser Fettemulsionen leicht.

Verschiedene Fettdispersitäten konnten aber nur durch Kondensation und Dispersion gleicher Fettmengen erhalten werden.

Nach zahlreichen Versuchen ergab sich folgende Methode:

Als Ausgangsmaterial dient Triolein (*Kahlbaum*). Das Alter bzw. der Fettsäuregehalt des Trioleins ist von Wichtigkeit. Zweckmäßig ist, den nötigen Fettsäuregehalt zwecks steter Reproduzierbarkeit künstlich zuzusetzen (s. unten) und von einem völlig neutralen Triolein, wie es von *Kahlbaum* meist erhältlich, auszugehen. Ist völlig neutrales Triolein (1 g wird in alkoholisch-ätherischer Lösung mit Phenolphthaleinzusatz durch Titration geprüft, Kontrolle durch Leerversuch mit dem gleichen Volumen Alkohol-Äther) nicht zu erhalten, so muß es entsäuert werden.

Zweckmäßig lassen sich Fette nach Erfahrungen, die wir bei Fettsäuerung bei anderen Arbeiten hatten, entsäuern, indem man sie in leichtsiedendem Benzin löst und dann mit der genau berechneten, zur Neutralisation notwendigen Menge wässriger NaOH versetzt. Hierbei scheidet sich die Seife in Flocken ab, ballt sich bei Erwärmung der Lösung gut zusammen und schwimmt gewöhnlich auf der Oberfläche, wobei sie das Wasser aus der wässrigen NaOH völlig einschließt. Die zur Abscheidung geeignete Wassermenge, d. h. die Konzentration der NaOH richtet sich nach der Fettsäuremenge. Zumeist wird sich eine n NaOH eignen. Die benzinische Fettlösung wird von der Seife abfiltriert, eventuell im Scheidetrichter von Wasserspuren getrennt und im Vakuum durch Destillation vom Benzin befreit.

Von dem fettsäure- und seifefreien Triolein wird eine Lösung in einer Mischung von 3 Teilen absoluten Alkohols und einem Teil Äther (Volumenteile) hergestellt, und zwar 1 g Triolein in 100 ccm Lösung. Als Äther ist stets nur reiner Äther pro narcosi (*Schering*) anzuwenden.

Zu der alkoholisch-ätherischen Trioleinlösung wird — bevor sie endgültig aufgefüllt ist — 0,5 ccm einer 1 proz. alkoholischen Oleinsäurelösung (Oleinsäure I, *Kahlbaum*) pro 100 ccm Gesamtvolumen zugesetzt und nunmehr die Mischung endgültig mit Alkohol-Äthermischung aufgefüllt. Die Lösung ist also 1 proz. an Triolein und 0,005 proz. an Oleinsäure, d. h. das angewandte Triolein ist 0,5 proz. an Oleinsäure.

a) *Zur Herstellung der feiner dispersen Emulsion* (im folgenden stets mit Ef bezeichnet) werden nun für je 100 ccm Emulsion 5 ccm der Trioleinlösung verwandt.

Etwa 250 bis 270 ccm einer n/1000  $K_2CO_3$ -Lösung werden in eine 500 ccm fassende Saugflasche gefüllt. Unter ständigem Schütteln der Saugflasche läßt man 15 ccm der Trioleinlösung hineinfließen. Es bildet sich eine völlig homogene, bläulich-weiße, opaleszierende Fett-emulsion. Aus dieser kann der Alkohol-Äther folgendermaßen vertrieben werden

1. *durch Kochen.* Hierzu kommt die Flasche in ein siedendes Wasserbad und bleibt in ihm etwa  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{3}{4}$  Stunde, bis der geringste Alkoholgeruch verschwunden ist. Die Emulsion ändert sich durch diese Behandlung nicht, ihr Trübungsgrad bleibt der gleiche. Auch die fermentativen Spaltversuche mit gekochten Emulsionen gaben das gleiche Ergebnis wie die auf folgende Art behandelten.

2. *durch Luftdurchleitung.* Durch die Saugflasche wird 2 bis 3 Stunden lang kohlenstofffreie Luft durchgeleitet. (Natronkalkrohr vorschalten.) Es gelingt, den Alkohol bis auf Geruchsfreiheit zu vertreiben. Zweckmäßig ist es, zur Beseitigung der letzten Spuren die Saugflasche während der Luftdurchleitung in ein Wasserbad von etwa 50° zu stellen.

Da mit dieser Methode auch die geringste Verseifung der Emulsion mit Sicherheit vermieden wird, haben wir unsere Emulsionen meist nach 2. behandelt.

Nach Vertreiben des Alkohol-Äthers wird die Emulsion in einen 300-ccm-Meßkolben gefüllt. Gewöhnlich zeigt sich jetzt in der Saugflasche ein Fettrand, der dem Meniskus der Emulsion entspricht. Dieser Rand wird durch Ausschwenken der Flasche mit einigen Kubikzentimetern Alkohol-Äthermischung gelöst. 20 ccm der  $n/1000$   $K_2CO_3$ -Lösung werden hinzugegeben, wodurch wieder eine Fettemulsion entsteht, die wie oben vom Alkohol-Äther befreit wird. Ein öfteres Schütteln der Saugflasche während der Luftdurchleitung verhindert die Bildung eines neuen Meniskusrandes. Ist der Alkohol völlig beseitigt, wird der Emulsionsrest zu der Hauptmenge im Meßkolben gefügt, die Saugflasche mit einigen Kubikzentimetern  $K_2CO_3$ -Lösung, eventuell noch unter gründlichem Reiben der Wandungen mit der Gummifahne ausgespült und mit der Spülflüssigkeit die Emulsion auf 300 ccm gebracht.

Die Emulsion ist viele Stunden ohne Änderung haltbar. Nach 24 Stunden sieht man ein leichtes Absetzen an den Wandungen des Gefäßes. Es ist daher für jeden Fermentversuch die Emulsion am Versuchstage zu bereiten.

b) Zur Herstellung der gröber dispersen Emulsion (im folgenden stets mit Eg bezeichnet) gleicher Konzentration werden 15 ccm der Trioleinlösung in eine etwa 500 ccm fassende Pulverflasche mit eingeschlifftem, tadellos schließendem Stopfen gegeben.

Die Flasche wird dann in ein siedendes Wasserbad gestellt, wodurch in wenigen Minuten Alkohol und Äther vertrieben werden. Die Flasche wird dann sofort aus dem Wasserbad entfernt, damit das restierende Öl nicht unnötig erhitzt wird. Dieses läßt sich nun durch Schütteln nicht tadellos emulgieren, da es zu fest an den Wandungen haftet.

Daher werden zu dem Öltropfen einige (etwa 5 bis 10) Kubikzentimeter Äther (Narkoseäther) gegeben. Sodann werden etwa 150 ccm  $K_2CO_3$ -Lösung zugefügt und die auf der Oberfläche schwimmenden Öllamellen durch kurzes Schütteln der Flasche mit der Hand roh emulgiert. Nunmehr wird der Äther durch Luftdurchsaugung (Natronkalkrohr) vertrieben. Eventuell wird die Flasche in ein 50° warmes Wasserbad gestellt. Der Äther ist in etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde völlig fort.

Die durch das Luftdurchleiten genügend emulgierte Flüssigkeit kommt in einen 300-ccm-Meßkolben. Die Pulverflasche zeigt an ihren Wandungen gewöhnlich noch Ölrreste. Dieselben werden in Alkohol-Äthermischung gelöst, der Alkohol-Äther wird durch Eintauchen der Flasche in siedendes Wasser vertrieben. Das restierende Öl wird wieder

in wenig Äther gelöst, durch Zufügen von 100 ccm  $K_2CO_3$ -Lösung abgeschieden und der Äther wie oben entfernt. Die Emulsion kommt zu dem im Meßkolben befindlichen Anteil. Der Meßkolben muß inzwischen oft geschüttelt werden, um die Bildung eines Fettrandes längs des Meniskus zu verhindern.

Gewöhnlich genügt das einmalige Nachlösen der Fettreste in der Pulverflasche, sonst muß dasselbe noch ein zweites Mal wiederholt werden. Die Spüllösungen werden im Meßkolben vereinigt und auf 300 ccm mit  $K_2CO_3$ -Lösung aufgefüllt. Nunmehr wird die ganze Emulsion in die Pulverflasche zurückgegossen und mit der Hand etwa 15 Minuten sehr schnell und kräftig geschüttelt. Die hierdurch entstehende Schüttelemlusion ist für die Versuchsdauer von rund  $\frac{1}{2}$  Stunde genügend haltbar. Sie wird unmittelbar vor dem Versuch noch einmal 10 Minuten lang geschüttelt. Sie ist natürlich viel unstabiler als die Emulsion Ef, von deren weißblauer Farbe sie sich durch eine grauere Farbe und eine geringere Trübungsstärke sehr deutlich unterscheidet.

Die Emulsionen haben ein  $p_H$  von etwa 7,5. Die nephelometrische, mikroskopische und ultramikroskopische Untersuchung der Emulsionen hatte folgendes Ergebnis. (Die Zahlen nachfolgender Rechnungen beziehen sich auf die als Beispiel dienenden Emulsionen des Versuchs der Tabelle VI.)

#### 1. Nephelometrische Untersuchung.

Der Trübungsgrad beider Emulsionen wurde nephelometrisch verglichen. Dieser Vergleich erfolgte, wie alle nephelometrischen Messungen, mittels des *Kleinmannschen* Nephelometers (*Schmidt* und *Haensch*).

Da die Färbung beider Emulsionen infolge des verschiedenen Dispersitätsgrades eine verschiedene war, erfolgte der Vergleich unter Vorschaltung eines Blaufilters.

Der Vergleich der Trübungen der Emulsionen Ef : Eg zeigte, daß die Emulsionen bei gleicher Arbeitsweise relativ gut zu reproduzieren sind und daß das Verhältnis ihrer Oberflächen bei oft wiederholten Versuchen ungefähr dasselbe bleibt.

Das Verhältnis der Trübungen von Ef : Eg schwankte etwa zwischen 3,5 bis 2,7 : 1.

Nach der *Rayleighschen* Formel soll die Lichtintensität eines Tyndallkegels

$$J = \frac{c \cdot v}{\lambda^3 \cdot s} \cdot k$$

betragen bzw., da  $c = n \cdot v \cdot s$ ,

$$J = \frac{n \cdot v^2}{\lambda^3} \cdot k.$$

wo  $J$  die Lichtintensität,  $c$  die Konzentration,  $v$  das Teilchenvolumen,  $s$  das spezifische Gewicht und  $k$  eine Konstante bedeuten. Hiernach würde also die Lichtintensität bei gleicher Teilchenzahl und gleicher Wellenlänge mit der sechsten Potenz des Teilchenradius wachsen.

Diese Formel soll jedoch nur für Teilchen unter  $30 \mu\mu$  Geltung haben. Für Teilchen über  $30 \mu\mu$  hat *v. Angerer*<sup>1)</sup> eine Formel aufgestellt, nach der

$$J = n \cdot r^2 \cdot k$$

ist, nach der also die Lichtintensität mit dem Quadrat des Teilchenradius (für kugelförmige Teilchen) bei gleichen Bedingungen wächst. „ $n \cdot r^2$ “ stellt die Gesamtoberfläche der Emulsion dar.

Da die Teilchen unserer Emulsion, wie weiter unten gezeigt wird, größer als  $30 \mu\mu$  sind und sich die Teilchenzahlen von  $E_f$ :  $E_g$ ,  $n_f$ :  $n_g$  etwa wie 27:1 verhalten, so müßte bei Geltung der *v. Angererschen* Formel

$$J_f = n_f \cdot r_f^2 \cdot k$$

und

$$J_g = n_g \cdot r_g^2 \cdot k$$

sein. Aus  $J_f$ :  $J_g = 3$ :1 und  $n_f$ :  $n_g$  wie 27:1 folgt

$$27 n_g \cdot r_f^2 = 3 n_g \cdot r_g^2,$$

woraus sich

$$r_f = 0,33 r_g$$

ergibt.

Es würde also folgen, daß der Radius der Öltröpfchen von  $E_f$  sich im Durchschnitt zu dem Radius der Emulsion  $E_g$  verhält wie 0,33:1, vorausgesetzt, daß die *v. Angerersche* Formel Geltung besitzt.

Daß dies aber der Fall sein muß, geht daraus hervor, daß, da in beiden Lösungen die gleiche Konzentration Fett vorhanden ist, die Beziehung bestehen muß

$$n_f \cdot v_f = c \quad \text{und} \quad n_g \cdot v_g = c$$

also

$$n_f \cdot r_f^3 = n_g \cdot r_g^3 = \text{konstant.}$$

Da  $n_f$ :  $n_g$  gleich 27:1 ist, so folgt

$$27 n_g \cdot r_f^3 = n_g \cdot r_g^3,$$

woraus wieder

$$r_f = 0,33 r_g$$

resultiert.

Es steht also die nephelometrische Trübungsmessung, wenn man die *v. Angerersche* Formel zugrunde legt, mit der Radiusermittlung

<sup>1)</sup> Vgl. Arch. f. Hygiene 93, 19, 1923.

aus Teilchenzählung und Konzentration in Übereinstimmung. Mit der so bewiesenen Geltung der *v. Angererschen* Formel folgt weiter, daß die Gesamtoberfläche der Emulsionen sich rund verhält wie 3:1.

### 2. Mikroskopische Untersuchung.

Die Emulsionen wurden sofort nach ihrer Herstellung mikroskopiert. Am besten eignet sich der hängende Tropfen. Färbungen mit Sudan wurden vorgenommen, sind aber nicht notwendig. Angewandt wurde als Optik: Objektiv Reichert  $\frac{1}{8}$  Immersion, Compens. Ocul. VI Mikroskop Tub. 160.

Die sich ergebenden mikroskopischen Bilder wurden photographiert. Vergrößerung 525fach.

Je ein typisches Bild der Emulsionen Ef und Eg wird in Abb. 1 und 2 wiedergegeben.

Die größere Emulsion Eg zeigt im Mikroskop zahlreiche, recht verschieden große Fetttropfen. Die Emulsion Ef, die kleinere, aber viel zahlreichere Teilchen enthalten soll, weist zwar Teilchen auf, die kleiner erscheinen als die Teilchen von Eg, ist aber scheinbar von viel geringerer Dichte.

Die Abbildungen zeigen also, daß die meisten Teilchen von Ef auf ultramikroskopischem Gebiete liegen müssen, bzw. in einer Größenordnung, die mit den angewandten Vergrößerungen noch nicht erfaßt werden konnte.

### 3. Ultramikroskopische Untersuchung.

Die Emulsionen wurden mit Cardioidkondensator in der Quarzkamera von  $2\mu$  Höhe und mit einer quadratischen Okularblende ausgezählt, die im Gesichtsfelde ein Quadrat von 0,1 mm Seitenlänge begrenzt. Optik: Spezialobjektiv Zeiss 20, Kompensationsokular Zeiss: 20mal, Tubuslänge 160 mm. Vergrößerung 240fach.

a) Die Emulsion-Ef wurde im Verhältnis 1:10 mit  $n/1000$   $K_2CO_3$ -Lösung verdünnt. Es konnten größere Teilchen von etwa 2 bis  $4\mu$  Durchmesser in verhältnismäßiger Ruhe neben feineren unter  $2\mu$  Durchmesser, die lebhaftere Bewegung zeigten, beobachtet werden. Die ersteren wurden gezählt und ergaben im Durchschnitt pro Gesichtsfeld 63, die Zahl der feineren wurde rund auf das Dreifache der größeren geschätzt. Die Gesamtzahl der Teilchen pro Kubikmillimeter beträgt also rund  $12,6 \cdot 10^7$  pro Kubikmillimeter.

Das ultramikroskopische Bild wurde photographiert. Es wird durch Abb. 3 wiedergegeben. Die Abbildung zeigt nur die einzelnen größeren Teilchen, die sich in Ruhe befinden, scharf. Die zahlreichen sich schnell bewegenden Teilchen erscheinen in der Abbildung wegen der notwendigen Belichtungsdauer von mehreren Sekunden als Schleier bzw. als Maserung.

b) Die Emulsion Eg zeigt im Ultramikroskop vollkommene Inhomogenität (Abb. 4). Neben kleinen Teilchen, wie bei der feinen Emulsion, konnte eine Reihe größerer bis zu 20 und  $30\mu$  Durchmesser in dem quadratischen Gesichtsfeld beobachtet und ausgezählt werden. Als Beispiel dienen zwei Gesichtsfelder.

	Teilchen	unter $4\mu$	5– $8\mu$	8– $20\mu$	20– $30\mu$	Gesamtzahl
I. Gesichtsfeld . . . .		76	14	2	1	93
II. „ . . . .		81	8	3	0	92

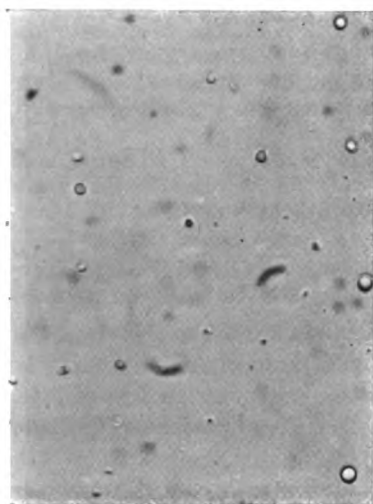


Abb. 1.

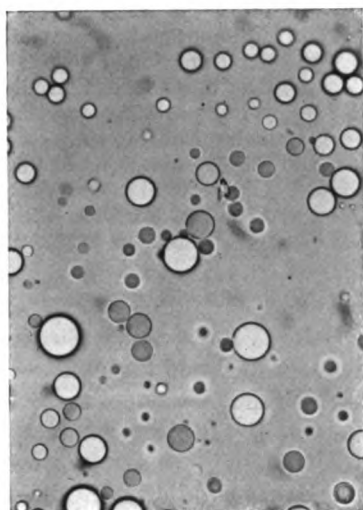


Abb. 2.

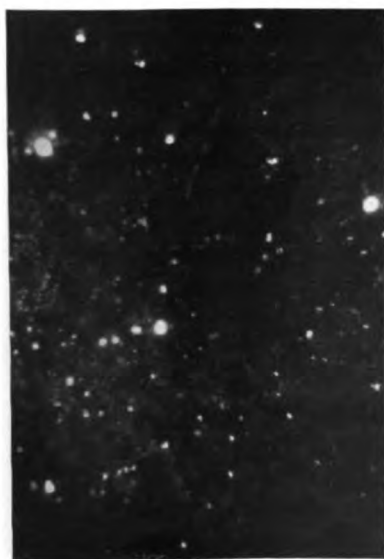


Abb. 3.

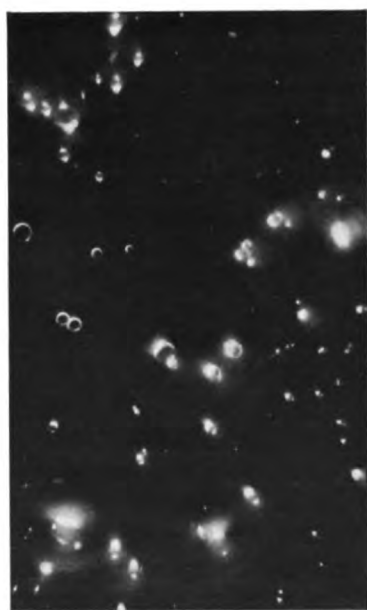


Abb. 4.

Nimmt man als Mittel 92 Teilchen, so ergeben sich etwa  $4,6 \cdot 10^6$  Teilchen pro Kubikmillimeter.

Die Teilchenzahlen von Ef und Eg:  $n_f : n_g$  verhalten sich also (im Beispiel der Emulsionen von Tabelle VI) wie 27,5 : 1. Diese Zahl bzw. das sich aus ihr ergebende Verhältnis der Größen der Teilchenradien von Ef : Eg „ $r_f : r_g$ “ = 0,33 entspricht, wie gezeigt, genau dem nephelometrischen Verhalten der Emulsionen.

Die relativ homogene Emulsion Ef besitzt demnach der inhomogenen Emulsion Eg gegenüber eine dreimal so große Oberfläche. Ihre Teilchenzahl ist rund 27mal so groß als die von Eg, der durchschnittliche Teilchenradius etwa dreimal so klein.

### III. Nephelometrische Methode zur Bestimmung von Fettkonzentrationen.

Die Voraussetzung für eine exakte nephelometrische Methode — Homogenität und Stabilität — bietet nur die Emulsion Ef. An ihr ist nachfolgende Methode ausgearbeitet worden, und nur sie kommt für anderweitige nephelometrische Untersuchungen über lipatische Spaltung in Frage.

Zu dem vorliegenden Zwecke ist dann die Methode auf die gröbere Emulsion Eg übertragen worden. Es gelang, innerhalb bestimmter Grenzen, die Methode auch für sie brauchbar zu machen, doch bedingt diese Übertragung ständige Kritik und Kontrolle.

Die nephelometrische Methode beruht auf der Messung des Trübungsverhältnisses verschiedener konzentrierter Trioleinemulsionen. Bei Messung lipatischer Spaltung ist das Auftreten von Ölsäure erschwerend, da diese ebenfalls als wässrige Emulsion einen starken Trübungseffekt bewirkt. Es war daher notwendig, zur Messung der Fetttrübung die entstehende Ölsäure zu entfernen. Alkoholische Lösung erwies sich als nicht durchführbar, dagegen gelang die Überführung der Ölsäure in eine wasserlösliche Seife. Um zu einer klaren Seifenlösung zu kommen, ist es notwendig, genau die für die gewählten Bedingungen geeignete Alkaliart und -konzentration zu ermitteln, da eine zu geringe Alkalikonzentration nicht alle Ölsäure in eine klare Seifenlösung überzuführen vermag, eine auch nur etwas zu starke aber durch Zurückdrängen der Dissoziation der Seife das Entstehen einer Seifentrübung bedingt. Als geeignetstes Milieu ergab sich aus zahlreichen Versuchen eine Normalität von  $\frac{1}{100} \text{NH}_4\text{OH}$ .

Es zeigte sich als wesentlichste Schwierigkeit für die Methode, daß die entstehende Seife auf das noch vorhandene ungespaltene Triolein emulgierend wirkt, und zwar verschieden, je nach dem Seifenfettkonzentrationsverhältnis.

Die emulgierende Seifenwirkung, die sich durch starke Aufhellung der Fetttrübung äußert, wurde durch Zusatz berechneter Mengen Oleinsäure zu neutralen Trioleinemulsionen quantitativ verfolgt. Es zeigte sich, daß die aufhellende Wirkung der Seife ungefähr bis zu einem



Gehalt von 100 Proz. Oleinsäure, bezogen auf das Triolein, ansteigt, dann zwischen einem Gehalt von 100 bis 300 Proz. Oleinsäure die gleiche bleibt, um bei noch höherer Konzentration sich in entgegengesetzter Weise geltend zu machen. Hieraus ergab sich die Möglichkeit, eine lipatische Spaltung bis zu etwa 50 Proz. dadurch zu verfolgen, daß man den Entnahmen Alkali und gleichzeitig Ölsäure derart zusetzte, daß der Mindestgehalt aller Entnahmen 100 Proz. Ölsäure, der Maximalgehalt nicht mehr als 300 Proz. betrug. Durch diesen Kunstgriff bewegte sich gewissermaßen die entstehende Ölsäure nicht zwischen 0 bis 50 Proz., sondern zwischen 100 bis 150 Proz. (bezogen auf die ursprünglich vorhandene Trioleinmenge), oder statt zwischen 0 bis 100 Proz. zwischen 100 bis 300 Proz. (bezogen auf die nach 50proz. Spaltung noch vorhandene Trioleinmenge). Diese Angaben, die sich auf die konstante Breite eines optimalen Emulgierungsgebiets von ölsaurer Seife auf Triolein beziehen, haben aber nur für eine bestimmte Alkalität und eine bestimmte Alkalikonzentration Geltung. Denn es zeigte sich, daß das Emulgierungsvermögen von Seife auf Fett in stärkstem Maße von dem Vorhandensein weiterer Elektrolyte abhängig ist. So kann eine Emulsion von Triolein und Natriumoleat durch eine geringe Konzentration von beispielsweise NaCl fast bis zur blanken Lösung aufgehellt werden. Diese Aufhellung zeigt aber keinerlei Gleichmäßigkeit innerhalb eines bestimmten Fett-Elektrolytkonzentrationsverhältnisses, so daß mit wechselnder Fettkonzentration — wie sie z. B. bei der fermentativen Spaltung entsteht — die Aufhellung durch einen relativ geringen Elektrolytgehalt eine verschiedenartige ist.

Es erwies sich daher als notwendig, Elektrolyte in einer Konzentration etwa oberhalb  $n/500$  den Seifenfett-emulsionen fernzuhalten. Es war daher auch nicht möglich, die Trioleinsysteme zu puffern. Der Ersatz des fixen Alkalis durch ein entsprechend alkalisches, aber pufferndes Salzsystem erwies sich in zahlreichen Versuchen als nicht durchführbar. Doch ist der Verzicht auf Pufferung nur ein sehr geringfügiger Mangel der Methode, da infolge des Gehalts der Emulsionen an  $K_2CO_3$  in einer Konzentration von  $n/1000$  und der sehr geringen entstehenden Ölsäurekonzentration das  $p_H$  bei einer Spaltung von 30 Proz. sich nur um etwa 0,2 ändert (s. Abschnitt IV).

Auf die Wiedergabe der methodischen Versuche sei verzichtet und nur die endgültig angewandte Form mitgeteilt.

Die folgende Methode gestattet — bei Ausschluß von nennenswerten Elektrolytzusätzen zu den Systemen — den Gehalt von Triolein-emulsionen in einem Bereich der Konzentrationen von 100 bis 60 Proz. (bei der feinen Emulsion Ef) und von 100 bis 70 Proz. (der gröberen Emulsion Eg) Fettkonzentrationen mit einer Genauigkeit bis zu 2 Proz. Fehler bei variierender Ölsäurekonzentration zu bestimmen.

Zur Trübungsmessung dienen 10 ccm der oben beschriebenen 0,05proz. Trioleinemulsion (Triolein 0,5proz. an Oleinsäure).

Als Reagenzien werden gebraucht:

a) Ammoniaklösung,  $n/25$ . Sie wird durch Verdünnung von  $n/1$   $\text{NH}_4\text{OH}$ -Lösung (*Kahlbaum*) bereitet.

b) Oleinsäure-Glycerinemulsion. Von Oleinsäure I *Kahlbaum* wird 1 g in 100 ccm Lösung in Alkohol gelöst. 96proz. Alkohol genügt. Eine Emulsion von 4,785 ccm dieser Lösung : 100 in Wasser entspricht hinsichtlich ihres Ölsäuregehalts der Emulsion von 5 : 100 der alkoholischen Trioleinlösung. Um an Volumen zu sparen, wurde aber die Oleinsäureemulsion doppelt so stark bereitet und nur das halbe Volumen verwandt. Es wurden daher zur Herstellung einer Oleinsäureemulsion 19,14 ccm der 1proz. alkoholischen Oleinsäurelösung in einen 200 ccm Meßzylinder gebracht und durch schnelles Hinzugießen von Aqua dest. — unter Rühren — emulgiert. Vor völligem Auffüllen wird der Emulsion noch die bei einer Fettspaltung entstehende Glycerinmenge — s. diese — zugegeben und die Lösung mit Aqua dest. auf 200 ccm gebracht. Es entsteht eine völlig homogene, stark bläulich opaleszierende Emulsion, die sich mehrere Tage ohne abzusetzen hält. Da eine gewisse Teilchenaggregation aber aus ihrer zunehmenden Trübung zu erkennen ist, wurde, um stets mit sicher homogenen Lösungen zu arbeiten, die Oleinsäureemulsion am Versuchstage stets frisch bereitet.

5 ccm der Emulsion entsprechen hinsichtlich ihres Ölsäure-Glycerin-gehalts 10 ccm der Trioleinemulsion, also bei Anwendung dieses Volumens 100 Proz.

c) Glycerinlösung. Es wird eine 1proz., wässrige Glycerinlösung bereitet. 2,1 ccm dieser Lösung, die 19,14 ccm der Oleinsäurelösung entsprechen, werden zu 200 ccm Oleinsäureemulsion vor deren endgültiger Auffüllung gegeben. Das Glycerin wurde zur Ölsäure zugefügt, um — obgleich es in der geringen Konzentration kaum von Einfluß ist — bei einer lipatischen Spaltung nicht 100 Proz. „Ölsäure“, sondern 100 Proz. „Spaltprodukte“ als Vorlage zu benutzen.

Zur Messung einer Trioleintrübung — die bis zu 50 Proz. Ölsäure und Glycerin variierend enthalten kann — werden nun pro 10 ccm Emulsion 5 ccm Ammoniak  $n/25$  und 5 ccm der Oleinsäure-Glycerinemulsion in einem 25 ccm fassenden Reagenzglas als Vorlage gemischt.

Hierbei entsteht eine praktisch klare Lösung von Ammoniumoleat. Eine hauchförmige Trübung ist ohne Bedeutung. Nach mehreren Stunden beginnen die Vorlagen sich zu trüben. Der Versuch soll also innerhalb von 2 bis 3 Stunden nach Ansetzen der Vorlage auch erfolgen.

In diese Vorlage kommen die 10 ccm der Trioleinemulsion. Es entsteht hierbei besonders bei Anwendung von Ef eine hochdisperse, feine Fetttrübung, die völlig homogen erscheint und stundenlang haltbar ist.

Es ist jedoch ratsam, die Fettrübungen innerhalb der ersten Stunde im Nephelometer messend zu vergleichen.

Die Vorlage besitzt genügend Ammoniumhydroxyd, um Oleinsäuremengen in der Trioleinemulsion bis zu 50 Proz. zu lösen. Dies läßt sich leicht durch Zusatz von 2,5 ccm der Oleinsäure-Glycerinemulsion zu den klaren Seifenvorlagen zeigen.

Es wird also die bei einer lipatischen Spaltung entstehende Fettsäure durch die Vorlage glatt gelöst. Die bei der Mischung bleibende Trübung ist eine reine Fettrübung, die durch den Seifenammoniakgehalt der Vorlage auf eine bestimmte Dispersität gebracht ist. Daß diese Dispersitätsstufe innerhalb der angewandten Fettkonzentrationen die gleiche bleibt, geht daraus hervor, daß die Fettkonzentrationen — gemessen im Nephelometer — sich genau proportional den Trübungen verhalten. Die bei der Spaltung entstehende Fettsäure-Glycerinmenge ist ohne Einfluß auf das Proportionalitätsverhältnis, da sie sich zwischen 100 bis 150 Proz. bewegt und innerhalb dieser Grenzen eine optimale aber gleichmäßige Emulgierung bewirkt.

Das Proportionalitätsverhältnis geht rund bis zu 40 Proz. Spaltung und ist absolut genau (bzw. 1 Proz. Messungsfehler) bei der Emulsion Ef.

Die Emulsion Eg gibt keine so homogene Fettlösung, sondern läßt schon mittels der Lupe Einzeltröpfchen erkennen. Daher ist auch die Exaktheit der Methode nicht so streng wie bei der Emulsion Ef. Bis zu 30 Proz. Spaltung genügt aber das Proportionalitätsgesetz dem Befunde. Über diese Grenze hinaus werden die verdünnten Emulsionen relativ zu trübe (100 : 50 Proz. Konzentrationsverhältnis verhält sich nicht wie 1 : 2, sondern etwa wie 1 : 1,8). Es machen sich auch bei der Schüttelemlusion Ef die äußerst zahlreichen, sehr hartnäckig in der Lösung verharrenden Luftbläschen störend bemerkbar. Sie müssen durch öfteres Austauschen der Nephelometereintauchzylinder entfernt werden.

Die Emulsion Eg genügt jedoch, wenn man nur mit der Spaltung nicht über 30 Proz. hinausgeht und die Emulsionen durch einen Verdünnungsversuch kontrolliert, hinreichend für den vorliegenden Zweck. Der Fehler beträgt bei ihr etwa 2 bis 3 Proz.

Als Beispiel für die Methode der Fettkonzentrationsbestimmung diene folgender Versuch.

*Tabelle I.* Beispiel der Methode durch Verdünnungsversuch.

Trioleinemulsion . . . . . ccm			10	9	8	7	6
Ef	Nephelometr. Mess.	Versuch I	20,0	22,2	25,0	28,5	33,3
		" II	20,0	22,3	25,0	28,5	33,3
Eg	" "	" I	20,0	22,5	25,0	28,2	—
		" II	20,0	22,4	25,0	28,8	—
Gefundene Konzentration von Ef in Proz.			100	90	80	70	60
" " " Eg " "			100	89	80	70	—

Angewandt wurden je 10,0, 9,0, 8,0 und 7,0 ccm der Emulsionen Ef und Eg. Zu den Vorlagen kamen außer den 5 ccm  $n/25$   $\text{NH}_4\text{OH}$ -Lösung und 5 ccm Oleinsäureemulsion noch 0,0, 0,5, 1,0 und 1,5 ccm Oleinsäureemulsion um die Menge Spaltprodukte zuzufügen, die bei einer Trioleinspaltung entstehen würden. Mit Aqua dest. wird auf 20 ccm aufgefüllt.

Der Versuch zeigt als Beispiel die Eignung der Methode für die Bestimmung von Fettkonzentrationen.

#### IV. Lipatische Spaltung gleich konzentrierter Fettemulsionen verschiedener Dispersität.

Zur Durchführung einer vergleichenden Fermentspaltung wurden die Emulsionen Ef und Eg am Versuchstage hergestellt. Ebenso wurde das Oleinsäure-Glycerinemulsionsgemisch frisch bereitet. Die Emulsion Eg wird unmittelbar vor Ansetzung der Spaltung nochmals 10 Minuten mit der Hand kräftig durchgeschüttelt.

Von jeder Emulsion werden zwei Spaltungen (als Parallelversuch) angesetzt. Um eine Entmischung der Emulsion Eg zu vermeiden, werden die Spaltungen während möglichst kurzer Zeit angestellt. Es wurden sieben Abnahmen in Abständen von 4 Minuten, also eine Gesamtspaltungszeit von 24 Minuten gewählt.

In je einen Meßzylinder von 75 ccm Volumen werden 73 ccm der Emulsion gegeben, da jeder Versuch zweimal angesetzt wird, werden also vier Meßzylinder beschickt. In jeden Meßzylinder kommt eine 10-ccm-graduierte Meßpipette. Dann werden die Meßzylinder in einen Thermostaten gestellt, dessen Wassertemperatur mittels Rührwerk und Temperaturregulierung genau auf  $40^\circ$  eingestellt ist. In ihm wärmen die Emulsionen etwa 15 Minuten vor, bis sie die Temperatur des Wasserbads erreicht haben.

In den Thermostaten kommt zu gleicher Zeit ein Zylinder mit mindestens 30 ccm Fermentlösung zum Anwärmen. Die Fermentlösung wird durch Digerieren und Filtration von Pankreatin Rhenania erhalten. Wir verwandten Auszüge von 0,25 g Pankreatin auf 100 ccm Aqua dest., die in der angegebenen Zeit eine Spaltung bis zu etwa 30 Proz. bewirkten. Die Fermentkonzentration soll so gewählt werden, daß 30 Proz. Spaltung — wegen der Anwendungsbreite der Methode — nicht überschritten werden, diese Grenze aber andererseits auch möglichst erreicht wird, um nicht zu kleine Ausschläge zu erhalten. Die Pankreatinaufschwemmung bleibt unter mehrmaligem gründlichem Durchrühren etwa 15 bis 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen, dann wird sie filtriert. Ist das Filtrat nicht völlig klar, wird es nochmals durch das gleiche Filter gegossen, wobei es stets völlig klar wird. Etwa 5 bis 10 ccm des klaren Fermentfiltrats werden abge-

nommen und einige Minuten gekocht, wobei es sich zunächst trübt und dann eine flockige Eiweißabscheidung aufweist, die abfiltriert wird. Das ungekochte aktive Fermentfiltrat kommt in den Thermostaten.

Inzwischen werden die Vorlagen für die Fermentabnahmen vorbereitet. Da sieben Abnahmen gemacht werden, müssen 28 Vorlagen vorbereitet werden. Hierzu werden in 28 sorgfältigst gereinigte und im Trockenschrank getrocknete Reagenzgläser je 5 ccm n/25 Ammoniak und 5 ccm der Oleinsäure-Glycerinemulsion gegeben.

In das erste Reagenzglas jeder der vier Reihen, zu je sieben Reagenzgläser kommt 1 ccm der abgekochten Fermentlösung. Sie dienen dazu, das Volumen der ersten Abnahme, das nur 9 ccm beträgt — im Gegensatz zu den späteren Abnahmen zu 10 ccm —, auszugleichen. Es werden deshalb nur 9 ccm zur ersten Abnahme entnommen, weil die Abnahme vor Mischung der Fettemulsion mit Fermentlösung, durch die sie um 10 Proz. verdünnt wird, geschieht und stets die gleiche Menge entnommen werden muß.

Daß zum Ausgleich des Volumens 1 ccm abgekochter Fermentlösung und nicht  $H_2O$  verwandt wird, hat seinen Grund darin, daß der Salzgehalt des Fermentauszuges — besonders wenn man etwas höhere Fermentkonzentrationen verwendet — emulgierend auf die Fettseifenmischung wirkt. Es wird also durch den Gehalt an Fermentlösung eine, wenn auch geringe Aufhellung der Systeme bewirkt, die, wenn diese Aufhellung in der ersten Abnahme nicht vorhanden wäre, eine scheinbare Spaltung vortäuschen würde. Daß es die Salze sind und nicht etwa der Eiweißgehalt der Fermentlösung, der diese Wirkung ausübt, geht aus Versuchen hervor, Fettseifenemulsionen vergleichend 1 ccm abgekochter und nicht abgekochter, aktiver Fermentlösung zuzusetzen. Die nephelometrische Messung — unmittelbar nach Zusatz — zeigte bei Emulsion Ef wie bei Eg, daß die Systeme völlig gleich trübe waren, also der geringe Eiweißgehalt der Fermentlösung (der eine schwache Opaleszenz der Systeme verursachen kann, wenn man die Fermentlösung allein den klaren Vorlagen zufügt) keine Wirkung hat, und daß die hauchförmige Eiweißtrübung hinter der massiven Fetttrübung völlig verschwindet.

Nunmehr werden den Trioleinemulsionen im Thermostaten 10 ccm entnommen, 1 ccm wird verworfen und 9 ccm kommen in die erste Vorlage, deren Gesamtvolumen jetzt also 20 ccm ist. Es empfiehlt sich, diese ersten Abnahmen, die das ganze ungespaltene Fett, also 100 Proz., enthalten und gegen die die weiteren Entnahmen gemessen werden, am Nephelometer jetzt vorzubereiten. Hierzu werden zwei Paar Nephelometergläser aufgestellt und in je eines einmal die erste Abnahme der Emulsion Ef und die erste Abnahme der Emulsion Eg eingefüllt. Man mißt im zweiten Glase die Übereinstimmung mit der entsprechenden

Parallele, leert dann das Parallelglas wieder und läßt nur je ein Nephelometerglas mit der Ausgangstrübung gefüllt.

Nun werden, während der Untersucher am Nephelometer bleibt, von einem Assistenten je 7 ccm der vorgewärmten Fermentlösung zu den 63 ccm der Triolein-Emulsion in einem Abstand von je 1 Minute gegeben. Die Zugabezeit wird genau mittels Stoppuhr markiert. 1 Minute nach der letzten Fermentzugabe, also 4 Minuten nach der ersten Zugabe, erfolgt die erste Abnahme aus Zylinder 1. Es werden 10 ccm nach einmaligem Durchblasen der Pipette mit dieser entnommen und in die Vorlage pipettiert. Nach je 1 Minute folgt die nächste Abnahme aus Zylinder 2 usw., so daß aus jedem Zylinder alle 4 Minuten 10 ccm entnommen werden. Die Vorlagen werden mit vorsichtiger, ganz langsamer Bewegung durchmischt, um die Bildung von Schaum zu verhindern, der die nephelometrische Messung sehr stört. Sie werden sofort von dem Untersucher gegen die erste Abnahme nephelometriert, und zwar jede Emulsionsart gegen ihre eigene erste Abnahme. Daher mußten zwei Paar Nephelometergläser vorbereitet werden. Bei einigermaßen geübtem Untersucher gelingt es, beim Nephelometrieren ungefähr mit dem Tempo der Entnahmen mitzukommen. Wenn er etwas langsamer arbeitet, schadet dies auch nicht, da bei Zimmertemperatur die Spaltung ja nur langsam weiterschreitet.

Die Fermentwirkung zu unterbrechen, war nicht möglich, da alle in Frage kommenden Zusätze die Emulsion ändern. Auch Bewahrung in Eis ist unzumutbar, da die bei der Wiedererwärmung auftretenden Luftblasen das Nephelometrieren äußerst erschweren. Das sofortige Messen der gespaltenen Lösung und das Zusammenarbeiten zweier Untersucher, von denen der eine die Abnahmen in je 1 Minute Abstand macht, während der andere nephelometriert, erwies sich als vorteilhaft.

Während des Nephelometrierens ist sehr auf die Luftblasen, die sich bei der Neigung der Emulsionen zur Schaumbildung bilden, zu achten, und besonders bei der Emulsion Eg ist das Nephelometerglas zur Kontrolle öfters auszutauschen. Auch müssen die Tauchzylinder zwischen jeder Messung mittels eines weichen Leinentuches gut abgerieben werden, da sich auf ihnen sonst ein Fettbeschlag bildet.

Nach der siebenten Abnahme verbleiben in den Substrat-Fermentgemischen noch 10 ccm, die zur  $p_H$ -Bestimmung dienen.

Daß der  $p_H$  sich kaum ändert, geht daraus hervor, das z. B. beim Versuch 6 der  $p_H$  der Fett-Emulsionen 7,5 bis 7,6 betrug. Nach Verdünnen mit der eiweißhaltigen Fermentlösung sank die Alkalität auf 7,26. Nach der Spaltung bis zu etwa 30 Proz. betrug der  $p_H$  der Fettlösung 7,1 bis 7,2.

Während die Resultate bei Anwendung der Emulsion Ef völlig sicher und zuverlässig sind, kommt es — wie oben dargestellt — bei der Emulsion Eg, die ja durch Rühren usw. sich ändern kann, mitunter zu Schwankungen, die sich z. B. darin zeigen, daß zwei Parallelen nicht mehr tadellos stimmen. Um die Gültigkeit der Methode bzw. die Eignung der vorliegenden Emulsion Eg für den Fermentversuch nachzuweisen, wurde nach jeder Spaltung mit der Emulsion Eg eine Kontrolle angestellt. Es wurde eine Spaltung nachgebildet. Zu 45 ccm der Emulsion Eg kamen 5 ccm abgekochter Fermentlösung. Dann kam die Emulsion ins Wasserbad. In Abständen von etwa 10 Minuten wurden 10,0, 9,0, 8,0 und 7,0 ccm entnommen, entsprechend 100 bis 70 Proz. Fettlösung. In die Vorlagen kamen entsprechend noch 0 bis 30 Proz. Spaltprodukt, also 0, 0,5, 1,0 und 1,5 ccm Oleinsäureemulsion. Mit Wasser wurde auf 20 ccm aufgefüllt. Es zeigte sich fast stets sehr gutes Übereinstimmen der gefundenen mit den angewandten Fettkonzentrationen.

Die Versuche werden wiedergegeben durch Tabellen II bis VI und Abb. 5 bis 9. Zwei Fettspaltungen der Emulsionen Ef und Eg mittels verschiedener Fermentmengen (Fermentkonzentrationsverhältnis 1 : 3) werden dargestellt durch Tabelle VII und VIII und Abb. 10 und 11.

Die Versuche zeigen folgendes Ergebnis:

Die Spaltung beider Emulsionen Ef und Eg verläuft anfangs völlig gleichmäßig. In allen Versuchen sind die Anfangsgeschwindig-

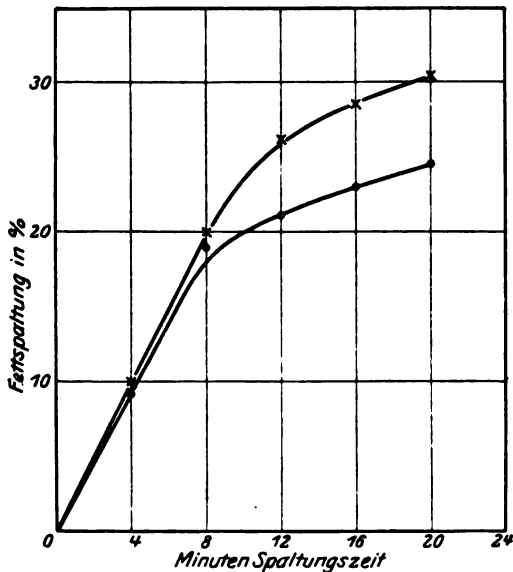


Abb. 5.

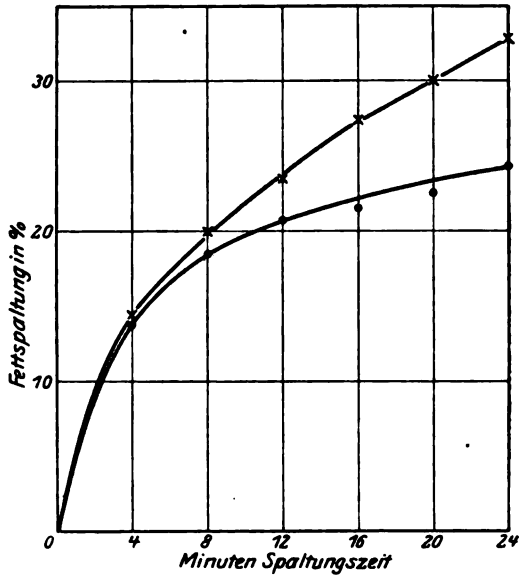


Abb. 6.

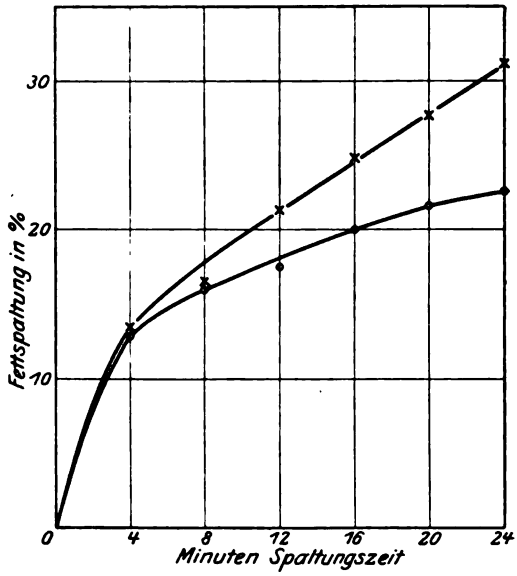


Abb. 7.



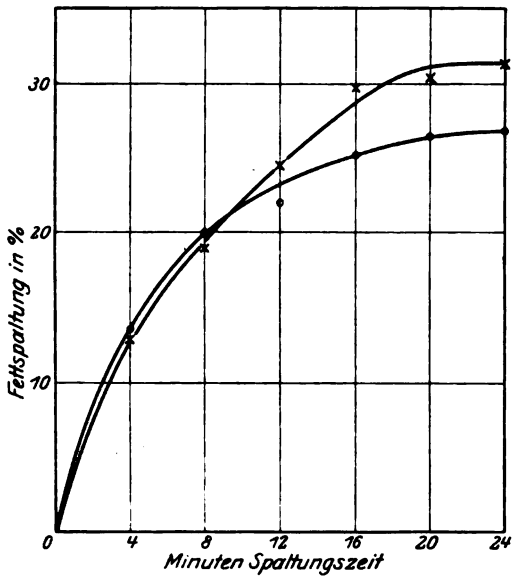


Abb. 8.

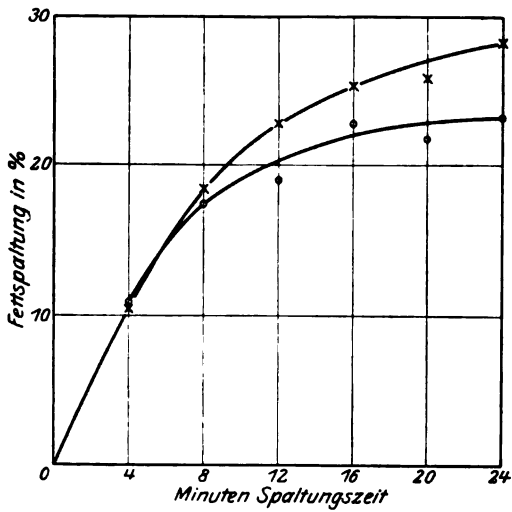


Abb. 9.

Tabelle II.

Vergleich der fermentativen Spaltung bei gleichkonzentrierter Fettemulsion verschiedener Dispersität Ef und Eg. Fermentlösung Pankreatin Rhenania 1 : 200. Trioleinemulsion 0,05proz. Vorlage: 5 ccm Olein-Glycerinemulsion + 5 ccm n/25 NH<sub>4</sub>OH-Lösung.

Spaltungszeit . . . . . Min.			0	4	8	12	16	20	p <sub>H</sub>
Ef	Neph.-Ablesung	Vers. I	20,0	22,1	25,0	26,8	28,2	28,5	
		" II	20,0	22,2	25,0	27,2	27,7	29,2	
Eg	" "	" I	20,0	22,1	24,7	25,4	26,0	26,5	Vor der Spaltung (vor Fermentzusatz): Ef = 7,80 Eg = 7,80
		" II	20,0	22,1	24,7	24,3	25,6	25,7	
Ef-Eiweißspaltung, Proz.			0	10,0	20,0	26,0	28,5	30,5	
Eg- " "			0	9,5	19,0	21,0	23,0	24,5	

Kontrollversuch (Verdünnungsversuch) der Methode bei der Emulsion Eg.

Versuchsmengen . . . . . Proz.	100	90	80	70
Versuchsmengen . . . . . Proz.	100	90	80	20
Nephelometermessung I . . . . .	20,0	22,0	24,7	28,5
" " II . . . . .	20,0	23,0	25,2	28,5
Gefundene Fettmenge . . . . . Proz.	100	91,2	80,0	70,0

Trübungsverhältnis von Ef : Eg = 36,3 : 10 = 3,6 : 1.

Tabelle III.

Anordnung wie die vorangehende.

Spaltungszeit . . . . . Min.			0	4	8	12	16	20	24	p <sub>H</sub>
Ef	Neph. Abl.	Vers. I	20,0	23,2	25,1	26,0	28,2	28,9	30,0	
		" II	20,0	23,5	24,8	26,4	27,8	28,3	29,8	
Eg	" "	" I	20,0	23,9	24,5	25,2	25,5	25,8	26,2	Vor der Spaltung (vor Fermentzusatz): Ef = 7,56 Eg = 7,54
		" II	20,0	22,4	24,6	25,5	25,5	25,8	26,6	
Ef-Eiweißsp., Proz.			0	14,5	20,0	23,6	27,5	30,0	33,0	
Eg-Eiweißsp. "			0	14,2	18,5	20,5	21,5	22,5	24,3	

Kontrollversuch (Verdünnungsversuch) der Methode bei Eg.

Versuchsmenge . . . . . Proz.	100	90	80	70
Nephelometer-Ablesung I . . . . .	20	22,4	25,2	28,9
" " II . . . . .	20	22,4	24,9	29,0
Gefundene Fettmenge . . . . . Proz.	100	89,5	79,5	69,0

Trübungsverhältnis von Ef : Eg = 41 : 10 = 4,1 : 1.

Tabelle IV.

Anordnung wie die vorangehende.

Spaltungszeit . . . Min.		0	4	8	12	16	20	24	$p_H$	
Ef	Neph. Abl.	Vers. I	20,0	23,0	23,9	25,3	26,5	27,5	—	<i>Nach der Spaltung:</i> Ef = 7,18 Eg = 7,11 <i>Vor der Spaltung (vor Fermentzusatz):</i> Ef = 7,52 Eg = 7,58
		" II	20,0	23,2	23,9	25,3	26,7	27,7	29,0	
Eg	" "	" I	20,0	22,9	23,7	24,5	25,0	25,5	26,0	
		" II	20,0	23,2	23,2	23,9	25,0	25,2	25,5	
Ef-Eiweißsp., Proz.		0	13,5	16,5	21,3	24,7	27,5	31,0		
Eg-Eiweißsp., "			13,0	15,8	17,5	20,0	21,5	22,5		

Kontrollversuch (Verdünnungsversuch) der Methode bei Eg.

Versuchsmenge . . . . . Proz.	100	90	80	70
Nephelometer-Ablesung I . . . .	20	22,2	25,4	27,5
" " II . . . .	20	22,2	24,6	28,0
Gefundene Fettmenge . . . Proz.	100	90	80	72

Trübungsverhältnis von Ef : Eg = 22,5 : 10 = 2,25 : 1.

Tabelle V.

Anordnung wie die vorangehende.

Spaltungszeit . . . Min.		0	4	8	12	16	20	24	$p_H$	
Ef	Neph. Abl.	Vers. I	20,0	23,0	24,6	26,9	28,2	29,0	29,4	<i>Nach der Spaltung:</i> Ef = 7,08 Eg = 7,22 <i>Vor der Spaltung (vor Fermentzusatz):</i> Ef = 7,45 Eg = 7,44
		" II	20,0	23,0	24,7	26,5	27,9	28,5	28,8	
Eg	" "	" I	20,0	23,2	25,0	25,5	26,7	26,9	27,3	
		" II	20,0	23,0	25,0	25,6	26,7	27,5	27,5	
Ef-Eiweißsp., Proz.		0	13,0	19,0	24,5	29,7	30,5	31,2		
Eg-Eiweißsp., "		0	13,4	20,0	22,0	25,2	26,5	27,0		

Kontrollversuch (Verdünnungsversuch) der Methode bei Eg.

Versuchsmenge . . . . . Proz.	100	90	80	70
Nephelometer-Ablesung I . . . .	20,0	22,2	25,2	28,5
" " II . . . .	20,0	22,2	24,8	28,5
Gefundene Fettmenge . . . Proz.	100	90	80	70

Trübungsverhältnis von Ef : Eg = 30 : 10 = 3 : 1 (Blaufilter).

Tabelle VI.

Anordnung wie die vorangehende.

Spaltungszeit . . . . Min.			0	4	8	12	16	20	24	$p_{\text{H}}$
Ef	Neph. Abl.	Vers. I	20,0	22,5	24,7	26,1	27,0	27,3	28,3	
		" II	20,0	22,2	24,3	25,7	26,5	26,5	27,9	
Eg	" "	" I	20,0	22,6	24,0	24,7	26,0	25,5	26,0	Vor der Spaltung (vor Fermentsatz): Ef = 7,62 Eg = 7,61
		" II	20,0	22,7	24,5	24,7	25,8	25,5	26,0	
Ef-Eiweißspalt., Proz.			0	10,5	18,5	22,8	25,2	25,7	28,7	
Eg-Eiweißspalt., "			0	11,0	17,5	19,0	22,7	21,5	23,0	

Kontrollversuch (Verdünnungsversuch) der Methode bei Eg.

Versuchsmenge . . . . . Proz.	100	90	80	70
Nephelometer-Ablesung I . . . . .	20,0	22,6	25,2	28,5
" " II . . . . .	20,0	22,3	25,2	28,5
Gefundene Fettmenge . . . . .	100	89,0	79,5	70,5

Trübungsverhältnis Ef : Eg = 28,5 : 10 = 2,85 : 1.

Tabelle VII.

Spaltung der gleichen Emulsion Ef mit verschiedenen Fermentmengen.  
(Fermentkonzentration Pankreatin Rhenania 1 : 100 und 1 : 300).

Spaltungszeit . . . . . Min.			0	4	8	12	16	20	24
1. Fermentlösung 1 : 100	Neph. Abl.	Versuch I	20	23,4	24,2	26,0	27,2	29,0	30,2
		" II	20	23,4	24,2	26,0	27,2	29,0	30,2
2. Fermentlösung 1 : 300	" "	" I	20	20,2	21,0	21,9	22,1	22,5	22,7
		" II	20	20,2	21,0	21,9	22,1	22,5	22,7
1. Eiweißspaltung, . . . . . Proz.			0	14,5	17,4	23,1	26,5	31,0	33,8
2. " . . . . . "			0	1	4,6	8,5	9,5	11,2	12,0

Tabelle VIII.

Spaltung der gleichen Emulsion Eg mit verschiedenen Fermentmengen.  
(Fermentkonzentration Pankreatin Rhenania 1 : 50 und 1 : 150.)

Spaltungszeit . . . . . Min.			0	4	8	12	16	20	24
1. Fermentlösung 1 : 50	Neph. Abl.	Versuch I	20,0	25,0	27,0	28,5	29,0	29,9	31,8
		" II	20,0	25,0	27,0	28,6	29,2	30,0	31,4
2. Fermentlösung 1 : 150	" "	" I	20,0	22,0	23,6	24,4	25,5	26,0	26,5
		" II	20,0	22,0	23,6	24,4	25,5	26,2	26,9
1. Eiweißspaltung . . . . . Proz.			0	20,0	26,0	29,7	31,0	33,0	36,5
2. " . . . . . "			0	8,0	15,2	18,0	21,5	23,2	23,6

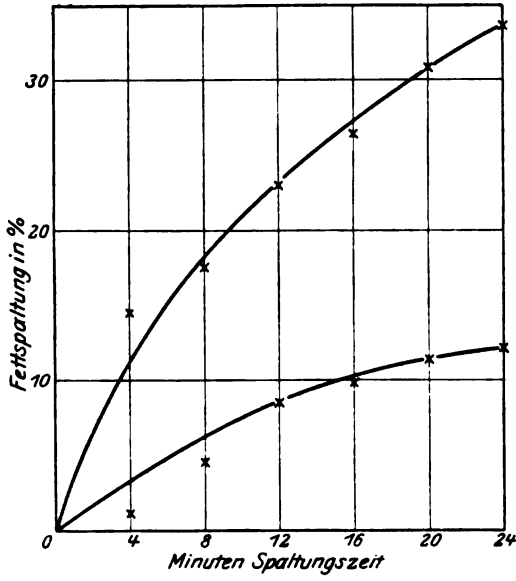


Abb. 10.

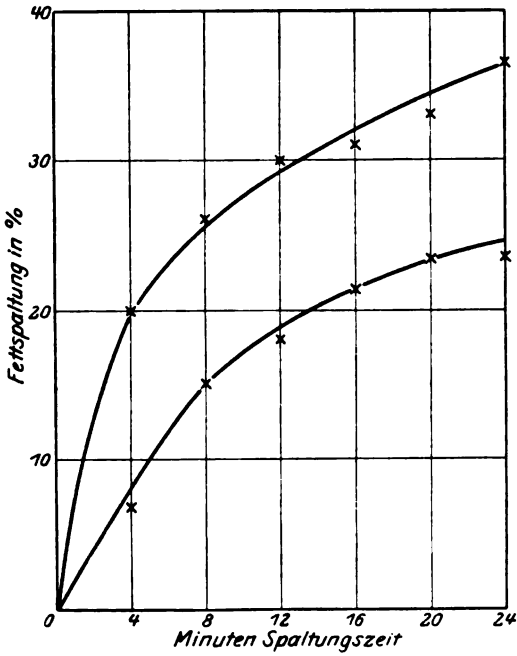


Abb. 11.

keiten gleich. Diese Übereinstimmung dauert etwa bis zu 8 Minuten Spaltungszeit, die einer Spaltung von ungefähr 15 bis 20 Proz. entspricht. Von hier gehen die Kurven der Abbildungen 5 bis 10, die den Spaltungsverlauf zeigen, etwas auseinander. Die Kurven zeigen bei beiden Emulsionen eine starke Krümmung, bei beiden zeigt die Spaltung die Tendenz, zum Stillstand zu kommen. Diese Krümmung ist bei der Emulsion Eg etwas stärker. Sie spaltet nach 20 Proz. Spaltung nur noch ganz langsam weiter, während die Kurven von Ef eine geringere Bremsung aufweisen. Der Unterschied ist aber kein allzu großer. Bei 15 Proz. Umsatz ist gar kein Unterschied vorhanden, bei 30 Proz. (Ef) beträgt er durchschnittlich 6 Proz.

Daß tatsächlich Fermentspaltungen gemessen werden, und daß Spaltungsunterschiede bei Variation der Fermentmenge stark hervortreten, zeigen die Tabellen VII und VIII. Sie stellen den wesentlichen Unterschied der Umsätze dar, der bei Anwendung von Fermentkonzentrationen im Verhältnis 1:3 sowohl bei der Emulsion Ef als auch bei der Emulsion Eg resultiert.

#### V. Diskussion der Versuche.

Betrachtet man die graphischen Bilder der Fermentspaltungen bei den verschiedenen dispersen Emulsionen, so ist die genaue Übereinstimmung der Umsätze bei Spaltungen bis zu 15 bis 20 Proz. das Auffallendste. Bei der völligen Verschiedenheit der Dispersität der verglichenen Emulsionen müßten sehr große Unterschiede in den Umsätzen hervortreten, wenn die Oberflächenkräfte die Bindung zwischen Substrat und Ferment bedingten.

Des weiteren zeigt sich aber in allen Versuchen, daß die Kurven der gröberen Emulsion sich etwas stärker krümmen, ja die Umsätze der Emulsion Eg nach 20proz. Spaltung nahezu stehen zu bleiben scheinen. Hier muß man nun fragen, welche Einschränkungen in den Schlußfolgerungen die Anwendung der optischen Methodik bedingt.

Was gemessen wird, ist die Aufhellung einer Fetttrübung, und zwar sekundär nach Überführung auf eine bestimmte Dispersitätsstufe mittels einer Seifenvorlage. Diese Methode liefert genaue Resultate bei dem Vergleich verschiedener Trioleinkonzentrationen. Die lipatische Spaltung führt aber mit großer Wahrscheinlichkeit nicht gleich zum völligen Zerfall von Triolein in Oleinsäure und Glycerin, sondern geht über Zwischenstufen (Diolen—Glycerin usw.), die ebenfalls trüben werden. Die Trübungsaufhellung der Fettlösung braucht daher nicht direkt proportional der spaltenden Wirkung zu sein, sondern steht nur in irgend einem Funktionsverhältnis zu ihr. Voraussetzung für die Methodik ist ferner gleiche Dispersität in den zu vergleichenden

Lösungen. Diese Voraussetzung wird nun bei den Verdünnungsversuchen erfüllt, da bei Verdünnungen der durchschnittliche Durchmesser der Emulsionsteilchen der gleiche bleibt. Bei der Spaltung kann sich aber eventuell der Dispersitätsgrad verschieben. Zwar nur wenig bei der Emulsion Ef, die relativ homogen ist, dagegen stark bei der Emulsion Eg, die völlig inhomogen ist. Es ist daher möglich, daß bei fortschreitender Spaltung die Emulsion Eg durch Änderung ihrer Dispersität ein anderes Verhältnis zwischen Trübung und tatsächlicher Spaltung ergibt als die Emulsion Ef.

Allerdings spricht hiergegen wieder folgende Überlegung. Würden z. B. in der Emulsion Eg zunächst nur dieselben kleinsten Teilchen gespalten werden, die z. B. die Emulsion Ef bilden, so müßte die Spaltung von Eg schneller sein als die von Ef, da dann die entsprechende Teilchenzahl, die in der Emulsion Eg zur Spaltung gelangt, also die Substratkonzentration, geringer wäre.

Des weiteren müßte bei einer Bevorzugung der kleinen Teilchen von Eg bzw. einer schnelleren Verkleinerung der kleinen Teilchen im Verhältnis zu den größeren — wodurch eine Dispersitätsänderung von Eg während der Spaltung entstehen könnte — die Lösung geringer dispers werden, also dunkler. Die Spaltung würde also scheinbar schneller fortschreiten als bei Ef, während tatsächlich das Gegenteil der Fall ist. Und mit einer Dispersitätsvergrößerung durch die Spaltung ist kaum zu rechnen, da ja die Teilchen nicht zerschlagen, sondern aufgelöst werden dürften.

Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß nicht die Methodik die stärkere Biegung der Kurven von Eg liefert, sondern daß tatsächlich der Spaltungsvorgang sich bei der gröberen Emulsion etwas schneller verlangsamt als bei der feinen.

Da aber die Beziehungen zwischen Trübung, Dispersitätsänderung und Spaltung nicht völlig durchsichtig sind, so ist die geringe Differenz in beiden Kurven nur relativ gering zu bewerten. Dagegen erscheint gerade der Anfangsteil der Kurven auch methodisch einwandfrei und die Übereinstimmung der Spaltungen bis zu 15 bis 20 Proz. bei Oberflächen, die sich wie 1:3 verhalten, läßt den Schluß ziehen, daß innerhalb der untersuchten Grenzen die Dispersität des Substrats ohne nennenswerten Einfluß auf die lipatische Fettspaltung ist.

#### Zusammenfassung.

1. Der Einfluß der Substratoberfläche auf die Fermentwirkung wird an lipatischer Spaltung gleich konzentrierter, aber verschieden disperser Ölemulsionen geprüft.

2. Die Herstellung verschieden disperser Ölemulsionen wird beschrieben. Es wird eine höher disperse stabilere Emulsion Ef durch

Kondensation und eine gröbere, weniger stabile, gleich konzentrierte Emulsion Eg durch Dispersion hergestellt.

3. Die Emulsionen werden nephelometrisch, mikroskopisch und ultramikroskopisch untersucht. Die Emulsion Ef enthält z. B. etwa  $12,6 \cdot 10^7$  Teilchen im Kubikmillimeter, die Emulsion Eg etwa  $4,6 \cdot 10^6$ . Die Teilchenzahlen verhalten sich also rund wie 27:1. Hieraus folgt, da gleiche Konzentration, daß die Teilchenradien von Ef:Eg sich verhalten wie 1:0,33. Die Oberflächen der Emulsionen verhalten sich wie 3:1.

Das gleiche Ergebnis ergibt sich aus dem nephelometrischen Trübungsvergleich der beiden Emulsionen, wenn man die Formel von *v. Angerer* zugrunde legt, nach der die Lichtintensität des Tyndalllichts bei kugelförmigen Teilchen über  $30 \mu\mu$  mit dem Quadrat des Teilchenradius wächst.

4. Eine nephelometrische Methode zur Bestimmung von Trioleinkonzentrationen wird mitgeteilt. Sie beruht auf dem Trübungsvergleich von Trioleinemulsionen im Nephelometer nach *Kleinmann*, nachdem die Emulsionen durch Mischung mit einer bestimmten Vorlage von ammoniakalischem Ammoniumoleat auf eine bestimmte Dispersitätsstufe gebracht sind. Bei lipatischen Spaltungen bis zu 50 Proz. wird die entstehende Ölsäure durch das Ammoniak der Vorlage in Lösung gebracht. Das vorgelegte Ammoniumoleat bringt das während der Spaltung gebildete auf eine Konzentrationsbreite, innerhalb der die emulgierende Seifenwirkung gleichartig ist.

Die Trioleintrübungen verhalten sich bei Spaltungen bis zu 30 Proz. genau proportional den Trioleinkonzentrationen. Der Fehler der Methode übersteigt bei der Emulsion Ef nicht 1 Proz., bei der Emulsion Eg nicht 2 Proz.

Zur Bestimmung der Lipasewirkung soll im allgemeinen eine Emulsion von dem Dispersitätsgrad wie in Ef angewendet werden.

5. Bei Spaltung gleichkonzentrierter aber verschieden disperser Fettemulsionen zeigen beide Emulsionen gleichmäßige Spaltungsgeschwindigkeit bis zu etwa 15 bis 20 Proz. Spaltung. Bei weiterer Spaltung bis zu etwa 30 Proz. bleibt die Spaltungsgeschwindigkeit der gröberen Emulsion hinter der feineren etwas zurück. Die Substratdispersität ist also nicht von wesentlichem Einfluß in bezug auf die Spaltungsgeschwindigkeit.

Die Untersuchung ist mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ausgeführt worden.



# Zur Methodik der nephelometrischen Phosphorsäurebestimmung.

Von  
Hans Kleinmann.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Charité,  
Berlin.)

(Eingegangen am 28. April 1926.)

## I.

In vorliegender Arbeit wird eine Modifikation der bisher geübten Methodik der nephelometrischen Phosphorsäurebestimmung gegeben. Diese Methodik war vom Verfasser 1919 beschrieben worden (1). Sie beruhte auf der Messung von Trübungen, die in  $P_2O_5$ -haltigen Lösungen mittels eines Molybdän-Strychninreagenses in salpeter- oder salzsaurem Milieu erzielt wurden. Als Reagenzien waren ausgearbeitet worden:

1. Ein salpetersaures Reagens nach *Pouget-Chouchak* (2). Das aus zwei Teilen bestehende Reagens wurde vor Gebrauch gemischt und zersetzte sich dann schnell unter Trübung und Verfärbung.

2. Ein salzsaures Reagens (nach Verfasser), das klar und haltbar bleiben sollte.

Für beide Reagenzien waren genaue Methodenvorschriften gegeben worden und mit beiden wurden seinerzeit gute Resultate erhalten. Die untere Methodengrenze betrug 1 bis 2  $\mu g$   $P_2O_5$  in 25 ccm Bestimmungsvolumen. Genaue Proportionalität zwischen Trübung und Konzentration war beobachtet und beschrieben worden.

Diese Methoden sind später von anderen Untersuchern angewandt und bestätigt worden (3).

Daneben erhielt Verfasser aber des öfteren Anfragen nach Gründen, die bedingen könnten, daß bei Herstellung des salzsauren Reagenses starke Trübungen und Fällungen auftreten.

Derartige Abweichungen bei Herstellung des Reagenses wurden auch vom Verfasser beobachtet. Während einmal ein völlig klares Reagens erzielt wurde, wurde ein anderes Mal — bei anscheinend gleicher Arbeitsweise — eine völlig trübe Lösung als Reagens erhalten.

Des weiteren konnte aber bei neuerlicher Anwendung der Methode beobachtet werden, daß auch bei Anwendung von klarem Reagens starke Schwankungen in den Parallelbestimmungen und grobe Ausfälle in der Trübungsstärke auftraten. Untersuchungsreihen, die genau

stimmende Resultate gaben, standen solche gegenüber, die völlig unbrauchbare Werte lieferten. Auch stimmte der Aciditätsgehalt, der eine optimale Trübungsstärke bedingte, bei zu verschiedenen Zeiten hergestellten Reagenzien nicht überein. Statt 14 ccm n HCl in 25 ccm Volumen wurden z. B. mitunter 19 ccm benötigt.

Es war daher notwendig, den Gründen für diese Schwankungen nachzugehen.

Als wesentliches Fehlermoment stellte sich die Verschiedenheit der angewandten Molybdänsäurepräparate heraus. Aber auch bei Abstellung dieser Variationsmöglichkeit waren die Ergebnisse nicht befriedigend, und es gelang nicht, die Ursache für die Schwankungen, die seinerzeit bei der Beschreibung der Methodik nicht beobachtet wurden, sicher zu ermitteln.

Es wurde daher die Methodik unter Variation aller Bedingungen noch einmal neu bearbeitet, und es gelang schließlich, sie so zu modifizieren, daß sie innerhalb etwas eingeschränkter Grenzen zuverlässige, ohne Schwankungen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

## II.

Bei Prüfung der Materialien zeigte es sich, daß nur bei Anwendung reinsten Molybdänsäure für Glühfäden (*Kahlbaum*) gleichmäßig klare Reagenzien zu erzielen waren. Versuche mit käuflichem, umkristallisiertem Kalium- oder Natriummolybdat ergaben keine zweckmäßigen Reagenzien. Die Herstellung eines sauren Salzes aus reiner Molybdänsäure wurde beibehalten.

Zahlreiche Variationen aller Reagenzkomponenten hinsichtlich ihrer absoluten Konzentration und ihres gegenseitigen Konzentrationsverhältnisses in salpetersaurer oder salzsaurer Lösung lieferten keine besseren Resultate als die bisher gebrauchten Reagenzien. Es zeigte sich nur im allgemeinen, daß bei Anwendung geringer Molybdat-Strychninkonzentrationen ein Reagens zustande kam, das labilere und schlechter zu reproduzierende Trübungen lieferte, als hochkonzentrierte Reagenzien. Der bei hochkonzentrierten Reagenzien notwendige hohe Säuregehalt der endgültigen Systeme wirkte stabilisierend auf die Trübungen. Auch wurde die Erscheinung bestätigt, daß zwischen der Säurekonzentration der Systeme, die eine Wassertrübung des Reagens verhindert, und derjenigen, die das Entstehen einer  $P_2O_5$ -Trübung ausschließt, ein Optimum gelegen ist, in dem die  $P_2O_5$ -Trübung am stärksten ist. Die Geschwindigkeit der Trübungsentwicklung nimmt vom minimalen bis zum optimalen Säuregehalt der Systeme ab, während die schließlich erreichbare Trübungsstärke zunimmt. Es ergab sich also: Je höher der Säuregehalt eines Reagens zur Erzielung einer optimalen  $P_2O_5$ -Trübung ist, desto besser werden die mit dem Reagens

erzielten Resultate. Es wurde daher versucht, den Elektrolytgehalt der Systeme zu erhöhen. Visköse Substanzen, Glycerin, Gelatine, erwiesen sich nicht als zweckmäßig. Hochwertige Kationen, Aluminium, Lanthan, wirkten fälegend auf die Phosphorsäure-Strychnin-Molybdän-suspension. Dagegen förderte die Gegenwart mehrwertiger Anionen die Gleichmäßigkeit und Stabilität der Trübungen. Durch Anwendung von Schwefelsäure an Stelle von Salz- und Salpetersäure, die infolge ihrer geringeren Dissoziation auch in höherer molarer Konzentration angewandt werden mußte, sowie durch Zusatz von Natriumsulfat zu den Systemen gelang es, zu einem zuverlässigen Reagens zu kommen.

Das unter Variation aller Komponenten ermittelte Reagens wird unter III. beschrieben. Werden von ihm 2 ccm mit aqua dest. auf 25 ccm aufgefüllt, so entsteht eine Trübung. Bei Zusatz von Schwefelsäure zu den Systemen wird ein Punkt erreicht, bei dem die Systeme für die Dauer von 2 bis 3 Stunden klar bleiben. Der Zusatz dieser „minimalen“ Acidität liefert also erst das eigentliche Reagens auf  $P_2O_5$ .

Ist nur die minimale Acidität vorhanden, so entwickeln sich die  $P_2O_5$ -Trübungen schnell. Sie erreichen aber geringere Stärke als die bei steigender Acidität des Systems sich langsamer entwickelnden Trübungen. Bei noch weiterem Säurezusatz nehmen die  $P_2O_5$ -Trübungen rasch an Stärke ab, um schließlich überhaupt nicht mehr einzutreten. Der optimale Säuregehalt eines Systems von 25 ccm wurde bei Anwendung von 2 ccm Reagens bei einem Gehalt von 10 ccm 2 . n  $H_2SO_4$  ermittelt, beträgt also, wenn man das Reagens selbst als 2 . n anspricht, 0,96 n.

Ein solches System liefert nephelometrisch meßbare Trübungen in einer Breite von 10 bis 50  $\mu g P_2O_5$  in 25 ccm. Bei diesen Systemen war Proportionalität zwischen Trübung und Konzentration zwischen 50 bis 20  $\mu g$  vorhanden, bei geringeren Konzentrationen wurden die Trübungen relativ zu schwach. Auch zeigten die schwächeren Trübungen Schwankungen bei Parallelversuchen. Versuche, die Abweichung der Trübung von der Proportionalität — die zunächst durch die Annahme der Löslichkeit des trübenden Niederschlags erklärt wurde — durch Zusatz entsprechender  $P_2O_5$ -Mengen zum Reagens selbst auszugleichen, führten nicht zum Ziele. Dagegen zeigte es sich, daß ein Zusatz von gesättigter Natriumsulfatlösung zu den Systemen die Reproduzierbarkeit der schwachen Trübungen wesentlich besserte. Nur wurden jetzt die schwachen Trübungen relativ zu stark. Es war also ein Einfluß auf die Teilchengröße wahrscheinlich. Das Ergebnis aller angestellten Versuche war, daß es nicht möglich ist, zur Erzielung von Proportionalität in der ganzen Meßbreite unter den gleichen Bedingungen zu arbeiten. Eine Änderung der Säurekonzentration innerhalb bestimmter Meßbreiten — das Säureoptimum ändert sich durch den Natrium-

sulfatzusatz — erwies sich als notwendig. Der notwendige Säureausgleich erfolgt nach Entwicklung der Trübung und Abschätzung des  $P_2O_5$ -Gehalts kurz vor der Messung. Die Trübungen entwickeln sich nach Zusatz des Reagens langsam. Sie erreichen innerhalb 30 bis 45 Minuten (je nach ihrer Konzentration) einen Höhepunkt, auf dem sie lange genug für die Messung etwa 20 bis 30 Minuten nahezu ohne Änderung verharren.

Es ist für die vorliegende Methodik bemerkenswert, daß sich das Optimum der Trübungstärke entwickelt, wenn eine Flockung der Lösung schon mit bloßem Auge erkennbar ist. Während für alle bisher beschriebenen nephelometrischen Methoden die Flockung einer Trübung als Ende ihrer Eignung galt, ist hier mit dem Sichtbarwerden der Flockung die Meßbarkeit für bestimmte Konzentrationen erst erreicht. Es wird betont, daß trotz der erkennbaren Flockung die Trübung für die Dauer der Untersuchung stabil bleibt.

Die Entwicklungszeiten der Trübungen sowie die Dauer ihrer Meßbarkeit sind unter III. genau angegeben.

### III.

Zur Ausführung der Methodik sind notwendig:

1. *Phosphatlösung.* Von reinstem primären Kaliumphosphat (zu Enzymstudien nach *Sørensen, Kahlbaum*) werden 1,9167 g abgewogen und zu 1000 ccm in aqua dest. gelöst. Diese Lösung enthält 1 mg  $P_2O_5$  im Kubikzentimeter. Von dieser Stammlösung werden 5 ccm genau abgemessen und auf 1000 ccm verdünnt. Diese Lösung enthält 0,005 mg  $P_2O_5$  im Kubikzentimeter (auf P berechnet — 1  $P_2O_5$  = 0,4379 P — enthält sie 0,00219 mg P im Kubikzentimeter). Sie dient als Phosphat-Standardlösung. Die Verdünnung soll des öfteren frisch bereitet werden.

2. *Schwefelsäure 2 n.* Sie wird durch Verdünnung reiner konzentrierter  $H_2SO_4$  pro analysi hergestellt. Hierzu werden rund 100 g  $H_2SO_4$  auf 1000 ccm mit aqua dest. verdünnt. Diese Lösung wird gegen eine n/1 NaOH austitriert. Die Lösung selbst braucht nicht genau auf eine Normalität von 2 . n eingestellt werden, ihr Faktor muß jedoch völlig exakt ermittelt werden, da die genaue Innehaltung einer bestimmten Acidität für die Messung notwendig ist.

3. *Gesättigte Natriumsulfatlösung.* Es werden etwa 1000 ccm gesättigter Lösung unter Anwärmen hergestellt und nach Erkalten und Auskristallisieren in Berührung mit dem Bodensatz stengelassen. Vor Gebrauch wird die notwendige Menge abfiltriert.

4. *Molybdän-Strychninreagens.* Das Reagens wird in zwei Teilen hergestellt, die unmittelbar vor Gebrauch gemischt werden, da bei Zusammenfügung der sauren Molybdatlösung mit der Strychninlösung

nach etwa 24 Stunden ein Bodensatz — wahrscheinlich Strychninsulfat — auskristallisiert.

*I. Schwefelsaure Natriummolybdatlösung.* 30 g Molybdänsäure für Glühfäden (*Kahlbaum*) werden in einen 500 ccm fassenden Rundkolben gegeben. Sodann werden 10 g wasserfreier, frisch geglühter Soda und etwa 200 ccm aqua dest. hinzugegeben. Der Kolben wird auf freier Flamme langsam erhitzt und die Mischung so lange im Kochen erhalten, bis sich eine völlig klare Lösung gebildet hat, wozu ein etwa 15 bis 30 Minuten langes Kochen notwendig ist. Spuren von Verunreinigungen, die nicht in Lösung gehen, werden durch Filtration der warmen Lösung entfernt. Zu dem Filtrat kommen 200 ccm zehnfach n  $H_2SO_4$ . Eine annähernd zehnfach n Lösung wird durch Verdünnung einer konzentrierten  $H_2SO_4$  (500 g  $H_2SO_4$  auf 1000 ccm) bereitet. Eine Verdünnung 1 : 10 der Säurelösung wird mit n/1 NaOH titriert und der Faktor der annähernd zehnfach n  $H_2SO_4$  ermittelt. Es wird diejenige Menge der titrierten  $H_2SO_4$  zugesetzt, die genau 200 ccm zehnfach n  $H_2SO_4$  entspricht.

Die Mischung wird nach dem Erkalten im Meßkolben mit aqua dest. auf 500 ccm aufgefüllt. Es entsteht eine klare haltbare, leicht bläulich verfärbte Lösung. Es empfiehlt sich, da die Acidität dieser Lösung wesentlich ist, sie dadurch zu prüfen, daß eine Verdünnung 1 : 100 mit aqua dest. an der Gaskette gemessen wird. Der  $p_H$  beträgt etwa 1,41.

*II. Strychninlösung.* 1,6 g Strychninsulfat (Bisulfat, *Kahlbaum*) werden in etwa 100 ccm aqua dest. unter Erwärmen gelöst. Nach dem Erkalten wird die klare Lösung im Meßkolben auf 500 ccm aufgefüllt. *Zur Herstellung des Reagenses* werden genau gleiche Volumina von eins und zwei derart vermischt, daß sie zuerst in zwei getrennten Kölbchen mittelst Pipette abgemessen werden. Dann wird Lösung II zu Lösung I in schnellem Schuß zugegeben und das Kölbchen tüchtig geschüttelt. Es bildet sich beim Zusammengießen ein bläulich weißer Niederschlag, der zuerst trübt, sich dann aber in wenigen Minuten flockig zusammenballt. Das Reagens kann dann durch ein quantitatives Filterchen völlig klar abfiltriert werden. Es ist farblos und etwa einen Tag lang unverändert haltbar. Es empfiehlt sich, es vor dem Versuch frisch zu bereiten. Die Lösungen I und II sind unverändert haltbar.

Ausführung der Phosphorsäurebestimmung:

*1. Veraschung der Untersuchungssubstanz.* Zur  $P_2O_5$ -Bestimmung wird die untersuchte Substanz trocken verascht. Bei der Bestimmung bestimmter Phosphorsäurefraktionen wie „Eiweißphosphor“, „Lipoidphosphor“ usw. wird nach Isolierung der Fraktion nach den üblichen Methoden ein aliquoter Anteil zur  $P_2O_5$ -Bestimmung der Veraschung wie beschrieben unterworfen. Organstücke (in Form von Brei) oder Flüssigkeiten werden im Platintiegel auf dem

Wasserbad zur Trockne gebracht und dann mittels Teclubrenners verascht, bis der Rückstand völlig weiß bzw. bei Gegenwart von Metalloxyden völlig kohlefrei ist. Die Veraschung gelingt stets gut, wenn der Tiegel bedeckt gehalten wird. So erfordert die Veraschung von beispielsweise 1 ccm Serum nur wenige Minuten.

Enthält die Asche Schwermetalle — Eisen bis zu 1 mg pro analysierter  $P_2O_5$ -Menge kann vernachlässigt werden, s. weiter unten —, so müssen diese entfernt werden.

Der Rückstand oder — wenn keine Schwermetalle vorhanden waren — die ursprünglich vorhandene weiße Asche wird mit wenigen Kubikzentimetern 2 . n  $H_2SO_4$  im Platintiegel versetzt. Sodann wird der Tiegel 5 bis 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Hierbei hydrolysiert das durch das Glühen gebildete Metaphosphat und geht in Orthophosphat über. Die Lösung wird in ein Meßkölbchen gespült und der Tiegel mehrmals mit einigen Kubikzentimetern der 2 . n  $H_2SO_4$  unter Erwärmen nachgespült.

Wieviel Kubikzentimeter Schwefelsäure im ganzen zur Lösung der Asche angewendet werden, hängt von der Menge der vorhandenen  $P_2O_5$  ab. Soll die ganze Asche zu einer Bestimmung verwandt werden, so dürfen nicht mehr als 9,5 ccm  $H_2SO_4$  gebraucht werden. Soll nur ein Teil der Aschenlösung gebraucht werden, so kann man auf ein beliebiges Volumen mit 2 . n  $H_2SO_4$  auffüllen. Gewöhnlich dürfte, da mehrere Parallelbestimmungen ratsam sind, eine Gesamtmenge von 25 oder 50 ccm Säure verwandt werden. Auf ein solches markiertes Volumen wird die Aschenlösung im Meßkölbchen mit 2 n  $H_2SO_4$  gebracht. Sind Erdalkalien in der Asche, so werden ungelöste Erdalkalisulfate abfiltriert, und das Filterchen wird mit der zum Auffüllen der Lösung verwandten  $H_2SO_4$  gewaschen. Wird die ganze Asche zur Analyse verwandt, so ist es zweckmäßig, mit einer etwas größeren Säuremenge als sonst bei der Gesamtaschenverwendung (9,5 ccm) aufzunehmen, z. B. mit 12 ccm, diese dann zu zentrifugieren und vom Zentrifugat 9,5 ccm zur Analyse zu verwenden, wobei dann natürlich in der Rechnung die Anwendung des aliquoten Teiles der Gesamtlösung in Rechnung gesetzt wird.

2. *Behandlung der Aschenlösungen.* Zur Analyse dienen die 2 n sauren Aschenlösungen oder entsprechend reine Phosphatlösungen, deren Gehalt durch Schwefelsäurezugabe genau 2 . n ist.

Von diesen Lösungen wird ein Volumen, das 10 bis 50  $\mu g$   $P_2O_5$  entspricht — aber nicht mehr als 9,5 ccm —, zur Analyse verwendet. Ist man sich über den Gehalt der  $P_2O_5$ -Lösungen ganz im unklaren, so wird eine Probe der sauren Aschelösung mit 2 . n  $H_2SO_4$  auf 9,5 ccm gebracht; sodann werden 4 ccm der gesättigten  $Na_2SO_4$ -Lösung zugefügt. Das Volumen wird mit aqua dest. auf 23 ccm gebracht.

Jetzt bereitet man aus der Phosphat-Standardlösung mehrere Vergleichslösungen mit variiertem Phosphatgehalt. Beispielsweise setzt man 2, 4 und 8 ccm = 10, 20 und 40  $\mu\text{g}$   $\text{P}_2\text{O}_5$  an, gibt 9,52 . n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 4 ccm Natriumsulfatlösung hinzu und füllt mit  $\text{H}_2\text{O}$  auf 23 ccm auf. Jetzt gibt man zu allen Lösungen je 2 ccm Reagens und beurteilt die unbekannte und die bekannte Konzentration, indem man nach 30 Minuten langem Stehenlassen die Trübungen mit bloßem Auge vergleicht. Hat man einige Male Phosphatanalysen durchgeführt, so bedarf es keiner Vergleichsstandardtrübung, um aus einer unbekanntem Konzentration roh die Menge zu erproben, die für die Analyse in Frage kommt. Eine Menge der Analysenlösung, die 10 bis 50  $\mu\text{g}$   $\text{P}_2\text{O}_5$  enthält, wird nach der Schätzung des Gehalts zu der eigentlichen Analyse verwandt.

Die entsprechende Menge der untersuchten Phosphatlösung wird mit 2 . n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf 9,5 ccm gebracht. Die Abmessungen geschehen am besten mit Büretten. Als Gefäße für die Systeme können Reagenzgläser dienen. Besser ist es aber, Flaschen mit eingeschliffenem Stopfen von 30 bis 50 ccm Volumen anzuwenden, da diese ein sauberes Durchmischen gestatten.

Die Säure braucht nicht auf 2 . n eingestellt zu sein, es genügt, daß ihr Faktor exakt bestimmt ist. Es wird dann das entsprechende Volumen verwandt, da es nicht auf das Säurevolumen, sondern auf die molare Konzentration ankommt.

Sodann werden 4 ccm der gesamten  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung zugesetzt, und die Lösung wird mit aqua dest. auf 22 ccm aufgefüllt.

Jetzt werden die Vergleichslösungen aus der Standardphosphatlösung durch Mischung der notwendigen Kubikzentimeter Phosphatlösung mit 9,5 ccm n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 4 ccm  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung + aqua dest. zu 22,0 hergestellt. Am zweckmäßigsten ist es, verschieden konzentrierte Vergleichslösungen, etwa 20 und 40  $\mu\text{g}$   $\text{P}_2\text{O}_5$ , zu bereiten (entsprechend 4 und 8 ccm der Standardlösung).

Zweckmäßig ist es, von allen untersuchten und Vergleichslösungen stets Parallele, am besten drei, anzusetzen. Nunmehr kommen zu den untersuchten und den Vergleichslösungen je 2 ccm Reagens. Die exakte Abmessung geschieht am besten mit *Bangscher* Mikrobürette. Die Lösungen werden umgeschüttelt, der Zeitpunkt der Reagenzzugabe wird markiert.

Hat man größere Reihen zu untersuchen, so ist es ratsam, nach je fünf bis sechs Analysen (inklusive Parallelen) mit der Reagenzzugabe 10 Minuten Pause zu machen, um nachher bei der Messung genügend Zeit zu haben.

Die Lösungen beginnen sich allmählich zu trüben. Nach etwa 25 bis 30 Minuten langem Stehen kann der Gehalt der untersuchten

Lösungen gegen die bekannten Vergleichslösungen geschätzt und beurteilt werden, ob sie mehr als  $20 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$  enthalten oder nicht. Es empfiehlt sich daher stets, die Anwendung einer Vergleichslösung von  $20 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$ . Hiernach richtet sich die weitere Behandlung.

a) Bei Messungen von Konzentrationen über  $20 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$  in dem angewandten Volumen von 25 ccm inklusive der Konzentration von  $20 \mu\text{g}$  selbst, werden zu den untersuchten und den Vergleichslösungen 1 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  gefügt, worauf die Trübungen sofort nephelometrisch verglichen werden. Die Messungen erfolgen während der Zeit von 15 bis 20 Minuten nach der Wasserzugabe, also während der dritten Viertelstunde nach Reagenzzusatz.

b) Bei Messungen mit Konzentrationen unter  $20 \mu\text{g}$  werden inklusive der Menge von  $20 \mu\text{g}$  selbst zu den Systemen 30 Minuten nach Reagenzugabe statt 1 ccm Wasser 1 ccm 2. n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gegeben. Die Trübungen bleiben dann noch weitere 15 Minuten stehen und werden während der vierten Viertelstunde nach der Reagenzugabe nephelometriert.

3. *Die nephelometrische Messung.* Als Nephelometer dient das Instrument von *F. Schmidt* und *Haensch* (Berlin). Hinsichtlich der nephelometrischen Technik wird auf die Originalarbeiten (4) verwiesen. Als Meßbereich ist die Konzentration von 10 bis  $50 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$  in 25 ccm Volumen angegeben. Selbstverständlich können auch höhere Konzentrationen gemessen werden, da ja nur entsprechende Verdünnungen angewandt zu werden brauchen. Unter  $10 \mu\text{g}$  aber soll nicht hinuntergegangen werden, da dann einmal die Trübungen so schwach werden, daß Fehler durch Verunreinigungen, Fasern usw. schon hervortreten, vor allem aber, weil unter  $10 \mu\text{g}$  in 25 ccm Meßvolumen die Proportionalität zwischen Trübung und Konzentration aufzuhören beginnt.

Hat man kleinere Mengen als  $10 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$  zu bestimmen, so kann man für die gewöhnlichen Nephelometergefäße auch mit 12,5 ccm auskommen, braucht also mit allen angegebenen Mengen nur auf die Hälfte hinunterzugehen. Hierdurch wird die  $\text{P}_2\text{O}_5$ -Menge, die mit den gewöhnlichen Nephelometergläsern gemessen werden kann, auf 0,005 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$  nach unten begrenzt.

Für noch geringere  $\text{P}_2\text{O}_5$ -Mengen müssen die Mikrogefäße benutzt werden. Nimmt man von allen Lösungen den fünften Teil, was mit in  $\frac{1}{100}$  ccm geteilten Pipetten noch genau auszuführen geht, so kann man noch 0,001 mg  $\text{P}_2\text{O}_5$  bestimmen, wenn man den etwas größeren Fehler der Mikrogefäße mit in den Kauf nimmt.

Am zweckmäßigsten ist es, in einem mittleren Meßbereich von 40 bis  $20 \mu\text{g P}_2\text{O}_5$  in 25 ccm zu arbeiten. Hier ist die Genauigkeit der Methodik etwa 1 Proz. Fehler. Arbeitet man in den Grenzen des Meßbereichs, so wird der Methodenfehler rund  $\pm 2$  Proz.



Zur Ausschaltung selten auftretender Ausfälle empfiehlt es sich, stets in Parallelversuchen zu arbeiten.

4. *Einfluß fremder Substanzen auf die Analyse.* Beimengungen von Salzen können den Analysenlösungen nach Behandlung der Aschen mit  $H_2SO_4$  nur als Sulfate vorliegen.

Alkalisulfate stören, wenn sie nicht in überaus großer Menge vorhanden sind, die Bestimmung nicht. So hat ein Zufügen von 0,5 ccm gesättigter  $Na_2SO_4$ -Lösung zu den Systemen kaum einen Einfluß.

Erdalkalisulfate fallen durch ihre Unlöslichkeit als Verunreinigungen fort.

Magnesium stört bis zu einer Menge von 10 mg pro analysierter Menge — 10 bis 50  $\mu g$   $P_2O_5$  —, also in 200 bis 1000facher Menge, die  $P_2O_5$ -Bestimmung nicht.

Eisen stört ebenfalls nicht in einer Konzentration bis zu 7 mg pro analysierter Menge, also in 20- bis 100facher Menge. Höhere Konzentrationen dieser Beimengungen müssen ebenso wie Schwermetalle, wie oben beschrieben, entfernt werden. Arsensäure liefert bei Anwesenheit von  $Na_2SO_4$  — also unter den gegebenen Bedingungen — keine Trübung. Das Reagens kann also zur Bestimmung von Phosphorsäure neben Arsensäure dienen.

Die Handhabung der Methodik ist weit einfacher als die Beschreibung erscheinen läßt.

Die Analyse erfordert — abgesehen von der Zeit, während der die Trübungen stehen müssen — nur wenige Minuten Arbeit.

Beispiele für die mit der Methodik erzielten Ergebnisse sind im Anhang in Tabellen gegeben.

#### Zusammenfassung.

1. Die früher vom Verfasser beschriebene nephelometrische Methodik zur  $P_2O_5$ -Bestimmung wird modifiziert.

2. Ein neues Reagens wird beschrieben und eine genaue Methodenvorschrift gegeben.

3. Die Methodik erlaubt Bestimmungen bis zu 0,005 mg  $P_2O_5$  bei Anwendung der Makrogefäße (Nephelometer nach *Kleinmann* von *Schmidt* und *Haensch*) und 0,001 mg  $P_2O_5$  bei Anwendung der Mikrogefäße.

Der Methodenfehler beträgt rund  $\pm 2$  Proz. Die Analysen sind innerhalb dieser Grenze gut reproduzierbar.

Die Arbeit wurde mit Mitteln der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ausgeführt.

#### Literatur.

1) Diese Zeitschr. 99, 134, 1919. — 2) Ebendasselbst 99, 134, 1919; Bull. de la Soc. Chim., 4. Serie, 5, 104; 4. Serie, 9, 649, 1911. — 3) *Kuhn*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 129, 1922. — 4) Vgl. diese Zeitschr. 99, 115—149, 1919; Kolloid-Zeitschr. 27, 236, 1920; ebendasselbst 86, H. 3, 168, 1925.

Anhang. Beispiele für die modifizierte  $P_2O_5$ -Bestimmung.

Tabelle I. Reproduzierbarkeit der Bestimmungen. 0,04 mg  $P_2O_5$ .

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Angewandte $P_2O_5$ -Menge . . .	20,0	20,2	20,0	20,4	20,1	19,7	20,0	19,8	19,8	19,9	20,4	20,2
Durchschn. Nephelometerables.	8 cem Phosphat-Standard-Lösung = 0,04 mg $P_2O_5$											
Verglichen gegen . . .	Nr. 1 = 20,0											
Gefundene $P_2O_5$ -Menge . . . mg	0,04	0,0396	0,04	0,0392	0,0398	0,0406	0,04	0,0404	0,0404	0,0402	0,0392	0,0396
Abweichung . . . . . Proz.	0,0	-1	0,0	-2	-0,5	+1,5	0,0	+1	+1	+0,5	-2	-1

Tabelle II. Reproduzierbarkeit der Bestimmungen. 0,01 mg  $P_2O_5$ .

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Angewandte $P_2O_5$ -Menge . . .	20,0	19,6	19,5	19,8	19,9	19,2	20,0	20,3	20,4	19,6	19,8	
Durchschn. Nephelometerables.	2 cem Phosphat-Standard-Lösung = 0,01 mg $P_2O_5$											
Verglichen mit . . .	Nr. 1 = 2,0											
Gefundene $P_2O_5$ -Menge . . . mg	-	0,0408	0,0410	0,0404	0,0402	0,0406	0,04	0,0396	0,0392	0,0408	0,0404	
Abweichung . . . . . Proz.	0,0	+2,0	+2,5	+1,0	+0,5	+1,5	$\pm 0,0$	-1,5	-2	+2	+1	

Der Fehler bei Parallelbestimmungen überschreitet nicht 2 Proz.

Tabelle III.

Proportionales Verhalten von Konzentration und Trübung.

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5
Angewandte $P_2O_5$ -Menge . . . mg	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01
Durchschn. Nephelometerables aus je drei Parallelversuchen . . . . .	19,9	25,3	20,2	29,9	30,1
Verglichen gegen . . . . .	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 2	Nr. 4	Nr. 4
Theoretische Ablesung . . . . .	= 20	= 20	= 10	= 15	= 15
Abweichung . . . $P_2O_5$ in Proz.	0	25	20	30	30
		-1	-1	+0,25	-0,2

Trübung und Konzentration verhalten sich in den angeführten Grenzen proportional.

Tabelle IV.

Proportionales Verhalten von Konzentration und Trübung.

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5
Angewandte $P_2O_5$ -Menge . . . mg	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01
Durchschn. Nephelometerables aus je drei Parallelversuchen . . . . .	20,0	24,8	20,2	30,0	30,4
Verglichen gegen . . . . .	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 2	Nr. 2	Nr. 4
Theoretische Ablesung . . . . .	= 20	= 20	= 15	= 15	= 15
Abweichung . . . . . Proz.	0	+0,2	-0,6	0,0	-0,6

Trübung und Konzentration verhalten sich in den angeführten Grenzen proportional.

Tabelle V. Einfluß fremder Substanzen.

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Angewandte $P_2O_5$ -Menge mg	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,2	0,2
Zusatz . . . . .	-	-	2,5 mg Ca	2,5 mg Ca	1 mg Fe	1 mg Fe	7 mg Fe	7 mg Fe	10 mg Mg	10 mg Mg	70 mg Mg	70 mg Mg
Durchschn. Nephelometerables.	20	20	20,5	20,5	20,2	20,1	21,5	21,7	20,0	20,1	17,5	17,0
Verglichen gegen . . . . .			Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1	Nr. 1
Abweichung . . . . . Proz.	-	-	-2,5	-2,5	-1,0	-0,5	-7	-8	0	-0,5	+12,5	+12,5

Fe stört nicht bis 1 mg. Mg nicht bis 10 mg.

# Über die Löslichkeit von Cholesterin in Äthyl- und Methylalkohol bei verschiedenen Temperaturen.

Von  
Lars Erlandsen.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Oslo.)

(Eingegangen am 29. April 1926.)

Quantitative Angaben über die Löslichkeit von Cholesterin in verschiedenen Lösungsmitteln kommen in der Literatur nur selten vor. *Chevreul* untersuchte die Löslichkeit in Äthylalkohol, und seine Ergebnisse, die sich in den meisten Lehr- und Handbüchern der organischen Chemie und der Physiologie finden<sup>1)</sup>, sind bekanntlich, daß 1 Teil Cholesterin in 9 Teilen siedenden Alkohols vom spezifischen Gewicht 0,84 und in 5,5 Teilen siedenden Alkohols vom spezifischen Gewicht 0,82 löslich ist. *Kusumoto* gibt an<sup>2)</sup>, daß 100 Teile 94proz. Alkohols bei Zimmertemperatur 1,12 Teile Cholesterin lösen, und *Dehn*<sup>3)</sup>, daß 0,26 g Cholesterin in 100 g Wasser und 68,10 g Cholesterin in 100 g Pyridin löslich sind. Die Abhängigkeit der Löslichkeit von der Temperatur scheint jedoch noch nicht untersucht zu sein. Im hiesigen Institut aber haben wir oft während unserer Arbeit mit dem unverseifbaren Teile des Dorschlebertrans, der zur Hälfte aus Cholesterin besteht, den Mangel solcher Löslichkeitsangaben gefühlt, und ich habe deshalb die Löslichkeit von Cholesterin in den zwei Lösungsmitteln Äthyl- und Methylalkohol von 0° C bis zum Siedepunkt bestimmt.

Zur Untersuchung kamen zwei verschiedene Präparate. Das eine war Cholesterin unbekannter Herkunft von *E. Merck*, Darmstadt, das andere ein von mir selbst aus Gallensteinen hergestelltes Cholesterin. Beide Präparate waren mehrmals aus Alkohol umkristallisiert worden und dann bis zum Verschwinden des Kristallwassers getrocknet. Sie zeigten fast genau dieselbe Löslichkeit, und die in der Tabelle angeführten Zahlen sind Mittelwerte aus Versuchen mit beiden Präparaten.

---

<sup>1)</sup> Siehe z. B. Beilsteins Handb. d. organ. Chem., 3. Aufl., 2, 1071/72.

<sup>2)</sup> *Abderhalden*, Handb. d. biochem. Arbeitsmethod. 2, 251.

<sup>3)</sup> Journ. Amer. Chem. Soc. 39, 1399, 1917; Chem. Centralbl. 1918, I, 50.

Der zum Lösen verwendete Äthylalkohol hatte das spezifische Gewicht  $15/4^{\circ} = 0,8908$ , er enthielt also 96,5 Vol.-Proz. oder 94,6 Gew.-Proz.  $C_2H_5OH^1)$ . Der Methylalkohol war „Methanol I“ p. a. von *Kahlbaum*.

Die Bestimmung der Löslichkeit wurde fast ausschließlich nach *Pawlewski*<sup>2)</sup> ausgeführt. Das Lösen wurde in einem Kölbchen unter Schütteln vorgenommen, die Lösung dann durch ein Wattepföpfchen in ein gewogenes Wäagegläschen geblasen. Das ganze war in einem Wasserbad aufgestellt, das mit Rührer versehen und genau auf einer bestimmten Temperatur gehalten wurde. Um die Löslichkeit bei  $0^{\circ}$  zu ermitteln, wurde eine bei einer höheren Temperatur gesättigte Lösung in einem Bade mit schmelzendem Schnee geschüttelt und dann draußen bei etwa  $0^{\circ}$  filtriert. Bei allen Proben wurde die Menge gelösten Cholesterins einfach bei Trocknen bei  $70$  bis  $80^{\circ}$  gefunden.

Die gefundenen Zahlen sind in der folgenden Tabelle angeführt.

Temperatur $^{\circ}C$	100 g Lösung enthalten g Cholesterin	
	Äthylalkohol g	Methylalkohol g
0	0,68	0,34
20	1,29	0,65
40	3,40	1,88
50	5,25	2,94
60	7,85	4,42
64,9 *)	—	5,32
70	13,0	—
78,8 **)	27,7	—

\*) Siedepunktserhöhung bei 5 Proz. Cholesterin =  $0,2^{\circ}$ .

\*\*) Siedepunkt von 96proz. Alkohol bei 749 mm =  $77,8^{\circ}$ . Siedepunktserhöhung bei 28 Proz. Cholesterin =  $1,0^{\circ}$ .

Die Ergebnisse können natürlich auch in Kurvenform gebracht werden; es ist dann leicht, die Löslichkeit bei jeder Temperatur zwischen  $0^{\circ}$  und Siedepunkt zu finden.

<sup>1)</sup> Ich zog vor, Alkohol von 96 und nicht von 100 Proz. zu verwenden, da ja absoluter Alkohol beim Lösen oder Umkristallisieren von Cholesterin seltener gebraucht wird und deshalb weniger Interesse bietet.

<sup>2)</sup> B. 82, 1040, 1899.

## Zur Wirkung des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel.

Von

Hans Völker.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Hamburg,  
Krankenhaus St. Georg.)

(Eingegangen am 29. April 1926.)

In einer Arbeit aus unserem Institut von *K. Holm*: „Zur Wirkung des Morphiums auf die Zusammensetzung des Blutes und den Kohlehydratstoffwechsel“<sup>1)</sup> konnte gezeigt werden, daß die von verschiedenen Autoren<sup>2)</sup> auf die mannigfachste Weise nachgewiesene verzögerte Entleerung des Magens nach Morphium tatsächlich die Ursache für die von *Klercker*<sup>3)</sup> beobachtete Hemmung der alimentären Hyperglykämie ist. Die nach peroraler Dextrosegabe auftretende alimentäre Hyperglykämie und die sich daran anschließende Verbrennung von Kohlehydrat im Organismus trat bei vorheriger Injektion von Morphium wesentlich später als gewöhnlich auf (1¼ bis 4½ Stunden), während bei Zuführung der Dextrose durch eine Duodenalsonde ins Duodenum trotz vorheriger Morphiumgabe eine Verzögerung des Blutzuckeranstiegs oder des Beginns der Verbrennung nicht nachzuweisen war. Diese Morphiumwirkung ist also nicht eine im Kohlehydratstoffwechsel selber angreifende, sondern lokal mechanischer Natur, indem sie den Pylorus auf längere Zeit verschließt. Andererseits besitzt das Morphium aber doch eine Wirkung auf den Kohlehydrathaushalt, da es von einer gewissen Dosis an eine toxische Hyperglykämie hervorruft, die dadurch das Bild der gehemmten alimentären Hyperglykämie trüben kann, und außerdem wird durch die Herabsetzung der Erregbarkeit des Atemzentrums und die so hervorgerufene Änderung des respiratorischen Quotienten die Beurteilung des Beginns der Kohlehydratverbrennung eine schwierigere.

Den langdauernden Verschuß des Pylorus durch Morphium kann man noch auf einem anderen Wege nachweisen. Bedient man sich nämlich der Eiweißstoffe, so hat man in der steigenden Reststickstoffkonzentration des

---

1) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 37, 81, 1923.

2) *Hirsch*, Zentralbl. f. inn. Med. 1901, S. 33; *Magnus*, Arch. f. d. ges. Phys. 122, 210, 1908.

3) Diese Zeitschr. 62, 1914.

Blutes und in der spezifisch-dynamischen Wirkung auf den Gaswechsel zwei deutliche Indikatoren dafür, ob das Eiweiß in den Darm und von dort aus zur Resorption gelangt ist, oder über die normale Zeit hinaus im Magen zurückbehalten ist. V. Bergmann und Langstein<sup>1)</sup> haben schon 1905 eine Erhöhung des Rest-N nach Fleischzufuhr wahrscheinlich machen können, ohne allerdings infolge der noch nicht ausgebildeten Methodik ähnliche Zahlen wie die heute geltenden zu erhalten; später als die Untersuchungstechnik verfeinert war, sind dann von verschiedenen Autoren [Lusk<sup>2)</sup>, Rapport, Weiss, Czönka<sup>3)</sup>] Arbeiten veröffentlicht, die das Gebundensein der spezifisch-dynamischen Wirkung der Eiweißstoffe an eine Erhöhung des Rest-N-Spiegels oder einer seiner Komponenten im Blute aufzeigen. Allerdings sind die Beziehungen zwischen der Größe der spezifisch-dynamischen Wirkung und der Höhe des Rest-N-Anstiegs im Blute nicht absolut eindeutig. Das nur im großen Parallelgehen beider Vorgänge zeigt eine Arbeit von R. Liebeschütz-Plaut und H. Schadow<sup>4)</sup>, in der aber ausschließlich der Aminosäurespiegel untersucht ist. In der hier bearbeiteten Fragestellung interessierten nicht so sehr die quantitativen Beziehungen als vielmehr die tatsächliche Koppelung.

Die Versuche wurden an kräftigen, mittelgroßen und großen, zu Respirationsversuchen brauchbaren Hunden angestellt, die vor dem Versuch 18 bis 24 Stunden nüchtern gehalten waren.

In vier Versuchsreihen wurde der Eiweißstoffwechsel und seine Beeinflussung durch Morphinum untersucht:

1. In der ersten wurde der normale Ablauf der Erhöhung des Reststickstoffspiegels und der spezifisch-dynamischen Wirkung nach der Eiweißfütterung beobachtet;
2. wurde der Einfluß von Morphinum auf den normalen Ablauf festgestellt;
3. wurde das Verhalten bei Fütterung durch eine Duodenalfistel und
4. bei Fütterung durch eine Duodenalfistel nach Morphinuminjektion verfolgt.

Über die angewandten Techniken ist folgendes zu sagen: Zur Rest-N-Bestimmung im Blute wurde die von Bang<sup>5)</sup> angegebene Mikromethode benutzt, die der geringen benötigten Blutmenge wegen bei den Serienversuchen vorgezogen wurde. Sie ist zwar nicht sehr bequem und schnell, ergab aber bei je vier Parallelbestimmungen durchaus befriedigende Resultate, deren Fehlergrenze der von Bang angegebenen gleichkommt. (Die Blutzuckerbestimmungen wurden ebenfalls nach Bang in vier Parallelbestimmungen gemacht.) Zu den Gaswechselversuchen wurde der Zuntz-Geppertsche Respirationsapparat benutzt. 200 bis 250 g ganz mageres, stets vom Bein stammendes, praktisch von Sehnen befreites, mehrfach durch die Fleischmaschine gegebenes und längere Zeit gekochtes Rindfleisch

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beitr. 6, 27, 1905.

<sup>2)</sup> Journ. of biol. Chem 18, 1912.

<sup>3)</sup> Ebendasselbst 60, 1924.

<sup>4)</sup> Deutsch. Arch. f. klin. Med. 148, 214, 1925.

<sup>5)</sup> Mikromethoden. Leipzig, Bergmann, 1916.

wurde im Mörser zu einer feinen Emulsion verrieben, so daß man es den Hunden (je nach der Versuchsanordnung s. unten) durch eine dünne Sonde in den Magen oder durch eine Duodenalfistel ins Duodenum geben konnte.

I. Um einen Überblick über die normalen Verhältnisse zu gewinnen, die bei Hunden nach der Fütterung mit Fleisch eintreten, wurden neun Versuche angestellt, sieben davon (Nr. 3 bis 7, 15, 16) als Respirationsversuche. Zwei Versuche (Nr. 15, 16) wurden an einem Hunde mit Duodenalfistel gemacht (s. unten); sie unterscheiden sich in keiner Beziehung von denen an normalen Hunden und können ihnen darum völlig gleichgerechnet werden. Die gefütterte Fleischmenge, die überhaupt zu allen Versuchen benutzt wurde, betrug, wie gesagt, zwischen 200 bis 250 g, meist war es Rindfleisch, mehrere Male jedoch war infolge der Zeitverhältnisse nur Pferdefleisch oder Hundefleisch zu erhalten. Das ist jedesmal im Versuchsprotokoll (s. Anhang) angegeben. Es sei gleich hier bemerkt, daß sich zwischen den verwandten Fleischsorten kein erkennbarer Unterschied im Ablauf der Versuche ergab. Mit Ausnahme von vier Versuchen (Nr. 1 bis 4) wurde ja auch die Fleischmahlzeit stets durch die Sonde gegeben, so daß die Abneigung der Hunde gegen Hundefleisch nicht in Erscheinung treten konnte.

Der Rest-N-Spiegel des Blutes verhielt sich nun folgendermaßen: Das Ausgangsniveau liegt zwischen 20 bis 30 mg N. Es ist relativ konstant für die mehrfach benutzten Tiere und schwankt nur innerhalb von 3 bis 5 mg. Von den 19 Versuchen haben drei einen hiervon deutlich verschiedenen Ausgangspunkt. Zweimal wurde unter 20 mg als Anfangswert gefunden (Nr. 2, 14) einmal über 30 mg (Nr. 4). Ein Grund konnte hierfür nicht gefunden werden, ein Analysenfehler ist unwahrscheinlich; aus anderen Versuchen an Patienten, die einen um 6 bis 7 mg schwankenden Anfangswert aufwiesen, wenn eine Koständerung voraufgegangen war, ist vielleicht der Schluß berechtigt, daß solche Änderung auch hier die Ursache für das Schwanken abgegeben hat, wenngleich die Ernährung der Hunde möglichst gleichmäßig gestaltet wurde. Sie erhielten die Abfälle der großen Krankenhausküche, meist Reis, Gemüse, Kartoffeln und eine Handvoll Sehnen- und Fleischreste.

Eine halbe Stunde nach der Fütterung ist noch keine sichere Änderung im Rest-N-Spiegel des Blutes zu sehen, erst nach ungefähr 60 Minuten tritt ein Steigen um 3 bis 10 mg in sieben Versuchen ein, zwei (Nr. 4, 7) bleiben noch auf dem Ausgangspunkt. Einer (Nr. 6) hat mit 10 mg Steigerung seinen höchsten Wert schon erreicht. Nach 2 Stunden ist die Kurve weiter gestiegen, jetzt sind in allen neun Versuchen die Werte wesentlich erhöht, um 5 bis 14 mg, in einem Falle (Nr. 2) sogar um 27 mg. Nach weiteren 2 Stunden sind die Werte noch hoch. Während nach den ersten 2 Stunden sechs von neun Versuchen den Höhepunkt hatten, erreichen zwei (Nr. 3, 5) erst jetzt den höchsten Wert (9 und 12 mg höher als der Anfangswert). Nach 6 Stunden sind alle Werte niedriger, um nach 8 Stunden in vier von sechs Versuchen den Ausgangspunkt wieder zu erreichen. Im Durchschnitt ist der höchste Wert nach der zweiten Stunde bei einer Steigerung um etwa 12 mg erreicht. Wie man sieht, ist das ein ganz gleiches klares Verhalten, zwar kein quantitativ übereinstimmendes Verhalten, aber doch ein ziemlich gleicher Typ der Kurve.

Ähnlich gleichmäßig und eindeutig erweist sich das Ergebnis der gleichzeitig angestellten Respirationsversuche. Auch hier sollen die fünf Versuche (Nr. 3 bis 7) an normalen Tieren und die zwei (Nr. 15, 16) an Duo-

denalfistelhunden ihrer Übereinstimmung wegen (s. Versuchsprotokolle) zusammen betrachtet werden: Schon nach Ablauf der ersten halben Stunde nach der Fütterung steigt der Sauerstoffverbrauch an, mit einer Ausnahme (Nr. 3). Er steigt nach einer Stunde weiter an in den vier Versuchen (Nr. 3, 5, 7, 16), die nach der ersten halben Stunde keine so erhebliche Steigerung aufwiesen, während die anfangs stärker angestiegenen gleich bleiben oder etwas weniger O<sub>2</sub> verbrauchen. Nach Ablauf der zweiten Stunde steigt der Sauerstoffverbrauch weiter an (Nr. 15, 16) oder bleibt gleich (Nr. 5, 6), während er in einem Versuch abnimmt (Nr. 4). Im Durchschnitt ist jetzt die höchste Steigerung des Stoffwechsels gegenüber dem Ausgangspunkt erreicht, die auch noch für die vierte Stunde voll bestehen bleibt. In der sechsten Stunde sinkt der Sauerstoffverbrauch und kehrt nach der achten Stunde in die Nähe des Nüchternwertes oder bis zu ihm (Nr. 5) zurück. Nicht in den Rahmen des gewöhnlichen Ablaufs der spezifisch-dynamischen Wirkung paßt Versuch 4, hier ist der überhaupt höchste Sauerstoffverbrauch von 40 ccm schon nach  $\frac{3}{4}$  Stunden erreicht und sinkt dann langsam in den folgenden Stunden ab. Es ist wahrscheinlich, daß trotzdem der Versuch äußerlich ganz einwandfrei verlief und der Hund ganz ruhig schien, er sich doch nach der Fütterung nicht ganz beruhigt hatte, denn die zwar immer auftretende Ventilationszunahme ist in diesem Versuche mit 0,9 Liter höher als in allen anderen. Abgesehen von diesem Versuch geben die anderen sechs ein gut übereinstimmendes Bild. Die größte Steigerung des Sauerstoffverbrauchs beträgt im Durchschnitt 24 ccm und tritt meistens nach der vierten Stunde (Nr. 3, 5, 6, 15, 16) auf, nachdem sie von der zweiten Stunde an schon fast den höchsten Wert erreicht hat.

Überblickt man das Verhalten des Gaswechsels und des Rest-N-Spiegels gemeinsam, so erkennt man, daß bei ähnlichem Verhalten ein gewisser Unterschied darin besteht, daß nachdem die spezifisch-dynamische Wirkung schon eingesetzt hat, der Rest-N noch normal ist, daß er dann in schnellerem Anstieg seinen Höhepunkt in der zweiten Stunde erreicht, den er bis zur vierten Stunde nicht mehr ganz behält, während der Sauerstoffverbrauch nach 2 Stunden wohl schon hoch ist, aber erst nach 4 Stunden das Maximum erreicht und daß der Rest-N-Spiegel, eher absinkend, nach 8 Stunden den Normalwert häufiger erreicht hat als der Sauerstoffverbrauch (s. Anhang). Ordnet man nach der Größe der absoluten Ausschläge des Rest-N-Spiegels im Blute die Werte für die maximale Steigerung des Sauerstoffverbrauchs (s. Anhang), dann ergibt sich die interessante Tatsache, daß mit steigendem Ausschlag im Anstieg des Rest-N auch die spezifisch-dynamische Wirkung ansteigt, ohne daß ein zeitlicher Zusammenhang immer deutlich ist (s. besonders Nr. 4).

II. Dieses Bild des normalen Eiweißstoffwechsels erleidet unter Morphium eine wesentliche Änderung. Im ganzen sind fünf Versuche an zwei gesunden Hunden gemacht. Zweimal (Nr. 8, 9) wurden 0,5 cg, dreimal (Nr. 10 bis 12) 0,75 cg Morphium hydrochloricum pro Kilogramm Tier subkutan injiziert. Diese Versuche gerieten nicht so gleichmäßig, lassen aber gerade darum den Mechanismus der Morphiumwirkung deutlicher werden. Die anfangs gewählte Dosis von 0,5 cg pro Kilogramm Tier erwies sich als ungünstig, da die Hunde mit stärksten Erregungszuständen und schwerem Hacheln darauf reagierten. Dieses infolge der Temperatur herabsetzenden Wirkung des Morphiums auftretende Hacheln wurde durch möglichste Abkühlung des Hundes mit feuchten Tüchern und durch Luftzug schneller zu beenden gesucht. Es zeigte sich weiter, daß unter dem Ab-



klingen der Morphiumwirkung das bekannte Hautjucken die Versuche störte. Nahm man 0,75 cg Morphium pro Kilogramm Tier, dann blieben die Erregungszustände fast völlig aus; das Hacheln wurde durch Beschleunigung der Abkühlung schneller beendet. So konnte statt 200 und 230 Minuten nach der Morphiuminjektion schon nach 90, 100 und 115 Minuten die Fütterung vorgenommen werden: Also zur Zeit einer noch besseren Morphiumwirkung. Endlich war der zweite Hund (Nr. 11 und 12) ein bedeutend günstigeres Versuchstier. Nach der Morphiuminjektion wurde so lange gewartet, bis der Hund ruhig und halb schlafend dalag. Das Fleisch wurde mit einer Sonde gegeben, nachdem durch einen Gaswechselversuch der unter dem Einfluß des Morphiums verringerte Grundumsatz bestimmt war. Dieser Wert wurde als Ausgangspunkt für die Beurteilung des Versuchs genommen.

Aus vier von den fünf Versuchen (Ausnahme Nr. 9) geht einwandfrei hervor, daß 1 Stunde nach der Fütterung keine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs und keine Erhöhung des Rest-N eingetreten ist, ein Befund, der in Versuchsreihe I für den Sauerstoffverbrauch immer, in sieben von neun Fällen auch für den Rest-N erhoben wurde. In Versuch Nr. 9 liegt aber die Morphiuminjektion am längsten zurück (230 Minuten), die Wirkung ist sehr im Abklingen und darum ein steigender Sauerstoffverbrauch erklärlich (der Rest-N ist jedoch erst nach 6 Stunden leicht erhöht). Versuch 10 zeigt nach der vierten und sechsten Stunde den Sauerstoffverbrauch deutlich gesteigert, gleichzeitig ist aber auch der Rest-N um 3 und 4 mg gestiegen, während nach der zweiten Stunde noch die Ausgangswerte gefunden waren. Man erkennt also eine deutliche Verzögerung der sonst auf Fleischfütterung zu beobachtenden Wirkung um mindestens 2 oder gar 3 Stunden. Am deutlichsten zeigen aber die Versuche Nr. 11 und 12 den Einfluß des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel. Nachdem unter dem Einfluß des Morphiums der Grundumsatz recht gering geworden ist, kann schon nach 90 und 100 Minuten die Sondenfütterung vorgenommen werden. Danach bleibt der Sauerstoffverbrauch und der Rest-N-Spiegel in gleicher Höhe pendelnd, anfangs sogar noch etwas darunter bis zum Ende der sechsten Stunde, um erst in der achten einmal um 9 ccm und das andere Mal um 8 ccm anzusteigen, im ersten Falle vom Steigen des Rest-N begleitet, so daß man bei noch längerer Ausdehnung des Versuchs wahrscheinlich eine noch deutlichere Steigerung des Stoffwechsels gefunden haben würde. Erst diese Steigerungen sind als Ausdruck für die Verbrennung des gefütterten Fleisches anzusehen. Noch besser als die Versuche Nr. 8, 9, 10 geben also Nr. 11 und 12 den Beweis für den völlig anderen Ablauf des Eiweißstoffwechsels nach Morphiuminjektionen. Nr. 11 und 12 zeigten, daß durch Morphium länger als 6 Stunden Sauerstoffverbrauch und Rest-N-Spiegel unverändert bleibt. Aus den drei verschiedenen Graden der Morphiumwirkung in Nr. 8 und 9, Nr. 10 und Nr. 11 und 12 sieht man, daß je intensiver die Morphiumwirkung ist, desto später die gefütterte Fleischmenge zur Verbrennung gelangt.

Wir erhalten aus diesen beiden Versuchsreihen ein noch klareres Bild der Morphiumwirkung, als es *Holm* in seiner Arbeit im Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel nachweisen konnte. Je nach der Intensität der Wirkung wird der normale Ablauf der Eiweißverbrennung bis zu länger als 6 Stunden verzögert. Um den verlängerten Verschuß des Magens als Ursache für diese Erscheinung aufzuweisen, wurden die Versuche an Hunden mit Duodenalfisteln fortgesetzt. Herr Dr. *Holm* war so liebenswürdig, mit mir

zusammen die Fisteloperationen vorzunehmen. Die Operationen, zu der vernickelte Messingkanülen benutzt wurden, wurden in typischer Weise angelegt und gelangen beide gut. Der eine Hund wurde nach 4 Wochen, der andere nach 11 Monaten bei anderen Versuchen getötet.

III. Den Einfluß einer Fütterung direkt ins Duodenum bei einem normalen Tiere zu studieren, wurden zwei Versuche angestellt (Nr. 13, 14); zwei weitere (Nr. 15, 16) mit oraler Fütterung bei einem Fistelhund sollten zeigen, ob die Operation als solche eine Veränderung hervorgerufen hätte. Da beide Versuche einen ganz ungestörten normalen Verlauf zeigten, sind sie unter den Normalversuchen (s. Abschnitt I) eingereiht. Was die beiden Versuche Nr. 13, 14 mit Fütterung durchs Duodenum betrifft, so ist zum Technischen aller Duodenalversuche zu sagen, daß nach Reinigung der Kanüle ein Katheter ins Duodenum geschoben wurde, durch den mit einer Klystierspritze die Fleischemulsion eingegeben wurde. Die Hauptsache war die möglichste *Homogenisierung* bei geringem Volumen; die Herstellung war dadurch sehr mühsam und langwierig, denn das Fleisch mußte in kleinsten Portionen im Mörser bis zur gewünschten Feinheit zerrieben werden. (Um gleiche Versuchsbedingungen zu erzielen, wurde natürlich für alle Versuche eine gleichmäßig feine Emulsion angestrebt.) Die Versuche Nr. 13 und 14 zeigen einen erheblichen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs nach der ersten halben Stunde. Nach einer Stunde schon ist der höchste Wert erreicht: 35 und 18 ccm über dem Ausgangswert. Darauf sinkt der Verbrauch wieder, erst langsamer, und erreicht nach 6 Stunden den Nüchternwert. Der Rest-N steigt in Nr. 13 schon nach einer halben Stunde und in Nr. 14 nach 1 Stunde an und erreicht seinen höchsten Wert nach 2 Stunden mit 10 und 14 mg über dem Anfangswert und ist nach 6 Stunden wieder normal. Als Hauptunterschied gegenüber der Magenfüütterung bemerken wir den früheren Höhepunkt der Vorgänge: Für den Sauerstoffverbrauch schon nach 1 Stunde, für den Rest-N nach der zweiten aber ohne Plateau bis zur vierten Stunde, sondern mit schnellem Abfall nach dem höchsten Wert; und endlich das Wiedererreichen der Norm schon nach 6 Stunden. Man kann also sagen, daß durch die direkte Fütterung ins Duodenum eine deutlich sichtbare Beschleunigung der Verbrennung im Vergleich zum normalen Ablauf hervorgerufen wird.

IV. Wenn also unter dem Einfluß des Morphiums der verzögerte Übergang des Fleisches aus dem Magen in den Darm die einzige Ursache für die erst ausbleibende und dann um Stunden verzögerte spezifisch-dynamische Wirkung ist, dann muß bei der Fütterung des Fleisches direkt ins Duodenum nach vorheriger Morphiuminjektion 1. die Verzögerung der spezifisch-dynamischen Wirkung nicht nur nicht ausbleiben, sondern es muß 2. sogar ein beschleunigter Ablauf zu beobachten sein. Drei gut gelungene Versuche geben darauf Antwort. Bei dem hierzu verwandten Tier hatten sich 0,8 cg Morphium pro Kilogramm als günstig erwiesen. Das nach Morphium auftretende Hacheln konnte durch intensives Kühlen sehr abgekürzt werden, so daß schon nach 75, 100 und 70 Minuten die Fleischemulsion ins Duodenum gefüllt werden konnte. Alle drei Versuche sind also unter ganz intensiver Morphiumwirkung verlaufen, die zeitlich und der Dosis nach noch etwas stärker als die war, bei der in Versuchsreihe II bei oraler Fütterung eine Verzögerung um mehr als 6 Stunden gefunden war (Nr. 11, 12). Schon nach einer halben Stunde ist der Sauerstoffverbrauch um 19 und 20 ccm auf die höchste Höhe gestiegen, die Kurve bildet dann ein langsam abfallendes Plateau bis zur vierten Stunde.

Nach 6 Stunden ist der Wert in Versuch Nr. 17 schon wieder normal, in Versuch Nr. 18 fast normal. Es ist also eine erhebliche spezifisch-dynamische Wirkung vorhanden, die schneller abgelaufen ist als beim normal gefütterten Tier. Der Rest-N-Spiegel des Blutes zeigt ein ähnliches Verhalten. In Versuch Nr. 19 sehen wir einen ungewöhnlich schnellen Anstieg zur vollen Höhe, 16 mg mehr als der Nüchternwert, dann ein kleines Plateau und nach 2 Stunden schnelleres Absinken, bis der Wert nach 6 Stunden noch eben über der Norm liegt. Nr. 17 zeigt eine äußerst geringe Reaktion des Rest-N [einen gleichen Befund konnte ich bei Menschenversuchen erheben, daß der Anstieg in einem Versuch plötzlich viel flacher verlief, als gewöhnlich, ohne daß ein Grund (auch nicht in Analysenfehlern) zu finden war]. Der höchste Wert ist nach 2 Stunden erreicht, nach 6 Stunden ist er wieder normal. Vergleicht man die gefundenen Werte mit denen der anderen Versuchsreihen, so erkennt man, daß sie denen der Versuchsreihe III gleichen. Daraus geht hervor, daß das Morphinum keine Wirkung hat, wenn die Nahrungstoffe bereits ins Duodenum gelangt sind.

*Mit aller nur möglichen Sicherheit ist damit nachgewiesen, daß der Einfluß des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel ausschließlich darauf beruht, daß es die Entleerung des Magens verzögert, so daß keine Resorption eintreten kann, und daß sich kein Einfluß auf den endogenen Eiweißstoffwechsel erkennen läßt.*

Nicht uninteressant ist es, nach diesen an Morphinum erhobenen Befunden den Eiweißstoffwechsel im allgemeinen zu überblicken. Die spezifisch-dynamische Eiweißwirkung wird vielfach bei Störungen endokriner Drüsen und bei anderen Erkrankungen herabgesetzt gefunden<sup>1)</sup>. In der hier veröffentlichten Arbeit ist klar hervorgetreten, wie rein örtlich mechanische Verhältnisse des Magens den Ablauf beeinflussen können. Man muß also bei der an sich schon schwierigen Einschätzung des Wertes einer erhöhten oder verminderten spezifisch-dynamischen Wirkung durchaus hieran denken; zumal wenn man nicht eine Reihe von Untersuchungen nach der Mahlzeit anstellt, und so sieht, wann die Stoffwechselsteigerung ihren Höhepunkt erreicht und wieder abklingt, sondern sich mit einigen Untersuchungen begnügt, zu einer Zeit, die der Erfahrung nach die höchste Steigerung zu bringen pflegt. In der klinisch wohl zumeist geübten Form der Prüfung der spezifisch-dynamischen Eiweißwirkung, wie sie z. B. von R. Liebeschütz-Plaut<sup>2)</sup> und P. Liebesny angewandt wird, wird zu der Eiweißmahlzeit eine gewisse Kohlehydratmenge hinzugefügt, um das Eintreten der Stoffwechselsteigerung zu beschleunigen, da durch diese Anordnung die Verweildauer im Magen abgekürzt wird, so daß die Verhältnisse mehr den in Versuchsreihe III an Duodenalfistelhunden erhobenen Befunden entsprechen. Ein gleiches Verhalten ist man vielleicht in Versuch 4 anzunehmen berechtigt; man könnte sich z. B. vorstellen, daß bei der Sondenfütterung per os die Sonde in diesem Falle etwas tief bis in den Pylorus zu liegen kam, so daß der Eiweißbrei gleich ins Duodenum floß, und so eine Erklärung für das schnelle Ansteigen und Abklingen des Sauerstoffverbrauchs finden.

Aber diese aus praktischen Gründen benutzten Modifikationen mit der Prüfung der Stoffwechselsteigerung zur empirisch gefundenen Zeit des Höhepunkts der Verbrennung in normalen Fällen — diese Zeiten schwanken übrigens recht beträchtlich je nach der Menge der hinzugefügten Kohle-

<sup>1)</sup> Liebesny, diese Zeitschr. 144, 308, 1924.

<sup>2)</sup> Deutsch. Arch. f. klin. Med. 189, 1922.

hydrate (s. R. Liebeschütz-Plaut und P. Liebesny) — stehen natürlich unter dem Einfluß der mechanischen Verhältnisse des Magens. Es sind z. B. in der Arbeit von Liebesny zwei Fälle (Tabelle XIII, Nr. 2 und Tabelle XIV, Nr. 4), eine Myasthenie und ein zirkuläres Irrsein in depressiver Phase, mit annähernd normalem Grundumsatz angeführt, die nach 2 Stunden eine mäßig verminderte spezifisch-dynamische Eiweißwirkung von 15,4 Proz. und 13,6 Proz. aufweisen. Während eine große Anzahl der Fälle auch der mit verminderter spezifisch-dynamischer Wirkung in der Arbeit von Liebesny nach 2 Stunden schon wieder ein Abklingen sehen läßt, ist in diesen beiden Fällen eine stetige Steigerung des Sauerstoffverbrauchs in den Untersuchungen nach 1, 1½ und 2 Stunden zu erkennen. Da über die späteren Stunden keine Zahlen angegeben sind, so läßt sich nach meinen Versuchen nicht entscheiden, ob der nach 2 Stunden erhobene Wert der höchste ist und für eine endogen herabgesetzte spezifisch-dynamische Wirkung spricht, oder ob er noch nicht der höchste ist und eine verzögerte Magenentleerung nur eine später zum Höhepunkt gelangende spezifisch-dynamische Wirkung verursacht. Eine Röntgenuntersuchung könnte z. B. eine so weit verzögerte Entleerung aufdecken, daß bei den nach der gewöhnlichen Zeit gewonnenen Werten keine Steigerung zu erkennen wäre, später jedoch eine befriedigende gefunden werden könnte. Es wird darum in der Zukunft der Befund einer fehlenden oder sehr mangelhaften spezifisch-dynamischen Eiweißwirkung durch das nachgewiesene Fehlen rein magenmechanischer Ursachen hierfür sehr wesentlich an Gewicht und Beweiskraft dafür gewinnen, daß wirklich endogene Stoffwechseländerungen die Ursache sind.

#### Zusammenfassung.

1. Nach Fütterung eines kräftigen Hundes mit etwa 225 g Fleisch steigt der Sauerstoffverbrauch und der Rest-N-Spiegel des Blutes an; sie erreichen zwischen der zweiten bis vierten Stunde den Höhepunkt und kehren nach etwa 8 Stunden zur Norm zurück, der Rest-N etwas früher als der Sauerstoffverbrauch.
2. Durch Morphinum wird das normale Verhalten in der Weise geändert, daß je intensiver die Morphinumwirkung ist, um so später (mehr als 6 Stunden) eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs und des Rest-N-Spiegels eintritt.
3. Fütterung direkt ins Duodenum läßt den Stoffwechselvorgang etwas schneller als normal ablaufen.
4. Fütterung direkt ins Duodenum nach Morphinuminjektion läßt gleichfalls den Stoffwechselvorgang schneller als normal ablaufen.
5. Die Morphinumwirkung besteht also nicht in einer direkten Wirkung auf den Eiweißstoffwechsel, sondern in einer durch stark verzögerte Entleerung des Magens hervorgerufenen Verspätung der spezifisch-dynamischen Wirkung.
6. Auch bei jeder anderen fehlenden oder verzögerten spezifisch-dynamischen Eiweißwirkung muß daher eine verlangsamte Magenentleerung ausgeschlossen werden, wenn man aus ihr bindende Schlüsse auf Änderungen im endogenen Stoffwechsel ziehen will.

## Versuchsprotokolle.

## Versuchsreihe I. Normalversuche.

	Rest-N	Blutzucker
Versuch 1. Spitz, 11 kg. 21. April 1923.		
Vorher . . . . .	22,0	0,072
150 g Fleisch . . . . .	22,7	0,081
60' . . . . .	24,8	0,069
120 . . . . .	27,48	0,071
180 . . . . .	26,32	0,070
240 . . . . .	26,38	0,078

Versuch 2. Minka, 14,35 kg. 25. April 1923.		
Vorher . . . . .	16,1	0,096
150 g Rindfleisch		
30' . . . . .	16,4	0,097
60 . . . . .	26,9	0,091
120 . . . . .	43,2	0,087
240 . . . . .	40,9	0,078
360 . . . . .	26,9	0,078

	Ven-tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations-quotient	Rest-N
--	--------------	--------	----------------	-----------------	-----------------------	--------

Versuch 3. Lucie, 17 kg. 30. April 1923.						
Vorher . . . . .	2,541	11,0	124,8	83,9	0,672	26,4
210 g Rindfleisch	2,619	—	119,0	81,7	0,686	—
45—57' . . . . .	3,415	20,1	117,0	100,7	0,861	25,8
95—104 . . . . .	3,453	24,1	130,2	100,0	0,768	28,7
Unruhig, Lärm . . . . .	—	—	—	—	—	33,9
260—268' . . . . .	3,333	13,3	133,8	95,8	0,716	35,5
358—366 . . . . .	3,078	18,3	127,3	93,4	0,733	23,4

Versuch 4. Lucie, 17 kg. 11. Mai 1923.						
Vorher . . . . .	2,064	10,5	106,9	74,5	0,698	33,1
235 g Rindfleisch						
39—47' . . . . .	2,988	12,5	146,2	107,9	0,738	32,1
68—77 . . . . .	2,980	15,4	144,3	105,2	0,729	32,9
140—149 . . . . .	2,978	15,3	138,9	103,5	0,745	47,7
257—266 . . . . .	3,133	19,0	134,7	98,9	0,734	47,2
379—388 . . . . .	3,044	15,1	131,7	98,0	0,744	41,2
495—505 . . . . .	2,714	12,1	125,5	91,4	0,728	35,5

Versuch 5. Lucie, 17 kg. 28. Mai 1923.						
Vorher . . . . .	2,833	13,6	120,8	93,5	0,773	24,1
240 g Rindfleisch						
20—28' . . . . .	3,335	20,3	133,0	105,3	0,791	25,2
53—61 . . . . .	3,600	20,9	145,5	104,0	0,716	29,9
114—120 . . . . .	3,786	20,0	146,6	110,1	0,751	35,9
237—244 . . . . .	3,986	24,0	148,9	111,3	0,747	36,3
352—360 . . . . .	3,387	18,0	133,1	97,9	0,736	33,2
469—479 . . . . .	2,600	14,4	115,2	74,4	0,646	31,2

	Ven-tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations-quotient	Rest-N
Versuch 6. Minka, 12,9 kg. 12. Juni 1923.						
Vorher . . . . .	2,392	13,7	85,9	59,7	0,695	28,2
	2,088	11,8	82,8	58,9	0,712	—
235 <sup>n</sup> g Pferdefleisch						
24—34' . . . . .	2,230	13,0	102,8	60,3	0,587	30,6
50—60 . . . . .	2,863	17,1	102,7	70,7	0,689	38,2
115—124 . . . . .	2,844	19,1	102,7	70,9	0,691	34,9
228—228 . . . . .	2,283	12,0	105,0	73,0	0,698	29,6
360' Tier unruhig . .	—	—	—	—	—	29,5
480' " " " . . . . .	—	—	—	—	—	30,7

	Ven-tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations-quotient	Rest-N
Versuch 7. Minka, 14,2 kg. 19. Juni 1923.						
Vorher . . . . .	2,064	11,5	89,6	63,5	0,708	23,9
	2,052	11,9	90,6	65,7	0,726	—
220 <sup>n</sup> g Rindfleisch						
23—33' . . . . .	2,684	12,2	103,8	84,4	0,813	23,2
56—66 . . . . .	2,758	14,4	106,0	86,8	0,818	23,6
110—120 . . . . .	2,370	13,8	—	—	—	31,9
238—248 . . . . .	2,789	14,3	103,5	76,3	0,737	29,8
350—361 . . . . .	2,418	11,7	105,9	81,7	0,772	25,6
466—478 . . . . .	2,209	12,3	98,1	70,7	0,720	25,7

Vergleich der maximalen Ausschläge des Rest-N- und O<sub>2</sub>-Verbrauchs.

Versuch	mg	ccm	Versuch	mg	ccm
7	8	16	15	13	28
3	9	15	16	14	36
6	10	22	4	14	40
5	12	28			

*Versuchsreihe II. Normalversuche nach Morphininjektion.*

	Ven-tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations-quotient	Rest-N	Blut-zucker
Versuch 8. Lucie, 17 kg. 15. Mai 1923.							
Vorher . . . . .	2,283	8,8	—	—	—	29,0	0,096
"	2,133	9,1	107,4	78,2	0,728	—	—
Morph. hydrochl. 0,5 cg pro kg							
113—128' . . . . .	2,014	10,1	91,1	81,8	0,898	28,4	0,149
Etwa 200 g Rindfleisch, 200' post injektionem							
Unruhig 15—27' . . .	2,025	11,5	115,0	80,8	0,795	29,4	0,141
55—72' . . . . .	1,426	7,7	89,6	61,0	0,680	27,4	0,134
116—129 . . . . .	1,846	8,5	104,2	81,4	0,781	27,1	0,134
252—263 . . . . .	2,730	13,1	127,6	97,3	0,762	28,2	0,114
361—372 . . . . .	2,455	12,2	127,2	87,9	0,691	26,2	0,099
480' Unruhig . . . . .	—	—	—	—	—	34,7	0,103

Der Hund wollte nicht fressen (1. Versuch mit Morphin!). Die Zerreibung des Fleisches, bis es die Schlundsonde passierte, dauerte 1 Stunde.

## Versuchsreihe II. (Fortsetzung).

	Ven- tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations- quotient	Rest-N	Blut- zucker
Versuch 9.							
Lucie, 16,8 kg. 2. Juni 1923.							
Vorher . . . . .	2,336	9,1	88,5	62,9	0,710	23,4	0,092
Morph. hydr. 0,5 cg pro kg 159—171'	2,031	10,7	93,8	69,4	0,739	23,0	0,138
200 g Rindfleisch 228' post injektionem							
12—30'	1,794	8,9	104,4	65,9	0,632	24,2	0,114
60—79	2,063	11,5	106,8	74,8	0,699	23,9	0,110
118—131	2,177	11,3	114,5	76,3	0,666	—	0,068
378—390	3,005	17,9	124,7	92,2	0,741	25,9	0,079
Versuch 10.							
Lucie, 16,9 kg. 5. Juni 1923.							
Vorher (Störung) . . . . .	—	—	—	—	—	24,9	0,113
Morph. hydr. 0,75 cg pro kg 70—83'	1,964	10,3	97,2	76,9	0,791	24,2	0,157
240 g Rindfleisch 115' post injektionem							
20—35'	1,869	9,9	92,37	73,8	0,799	23,0	0,150
55—67	Störung	—	—	—	—	25,2	0,126
112—128	1,710	8,8	96,9	68,8	0,710	24,5	0,122
228—242	2,014	10,2	109,5	82,7	0,755	27,5	0,106
348—359	2,455	10,8	125,4	91,7	0,731	28,8	0,093
475—485	2,900	15,0	127,0	87,2	0,686	26,8	0,099
Versuch 11.							
Minka, 14,2 kg. 16. Juni 1923.							
Vorher . . . . .	2,031	9,5	88,9	61,1	0,688	27,2	—
"	2,015	11,4	83,5	59,7	0,715	—	—
Morph. hydr. 0,75 cg pro kg 64—79'	1,745	12,0	78,3	57,7	0,736	27,0	—
225 g Pferdefleisch 90' post injektionem							
20—36'	1,735	13,5	75,9	53,8	0,707	27,3	—
49—65	1,650	12,0	81,6	56,4	0,691	24,2	—
107—123	1,619	12,0	83,7	58,2	0,695	25,6	—
224—239	1,660	12,0	82,7	57,6	0,697	25,8	—
346—362	1,481	10,0	80,0	53,0	0,663	24,3	—
468—483	1,841	13,6	88,9	61,8	0,695	29,1	—
Versuch 12.							
Minka, 14,3 kg. 26. Juni 1923.							
Vorher . . . . .	2,096	11,8	86,7	78,8	0,931	24,3	—
"	2,042	12,3	90,0	77,4	0,859	—	—
Morph. hydr. 0,75 cg pro kg 65—78'	2,128	13,5	81,5	73,9	0,906	24,3	—
225 g Rindfleisch 100' post injektionem							
12—24'	2,158	15,7	79,8	73,9	0,915	22,5	—
44—58	2,000	13,9	75,9	67,8	0,893	22,8	—
94—107	1,931	11,5	79,3	69,4	0,875	22,1	—
216—230	1,800	11,6	83,5	65,8	0,789	24,1	—
347—362	1,639	12,1	77,5	60,1	0,776	22,1	—
455—468	1,854	11,7	85,3	63,5	0,744	23,2	—

*Versuchsreihe III. Duodenalversuche.*

	Ven-tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations-quotient	Rest-N
Versuch 13. Laura, 16,3 kg. 10. Juli 1923.						
Vorher . . . . .	2,333	11,1	106,2	74,5	0,702	26,2
" . . . . .	2,371	11,1	107,3	77,3	0,720	—
220 g Hundefleisch ins Duodenum						
23—33' . . . . .	2,894	12,2	129,8	96,3	0,742	30,1
52—60 . . . . .	3,667	13,2	141,5	110,4	0,781	29,5
112—118 . . . . .	unruhig	—	—	—	—	36,4
230—240 . . . . .	2,579	11,2	125,9	86,4	0,686	30,5
390—396 . . . . .	hacheln	—	—	—	—	27,9
479—485 . . . . .	unruhig	—	—	—	—	26,0

## Versuch 14. Flaps, 26 kg. 31. Juli 1923.

Vorher . . . . .	2,463	10,0	124,0	89,1	0,719	16,4
240 g Rindfleisch ins Duodenum						
16—25' . . . . .	2,967	12,0	140,8	106,4	0,754	16,4
49—58 . . . . .	3,035	12,0	142,0	111,2	0,783	29,6
105—113 . . . . .	3,100	13,8	139,6	107,6	0,771	30,3
252—261 . . . . .	2,744	11,8	129,2	98,8	0,765	24,3
341—351 . . . . .	2,747	12,0	122,5	90,4	0,739	17,6

## Versuch 15. Flaps 26 kg. 8. Aug. 1923. Normalversuch am Fistelhund.

Vorher . . . . .	2,889	15,1	132,5	95,8	0,723	22,4
250 g Hundefleisch in den Magen durch Sonde						
18—27' . . . . .	2,835	14,2	159,0	94,3	0,592	22,5
48—56 . . . . .	3,438	24,0	152,8	103,4	0,677	29,6
135—142 . . . . .	3,771	25,9	160,1	100,1	0,625	35,6
234—240 . . . . .	4,533	36,33	147,9	87,0	0,589	31,8
362' . . . . .	hacheln	—	—	—	—	29,4
495 Sehr heißer Tag!	hacheln.	—	—	—	—	25,1

## Versuch 16. Flaps, 26 kg. 14. August 1923.

Vorher . . . . .	2,953	15,8	131,2	93,9	0,715	24,4
240 g Hundefleisch in den Magen durch Sonde						
18—25' . . . . .	2,811	16,0	136,1	90,3	0,664	23,5
50—58 . . . . .	3,175	21,3	142,0	101,1	0,712	32,9
128—136 . . . . .	3,480	20,0	151,9	114,9	0,756	38,5
228—236 . . . . .	3,200	16,0	167,9	111,7	0,665	35,1
376—384 . . . . .	3,338	18,5	152,4	111,1	0,729	30,2
495—501 Sehr heiß!	4,483	32,0!	148,5	119,5	0,805	23,8

*Versuchsreihe IV. Duodenalversuche nach Morphiuminjektionen.*

## Versuch 17. Flaps, 23,5 kg. 25. Juli 1923.

Vorher . . . . .	2,640	10,2	130,2	96,9	0,745	21,9
" . . . . .	2,790	10,2	129,8	99,5	0,766	—



## Versuchsreihe IV. (Fortsetzung).

	Ven- tilation	Atmung	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Respirations- quotient	Rest-N
Morph. hydr. 0,8 cg pro kg 55—64'	2,747	14,4	128,4	92,7	0,722	22,9
250 g Rindfleisch ins Duo- denum durch Sonde 75' post injektionem						
27—36'	2,989	12,2	147,7	118,9	0,805	22,1
55—65'	2,690	15,0	140,5	113,0	0,804	24,7
104—115'	2,800	13,2	141,1	116,3	0,824	25,5
220—230'	2,547	13,0	140,6	100,0	0,711	24,8
347—362'	2,200	12,0	125,0	90,0	0,720	22,0
464—475'	2,409	12,0	125,6	91,3	0,727	22,2
Versuch 18. Flaps, 20,3 kg. 29. September 1923.						
Vorher	2,863	12	131,3	94,6	0,721	—
Morph. hydr. 0,8 cg pro kg 60—72'	2,410	12,2	124,7	87,8	0,704	—
250 g Rindfleisch ins Duo- denum durch Sonde 105' post injektionem						
20—28'	2,922	12,8	144,9	114,3	0,789	—
52—58'	3,086	18,6	142,2	112,9	0,794	—
112—121'	2,611	14,8	136,7	92,4	0,676	—
229—238'	2,568	12,3	140,0	99,0	0,708	—
347—357'	2,352	9,8	130,0	92,5	0,706	—
Versuch 19. Flaps, 25,9 kg. 28. Januar 1924.						
Vorher	—	—	—	—	—	22,9
Morph. hydr. 0,8 cg pro kg Etwa 250 g Rindfleisch ins Duodenum durch Sonde 70' post injektionem						
30'	—	—	—	—	—	38,8
60'	—	—	—	—	—	38,4
120'	—	—	—	—	—	37,4
240'	—	—	—	—	—	29,8
360'	—	—	—	—	—	26,6

Die Arbeit wurde mit Hilfe der *Rockefeller*-Stiftung ausgeführt.

# Versuche über die analytische Verwendbarkeit der verschiedenen Oxydationsfähigkeit organischer Substanzen.

Von  
Georg Botstiber.

(Aus dem chemischen Institut der Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 30. April 1926.)

Die vorliegende Arbeit sollte folgende zwei Fragen zu beantworten trachten: Ist zwischen der größeren oder geringeren Leichtigkeit, mit der verschiedene organische Körper durch ein und dasselbe Oxydationsmittel zerstört werden (ihrer „Verbrennlichkeit“), und ihrer Konstitution ein systematischer Zusammenhang zu finden oder nicht? Weiter: Ist es möglich, durch Auswahl des Oxydationsmittels in einer Reihe von Körpern (Eiweißabbauprodukten) den einen zu oxydieren und den anderen unangegriffen zu lassen?

Für die Beantwortung dieser beiden Fragen kam nur die Methode der nassen Verbrennung in Betracht. Für die erste Untersuchung aus dem Grunde, weil durch sie allein die zu fordernde Gleichheit der physikalischen und chemischen Bedingungen gewährleistet war. Für die zweite aus dem Grunde der bequemerer Durchführung der Versuche.

Zunächst also war eine Methode zur Bearbeitung der ersten Frage zu suchen.

Nasse Oxydationen organischer Substanzen werden hauptsächlich zu zwei Zwecken vorgenommen: zum Studium der oxydativen Abbauprodukte (meist zwecks Ermittlung der Konstitution), und zwar die gemäßigte Oxydation, oder aber zur völligen Verbrennung, die den gesamten Kohlenstoff in  $\text{CO}_2$  überführt und zu dessen analytischer Bestimmung dient.

Die zu ersterem Zwecke verwendeten Mittel sind der mannigfachsten Art: Wasserstoffsperoxyd in verschiedenen Konzentrationen und in Verbindung mit gewissen Katalysatoren, hauptsächlich Eisensalzen; Mangan in seinen Oxydationsstufen vom Dioxyd bis zur Übermangansäure, je nach Umständen der Alkali- oder Erdalkalisalze. Weiter Chromsäure, schließlich Brom und Ozon.

Zur völligen Oxydation wurde früher meist Chromsäure verwendet, entwickelt aus Kaliumbichromat und Schwefelsäure. Die Methode wurde von *Messinger* angegeben, jedoch wegen einiger Mängel vielfach modifiziert.

Wir bedienten uns bei unserer Untersuchung der von uns modifizierten *Messingerschen* Methode<sup>1)</sup>. Als Oxydans verwendeten wir hierbei Kaliumpermanganat in saurer Lösung.

Als Absorptionsmittel wurde n/4 Natronlauge verwendet. Nach einer gemessenen Zeit wurde das erste Peligotrohr gegen ein frisch gefülltes ausgewechselt, das erste titriert und die Apparatur weiter erhitzt (etwa  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde), um zu konstatieren, ob noch Kohlenstoff zurückgeblieben war.

Die Apparatur für die vergleichende Ermittlung der Verbrennungszeiten bestand aus einem Literkolben mit Tropftrichter und senkrechtem Kühler. Sowohl Trichter als Kühler waren eingeschliffen, die Schiffe mit Phosphorpentoxyd geschmiert, um Einwirkung organischer Substanzen absolut auszuschließen. Durch einen in den Stöpselschliff des Tropftrichters eingepaßten Ansatz wurde das Durchsaugen kohlenstofffreier Luft ermöglicht; zu diesem Zwecke waren weiterhin sowohl vor dem Kolben als hinter dem Absorptionsgefäß Natronkalkrohre angebracht. Absorption fand in einem Peligotrohr statt.

#### Methodik.

Die Methode, nach der diese Verbrennungen ausgeführt wurden, war die folgende. In den Kolben wurden 300 ccm je 1 Proz. Permanganat und konzentrierte Schwefelsäure enthaltende Oxydationslösung eingefüllt; während der Kolben offen blieb, wurde eine halbe Stunde lang zum Sieden erhitzt, was genügte, um die Reagenzien und die Apparatur kohlenstofffrei zu bekommen. Dann wurde der Kolben mit dem verstopften Kühler verschlossen und andererseits mittels des Tropftrichteransatzes mit dem Natronkalkrohr verbunden und so während des Auskühlens mit kohlenstofffreier Luft gefüllt. Das Einführen der Substanz mußte vorsichtig geschehen, damit keine Außenluft in die Apparatur gelange. Als Absorptionsmittel wurde n/4 Natronlauge verwendet, die in einem Peligotrohr vorgelegt wurde. Das vereinfachte die Methode erstens dadurch, daß die Wägung wegfiel, zweitens aber auch dadurch, daß die Apparatur durch das Wegfallen der Chlorcalciumrohre kompender wurde. Nach Zugabe der Substanz, die in Lösung eingeführt wurde, wurde eine abgemessene Zeit erhitzt und nach Wegnahme der Flamme wie nach Abschluß der Verbindung zum Peligot unter Öffnung der kohlenstofffreien Luftzufuhr auskühlen gelassen, schließlich noch eine halbe Stunde Luft durchgesaugt. Das Tropftrichterrohr reichte bis zum Grund des Kolbens, so daß die Flüssigkeit voll vom Luftstrom durchspült wurde. Dann wurde der Peligot abgenommen bzw. gegen einen frisch gefüllten ausgewechselt, der erste

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 186.

titriert und die Apparatur noch  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{2}$  Stunde erhitzt, um zu konstatieren, ob noch Kohlenstoff zurückgeblieben war.

Die Titration wurde folgendermaßen vorgenommen: Nach Abnahme des Peligots wurde sofort eine berechnete Menge von Bariumchlorid zugesetzt, um die Kohlensäure zu fällen. Dann wurden in einem kleinen Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas etwa 50 ccm destillierten Wassers zum Kochen erhitzt und nach einigen Minuten die Lösung aus dem Peligot vorsichtig und rasch eingegossen. Es war dies die einfachste Methode, um unter möglicher Sicherheit vor Kohlensäureaufnahme aus der Luft das Bariumcarbonat in eine körnige Form überzuführen. Der Peligot wurde mit etwas heißem destillierten Wasser nachgespült und mit Phenolphthalein gegen  $n/4$  Salzsäure titriert. Nach einer Viertelstunde wurde der zweite Peligot abgenommen, mit Bariumchlorid versetzt und, falls sich nur eine leichte Trübung zeigte, nicht mehr untersucht. Die angewandte Lauge wurde vor jeder Titration auf ihren Kohlensäuregehalt geprüft und der erhaltene Wert bei der Berechnung in Rücksicht gezogen.

Auf diesem Wege wurden die in der Tabelle I angegebenen Verbrennungszeiten ermittelt. Einen anderen direkten Anhaltspunkt für die Beendigung der Verbrennung hat man nicht. Denn das von manchen angegebene Aufhören der Bläschenbildung in dem nicht mehr zum Sieden erhitzten Oxydationsgemisch ist weit entfernt, darüber Sicherheit zu geben. Die Kohlenstoffkontrollwerte wurden aus der Formel berechnet, bis auf das Casein, dessen C-Wert durch Mikroverbrennung nach *Pregl* ermittelt wurde.

Bei starker Braunsteinbildung wurde weitere Permanganatlösung zufließen gelassen. Folgende Beobachtungen konnten gemacht werden. Das Permanganat zersetzte sich auch ohne zu oxydieren, d. h. es entwickelte sich mehr Sauerstoff, als tatsächlich mit der Substanz in Reaktion trat. Die Bildung von Braunstein war um so größer, je schwerer verbrennlich die zugesetzte organische Substanz war. Epruvettenversuche zeigten, daß z. B. Citronensäure, Zucker usw. das Permanganat rasch und fast ohne Bildung von  $MnO_2$  zersetzten, während bei Verbrennung von Casein sich massenhaft Braunstein bildete. Infolge dieses anscheinend ziemlich gesetzenslosen Freiwerdens von Sauerstoff ist eine direkte titrimetrische Bestimmung des Kohlenstoffs durch Messen des Permanganatverbrauchs der (in diesem Falle natürlich bekannten) Lösung unmöglich. Über die Zwischenprodukte, die bei der Überführung komplizierter Gruppen in  $CO_2$  auftreten, finden sich verschiedene Angaben in der Literatur. Jedenfalls sind die letzten Spaltungsprodukte, die direkt in Kohlensäure übergehen, Oxalsäure und Ameisensäure.

Nach *Greifenhagen*<sup>1)</sup> und *König* sind sie bei allen organischen Körpern Endprodukte der nassen Oxydation. Nach *Greifenhagen* und *König* verläuft dieser Vorgang bei den hauptsächlich durch sie untersuchten mehrwertigen Alkoholen und ähnlichen Stoffen (Zuckern, mehrwertigen Aldehyden, Ketonen usw.) so, daß bei gerader Anzahl der Kohlenstoffatome schließlich beide endständigen Gruppen zu Kohlensäure oxydiert werden, bei ungerader Anzahl die eine, während die übrigen Atomgruppen paarweise in Oxalsäure übergeführt werden. Liegt eine alkalische Lösung vor, so wird das gebildete Alkalioxalat schwerer angegriffen, während in saurer Lösung die gebildete

<sup>1)</sup> *Greifenhagen* und *König*, diese Zeitschr. **30**, 151; **35**, 169.

Tabelle I.

Art und Menge der Substanz	Verbrennungsdauer	Berechneter Wert ccm	Gefundener Wert n/4 NaOH	Fehler Proz.	Bemerkungen
<b>Citronensäure</b>					
0,0831	30'	21,2	21,1	0,2	
0,0533	20	12,2	11,8	1,2	
0,1114	30	24,7	24,7	0,0	
<b>Milchzucker, kristall.</b>					
0,1217	30	42,5	42,7	+ 0,3	
0,0912	15	34,4	34,4	0,0	
0,0860	15	23,0	23,4	+ 0,7	
<b>Weinsäure</b>					
0,1147	1h00	24,5	24,0	0,7	
0,1500	1 00	32,0	31,8	0,2	
0,1769	1 00	37,7	37,35	0,3	
<b>Harnsäure</b>					
0,0537	1 00	12,8	11,75	3,0	
0,0766	1 00	18,2	17,4	1,5	
0,1750	1 30	41,7	41,4	0,3	
0,1413	1 30	33,6	33,6	0,0	
<b>Natriumurat</b>					
0,0634	1 00	13,4	13,3	0,3	
0,0544	1 00	11,5	11,5	0,0	
0,0712	1 00	15,0	14,6	0,1	
<b>Hippursäure</b>					
0,0582	1 30	25,4	25,4	0,0	
0,0499	1 00	21,8	17,9	12,0	Ungenügende Verbrennungszeit
0,0671	1 30	29,3	29,0	0,7	
0,0683	1 30	29,4	29,2	0,4	
<b>Benzoesäure</b>					
0,0333	1 00	15,25	11,7	16,0	Bei den ersten zwei Versuchen ist der Fehler auf die ungenügende Verbrennungszeit zu beziehen. Die Flüchtigkeit mit Wasserdampf spielte hier keine Rolle, da durch das Kondenswasser die Säure immer wieder zurückgespült wurde und nicht wie die später geprüfte Stearinsäure am Kühler hängen blieb.
0,0605	1 00	27,8	13,8	34,0	
0,0692	2 30	31,8	31,5	0,7	
0,0389	2 30	17,9	18,6	+ 0,8	
0,0253	3 00	11,6	11,6	0,0	
<b>Asparagin</b>					
0,1057	fast 3 00	33,25	32,95	0,8	
0,0788	3 00	19,2	19,0	0,4	
0,0912	3 00	22,2	21,9	0,5	
<b>Asparaginsäure</b>					
0,1050	fast 3 00	25,2	22,7	3,4	
0,0638	3 00	15,1	14,8	0,9	
<b>Cascin</b>					
0,0683	3 00	22,0	10,7	24,1	Ungenügende Verbrennungszeit
0,0538	4 30	17,2	16,6	1,6	
0,0363	4 00	11,5	10,9	2,5	} Mit Zusatz von Kupfersulfat (etwa 0,5 g)
0,0665	5 00	21,3	20,9	0,9	
0,0490	5 00	15,3	15,3	0,0	
0,0627	5 00	19,7	19,5	0,4	
0,0844	5 00	27,0	26,8	0,4	
0,0598	5 00	18,7	18,4	0,8	
0,0521	5 00	16,7	16,9	+ 0,6	
0,0946	4 30	30,3	30,0	0,5	Zusatz von 5 Proz. Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0,0722	4 30	23,1	22,7	0,9	- - 10 - Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0,0417	4 30	13,3	13,1	0,8	- - 10 - Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

Oxalsäure ihrerseits rasch in Kohlensäure übergeführt wird. Ameisensäure scheint sich nach ihm in alkalischer Lösung nicht zu bilden.

Levene<sup>1)</sup> fand allerdings bei der Oxydation von Acetaldehyd in *alkalischer* Lösung keine Oxalsäure, dagegen aber relativ große Mengen von Ameisensäure.

Um die Verbrennungszeit messen zu können, wurde bei unseren Versuchen eine Anzahl gut kristallisierter Körper von bekanntem Kohlenstoffgehalt ausgewählt, und zwar so, daß verschiedene Gruppen vertreten waren. Es wurden Citronensäure, Weinsäure, Milchzucker, Harnsäure, Asparagin, Asparaginsäure, Benzoesäure, Hippursäure und schließlich Casein verbrannt. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ergeben sich in den Verbrennungszeiten dieser Substanzen erhebliche Unterschiede.

Außerdem wurden noch folgende Versuche angestellt. Es wurden erstens verschiedene Katalysatoren in kleinen Quantitäten zugesetzt, und zwar Eisensulfat, Quecksilbersulfat und Kupfersulfat. Eine beschleunigende Wirkung auf die Verbrennung konnte aber nicht festgestellt werden. Wahrscheinlich wirkt der Braunstein selbst als Katalysator, und auf diesem Wege kann eine weitere Förderung der Oxydation eben nicht mehr erzielt werden.

Auffallend war dagegen die Einwirkung von verschiedenen Neutralsalzen (es konnten aus verständlichen Gründen weder Chloride noch Nitrate verwendet werden), wie Kalium oder Natriumsulfat, welche in einer Menge von 5 bis 10 Proz. dem Oxydationsgemisch zugesetzt wurden.

Es zeigte sich, daß erstens die Bildung von Braunstein (auch bei Caseinverbrennungen) ganz erheblich zurückging und außerdem auch die Verbrennung selbst in kürzerer Zeit vollendet war. Diese letztere *beschleunigende* Wirkung war allerdings nicht in allen Versuchen mit gleicher Deutlichkeit festzustellen. Es scheint, als ob nicht die Oxydation *schneller* vor sich gehen würde, sondern nur der gebildete Sauerstoff rationeller zur Aufspaltung und Oxydation der vorhandenen Kohlenstoffverbindungen ausgenutzt würde. Eine weitere Aufklärung dieser Verhältnisse brachten Versuche, die, angeregt durch die Mitteilung Dr. Martin Engländer<sup>2)</sup>, im hiesigen Laboratorium über den Einfluß von Salzen anderer Mineralsäuren auf die Oxydation organischer Körper angestellt wurden. Als Oxydant wurde eine etwa n/50 Permanganatlösung verwendet. Zu 2 ccm dieser Lösung wurden in einer Reihe von Eproutetten je 2 ccm Neutralsalzlösung zugesetzt, die in geometrischer Progression fallend eine Menge von 5 Mol Salz an pro Liter enthielten, bei Salzen von geringerer Löslichkeit entsprechend weniger. Als organische Substanz wurde die als Fehling II bezeichnete Seignettesalz-KalilaugeLösung verwendet, und zwar 2 Tropfen für jede Eproutette. Diese Menge war ausreichend, um alles Permanganat zu reduzieren. Außerdem wurde eine Eproutette als Kontrolle anstatt mit 2 ccm Neutralsalzlösung mit der gleichen Menge destillierten Wassers versetzt. Es ergab sich dabei folgendes: Die Verfärbung und schließliche Entfärbung der Lösung, sowie das Ausfallen von Mangandioxyd kann als augenfälliger Maßstab für die Geschwindigkeit der Umsetzung dienen. Je höher nun der Gehalt der Lösung an Neutralsalz war, um so rascher ging die Reaktion vor sich. Diese Versuche wurden angestellt mit Natrium- und Kaliumchlorid, Magnesium- und Calciumchlorid, welche letzteren aber

<sup>1)</sup> Levene, diese Zeitschr. 29.

<sup>2)</sup> Wien. klin. Wochenschr. 1923, Nr. 3, 17, 48.

in höheren Konzentrationen einen Niederschlag durch Ausfallen ihrer Hydroxyde in der alkalischen Lösung bilden, wodurch überraschenderweise eine sofortige Entfärbung auftritt. Durch vielfache Versuche fanden wir bestätigt, daß die Bildung eines Niederschlages die momentane Zersetzung des Permanganats herbeiführt. Aber auch bei den ganz schwachen Verdünnungen der oben erwähnten Salze, bei denen die geringe Löslichkeit des Hydroxydes ausreichte, um es in Lösung zu halten, ergab sich augenscheinlich eine Überlegenheit des Calciums und Magnesiums gegenüber dem verwendeten Kalium und Natrium in der oxydationsfördernden Wirkung.

Unbrauchbar für diese Versuche waren Ammonsalze, da das in alkalischer Lösung frei werdende Ammoniak teilweise mit dem Permanganat unter Bildung von gasförmig entweichendem Stickstoff reagiert und das Permanganat schon hierdurch zersetzt wurde. In saurer Lösung konnte bei diesen Versuchen eine Beschleunigung der Reaktion nachgewiesen werden, doch fallen bei dieser Anordnung die Unterschiede infolge Fehlens der Farbenübergänge nicht so ins Auge.

Es ist nun möglich, festzustellen, daß z. B. in stark konzentrierter Kochsalzlösung Permanganat in der Kälte beim Zufügen von mineral-sauren Seignettesalzlösungen sich fast augenblicklich entfärbt, was bei Verwendung von rein wässrigen Permanganatlösungen nicht der Fall ist. Da die Beschleunigung von der Menge des zugesetzten Salzes abhängig ist, kann es sich nicht um eine rein katalytische Wirkung handeln, vielmehr ist man gezwungen, an eine reaktionsbegünstigende Änderung der physiko-chemischen Verhältnisse zu denken. Bei der nassen Kohlenstoffbestimmung schließen auch die oben erwähnten, bei Zimmertemperatur erhaltenen Resultate die Möglichkeit aus, daß die Erhöhung des Siedepunktes durch das zugesetzte Sulfat allein zur Erklärung der günstigen Resultate der Oxydation herangezogen werden könnte. Auch bei der Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl*, wo hauptsächlich bei schwer aufzuschließenden Substanzen neben Kupfersulfat Natriumsulfat in relativ großer Menge zugegeben wird, und wo man die günstige Wirkung bisher nur der Erhöhung des Siedepunktes zuschrieb, dürfte es sich nebenbei um eine Art katalytische Wirkung des Sulfats handeln.

Bei der Verbrennung von Casein unter den gewöhnlichen Verhältnissen war das Permanganat — hauptsächlich bei vollem Kochen — nach kurzer Zeit zersetzt und die überstehende Lösung klar, es war so schwer möglich, mit einer einmalig angesetzten Permanganatlösung das Auslangen zu finden, meist mußte weitere Lösung durch den Tropftrichter zugefügt werden, um die Verbrennung zu beendigen. Waren aber Neutralsalze, besonders in größerer Menge anwesend, so wurde diese Zersetzung des Permanganats auffallend eingedämmt. Nach einigen Stunden starken Kochens war die Lösung noch tief violett und nur wenig Braunstein am Boden abgesetzt.

Was die leichte oder schwerere Verbrennbarkeit der verschiedenen Stoffe anlangt, so ist eine absolute Regelmäßigkeit nicht zu finden. Es verbrennt jedenfalls ein Körper, der schon viel Sauerstoff enthält (Oxysäuren) leichter, als der entsprechende sauerstoffärmere. Im allgemeinen scheinen Moleküle um so schwerer vollkommen spaltbar zu sein, in je mehr für sich allein existenzfähige Gruppen sie zerfallen können. Es ist somit selbstverständlich, daß große Eiweißmoleküle außerordentlich schwer völlig zertrümmert werden. Es wäre auch denkbar gewesen, daß die Anzahl

der im Molekül vorhandenen Kohlenstoffatome das Wesentliche wäre, aber wie die Resultate zeigen und ja auch eine nähere Überlegung ergibt, ist dies nur von sekundärer Bedeutung. Interessant wäre eine diesbezügliche genaue Untersuchung der Alkohole mit steigender Kohlenstoffzahl gewesen, was aber in dieser Form wegen der großen Flüchtigkeit auf viele Schwierigkeiten stößt. Fettsäuren sind noch weniger geeignet, da sie in den niedrigsten Gliedern schwer angreifbar sind. Eine Ausnahme bildet die Ameisensäure, die ja auch sonst in vielen ihrer Eigenschaften stark von ihren übrigen Homologen abweicht. Aber schon die Essigsäure ist gegen Oxydation sehr resistent.

Bei unseren Versuchen betrug die Menge der Substanz etwa 5 cg bis 1 dg. Die Verbrennungszeit hängt nicht so sehr von der Menge der Substanz ab, als von ihrer Art. Es ist ja, da die Oxydation immer an der Stelle einsetzt, die schon Sauerstoff gebunden enthält, natürlich, daß Citronensäure und Weinsäure, beide außerordentlich sauerstoffreiche Körper, leicht verbrennen. Die Verbrennung der Citronensäure und des Zuckers, der ja auch viel Sauerstoff enthält, gingen unter Aufschäumen äußerst rasch vor sich. Trotzdem aber wurde noch einige Zeit erhitzt, um eventuell im Wasser gelöste Kohlensäure zu entfernen. Die tatsächliche Verbrennungszeit beträgt aber nicht mehr als 15 Minuten. Die Weinsäure war nach einer Stunde ebenfalls völlig zerstört, allerdings war die Reaktion lange nicht so stürmisch. Daß auch Harnsäure leicht angreifbar ist, ist bei dem relativ geringen Sauerstoffgehalt eigentlich auffallend. Aber wahrscheinlich ist die Oxydation zu Alloxan in verhältnismäßig kurzer Zeit erreicht, und dieses sowie die bei seiner Oxydation gebildete Parabansäure, die beide viel Sauerstoff gebunden haben, setzen der vollständigen Aufspaltung nur wenig Widerstand entgegen. Ebenso verläuft jedenfalls die Oxydation bei den Salzen, die nur in alkalischer Lösung schwerer angreifbar sind. Die Benzoesäure ist nicht so leicht oxydierbar, wie die vorher genannten Stoffe, enthält ja auch weit weniger Sauerstoff im Molekül. Auffallend war nur, daß Hippursäure, die beim Kochen in der verdünnten Säure enthaltenden Lösung ja in Glykokoll und Benzoesäure zerfallen mußte, relativ leicht verbrannte. Vielleicht greift doch das Oxydationsmittel früher im Ring an und spaltet das Molekül leichter als seine Zerfallsprodukte. Asparagin und Asparaginsäure schließlich, die ja ineinander übergehen, wurden auch in gleichartiger Weise oxydiert. Daß sie aber doch immerhin schwer angreifbar sind, liegt vielleicht an ihrem großen Wasserstoffgehalt. So hat der Sauerstoff außer der Oxydation des Kohlenstoffs noch die des Wasserstoffs zu leisten, eine Arbeit, die ihm z. B. bei der Harnsäure, von deren fünf C-Atomen überdies bereits drei Sauerstoff gebunden haben, erspart bleibt, während in der Asparaginsäure zwar zwei Carboxylgruppen vorhanden sind, deren Umwandlung zu CO<sub>2</sub> aber scheinbar ebenso schwer ist, wie die der Carbonylgruppe.

Es war noch von Interesse, zu vergleichen, wie sich die Verbrennungswärmen der Substanzen zu ihrer „Verbrennlichkeit“ verhielten, ob nämlich unter Berücksichtigung der Molekülgröße etwa die Körper mehr Wärme bei der Verbrennung liefern, die leicht angreifbar sind. Eine direkte Übereinstimmung ist nicht vorhanden, obwohl sich ja auch bei der Wärmetönung konstitutionelle Einflüsse geltend machen, wie besonders bei isomeren Stoffen kenntlich wird. So zeigt zum Beispiel von den beiden Isomeren Sarkosin und Alanin ersteres bedeutend höhere Wärmetönung, und zwar 4012 gegen 3877 Cal.



*Stohmann* hebt hervor, daß auch bei anderen Beispielen die Wärmetönung des an Stickstoff gebundenen  $\text{C}_2\text{H}_5$  größer ist, als jene der an Kohlenstoff gebundenen Methylgruppe. Auch in anderen Fällen treten ähnliche Konstitutionseinwirkungen auf, wie bei Maleinsäure und Fumarsäure, deren erstere eine Verbrennungswärme von 3263 gegen 3201 bei der letzteren aufweist.

Auffallend sind die angegebenen Werte<sup>1)</sup> bei der Buttersäure und Isobuttersäure, von denen letztere — die so wie alle Stoffe mit tertiärem Kohlenstoffatom leichter oxydierbar<sup>2)</sup> ist — eine wesentlich höhere Kalorienzahl aufweist. Danach wäre also der Zusammenhang in dieser Richtung wahrscheinlich. Bei der Ameisensäure und ihren Isomeren liegen die Verhältnisse ähnlich. In der Oxydierbarkeit besteht ein ganz bedeutender Unterschied zwischen dem ersten und den übrigen Gliedern der Reihe. Die Unterschiede in den Verbrennungswärmen sind ziemlich regelmäßig, und zwar 1540 Cal. Aber tatsächlich ist das erste Intervall um etwa 100 Cal geringer, so daß bei normaler Verbrennbarkeit der Ameisensäure eine um diese Zahl geringere Verbrennungswärme zukäme, was mit dem Beispiel der Isobuttersäure in Einklang steht.

Ameisensäure . . . . .	690	}	Differenz 1405
Essigsäure . . . . .	2095		
Propionsäure . . . . .	3644		
Buttersäure . . . . .	5185		
Isobuttersäure . . . . .	5402		
			.. 1549
			.. 1541 usw.

Oxalsäure hat die Zahl 602, also weniger als die Ameisensäure, obwohl sie ein größeres Molekül besitzt. Das wäre so zu deuten, daß sie durch den großen Reichtum an Sauerstoff nicht mehr so viel Verbindungswärme mit diesem geben kann. Immerhin erscheint die Wärmetönung in Hinsicht auf die leichte Verbrennbarkeit ziemlich niedrig.

Die Verbrennungszahlen der übrigen von uns verbrannten Körper sind bei der großen Ungleichheit der Moleküle schwer zu vergleichen.

Milchzucker und Citronensäure zeigen beide hohe Verbrennungswärme bei leichter Verbrennbarkeit. Der Vergleich zwischen Weinsäure und Asparaginsäure ist von Wichtigkeit, weil bei der ziemlichen Ähnlichkeit der Moleküle das sauerstoffreichere zwar leichter verbrennt, aber eine kleinere Verbrennungswärme gibt.

Weinsäure, $\text{CO}_2 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CO}_2\text{H}$ . . . .	2787
Asparaginsäure, $\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{NH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ . . . .	3872

Die genauere Untersuchung dieser Zusammenhänge wäre jedenfalls von großem Interesse.

Es sollte weiterhin die Untersuchung geführt werden, ob durch Auswahl geeigneter Oxydationsmittel, bzw. deren Konzentration, von den Abbauprodukten der Eiweißkörper vielleicht bei geeigneter Reaktionsführung der eine Teil intakt bleiben, der andere aber verbrennen würde.

Es soll gleich gesagt werden, daß eine wirkliche vollständige Trennung auf diesem Wege vorläufig nicht erreicht wurde; aber doch

<sup>1)</sup> *Ostwald*, Thermochemie.

<sup>2)</sup> *Holleman*, Lehrb. d. organ. Chem. 1918, S. 93.

wenigstens eine, in der verschiedenen Wirkungsweise der verwendeten Oxydantien begründete, teilweise Scheidung.

Von den Oxydationsmitteln schieden Brom und Salpetersäure aus, weil sie leicht Anlaß zur Bildung von nicht im Molekül präformierten Endprodukten geben. Bei den zur oxydativen Spaltung vorgenommenen Versuchen hatte es sich gezeigt, daß Chromsäure, abgesehen von ihrer etwas weniger energischen Wirkung, *dieselben* Zerfallsprodukte hervorrief, wie das Kaliumpermanganat. Wir wählten aus diesen Gründen als Oxydantien Permanganat sowie als zweites das Wasserstoffsperoxyd. Da es sich um durchweg stickstoffhaltige Verbindungen handelte, so konnten wir, um uns über das Maß der Zersetzung zu orientieren, diesen in den verschiedenen Fraktionen bestimmen.

Bei der hydrolytischen oder oxydativen Spaltung der Eiweißkörper fand man eine Reihe dieser Abbauprodukte immer wieder, so daß man sie also als Bausteine des Eiweißmoleküls ansprechen muß. Die quantitative Bestimmung dieser Stoffe ist durch eine Anzahl von Schwierigkeiten behindert. *Es war uns daran gelegen, etwa vorhandene Unterschiede in der Zusammensetzung der Abbauprodukte nach partieller Oxydation mit den gewählten beiden Oxydationsmitteln aufzufinden.* Zu diesem Zwecke mußte eine einfache, wenn auch nur grobe Trennungsmethode für die drei Hauptgruppen der N-haltigen Abbauprodukte gefunden werden. Das sind der Ammoniakstickstoff, weiter der basische oder Diaminosäureanteil, schließlich die Monoaminosäuren. Da kommt nun in erster Linie die Fällung mit Phosphorwolframsäure in Betracht. Sie gibt nur dann einwandfreie Werte, wenn gewisse Bedingungen eingehalten werden. Die Methode wurde von *Hausmann*<sup>1)</sup> angegeben, wurde aber von uns modifiziert. *Hausmann* bezieht den als Phosphorwolframverbindung gefällten Stickstoff auf die basischen Anteile des Moleküls (Diaminverbindungen), nun fallen aber aus sehr konzentrierter Lösung auch Monoaminosäuren teilweise aus. Andererseits darf die Lösung aber auch nicht zu verdünnt sein, da alle Diaminophosphorwolframverbindungen immerhin löslich sind, so daß man bei vorliegenden kleinen Mengen nicht unbeträchtliche Fehler machen würde. Das Auswaschen des Niederschlags muß vorsichtig und rasch mit einer möglichst kleinen Menge mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure versetzten Waschwassers vorgenommen werden. Unbedingt zu vermeiden ist ein längeres Stehen des Waschwassers auf dem Filterinhalt. Zu der zu fällenden Lösung ist langsam nur eben so viel Phosphorwolframsäure zuzusetzen, bis der Niederschlag nicht mehr sofort fällt und deutlich kristallinisch wird. Auch ist es angezeigt, die Filtration erst nach etwa 24stündigem Stehenlassen vorzunehmen. Unter diesen

<sup>1)</sup> *Hoppe-Seyler*, 27, 93; 29, 136.

Bedingungen sind die Werte dann aber auch wirklich verlässlich, wie wir uns durch Fällen und vergleichende Kjeldahlbestimmungen bei Probelösungen von hydrolysiertem Eiweiß (extrahiertes Trockenserum und Casein) überzeugt haben. Die Stickstoffbestimmungen gaben einwandfrei gut übereinstimmende Resultate.

Die Apparatur bestand in einem 500 ccm fassenden Kolben mit aufgesetztem Rückflußkühler, der dazu diente, die Lösung auf gleicher Konzentration zu halten.

Die Methode bei der partiellen nassen Verbrennung war folgende. In einen offenen 500-ccm-Kolben wurden in 200 ccm Wasser eine abgewogene Menge der zu verbrennenden Substanz sowie das Oxydationsmittel gebracht, eventuell Säure zugegeben und eine Zeit gekocht, die so bemessen war, daß bestimmt die volle Verbrennung noch lange nicht eingetreten war (bis zu 2 Stunden). Die Lösung wurde filtriert, alkalisch gemacht, der Ammoniakstickstoff durch etwa 20 Minuten langes Kochen entfernt und dann nach Einengen auf genau 250 ccm in aliquoten Teilen der Gesamtstickstoff und nach Fällung mit Phosphorwolframsäure der Reststickstoff bestimmt. Fallweise wurde Fällung mit Gerbsäure vorgenommen, sowie Biuretreaktion und Formoltitration.

Nach den oben zitierten Ergebnissen der Verbrennung mit Kaliumpermanganat war zu erwarten, daß bei der Behandlung des Eiweißmoleküls durch Oxydationsmittel die entstehenden Abbauprodukte ungleich angegriffen werden würden. Es zeigten sich nun in der Wirkungsweise der verwendeten Oxydationsmittel Kaliumpermanganat und Wasserstoffsperoxyd wirklich gewisse Unterschiede.

Die zu verbrennenden Körper wurden so ausgewählt, daß Repräsentanten der wichtigsten Eiweißabbauprodukte vorhanden waren. Von den Monoaminosäuren wurde Glykokoll, das in fast allen Eiweißhydrolysaten gefunden wurde, benutzt. Als Vertreter der Diaminosäuren wurde ein aus Eiweißhydrolysat isoliertes Gemenge benutzt. Schließlich wurden vollständige Eiweißmoleküle der Verbrennung unterzogen, wie Casein, Serumeiweiß, Nuclein, dann aus Serumeiweiß gewonnenes Alkalialbuminat und schließlich ein durch Behandlung von Glykokoll mit Formalin gewonnener Körper, der in manchen seiner Eigenschaften den einfachen Dipeptiden nahezustehen schien. Die Lösung dieses Körpers ist dunkelrotbraun gefärbt, beim Eindampfen resultiert eine braune, klebrige Masse, die nicht zur Kristallisation zu bringen ist. Versuche, die gelbrote verdünnte Lösung durch Tierkohle zu entfärben, schlugen fehl. Mit Phosphorwolframsäure ergab sich ein starker, käsiger Niederschlag. Erhalten wurde das Produkt durch Eindampfen einer kleinen Menge Glykokolls mit Formaldehyd in schwach saurer Lösung. Durch mehrfaches Aufnehmen

mit Wasser und nochmaliges Eindampfen zur Trockne auf dem Wasserbad gelang es, den Formalingeruch vollkommen zu entfernen. Zuerst glaubten wir, einen peptidartigen Körper vor uns zu haben, aber tatsächlich liegt nur ein Kondensationsprodukt vor, wie schon der leichte Zerfall zeigt.

Es scheint sich aber, nach den Eigenschaften des Körpers zu urteilen, nicht nur, wie es sonst bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Aminosäuren, z. B. bei der Sörensentitration geschieht, ein einfaches Methylierungsprodukt zu bilden, sondern es dürfte eine Kettenbildung von mehreren Molekülen stattfinden. Daß das Produkt sich bei seiner Verbrennung gegenüber den beiden Oxydationsmitteln doch fast so verhält, wie das gewöhnliche unveränderte Glykokoll, liegt wahrscheinlich daran, daß es in der Lösung sehr rasch wieder in seine Komponenten zerfällt.

Es wurden wechselnde Mengen Substanz bis zu etwa 2 g Höchstausmaß zersetzt und der Rückstand, der in Lösung blieb, untersucht. Die Oxydationen wurden, wie schon erwähnt, zu Vergleichszwecken mit Wasserstoffsperoxyd und Kaliumpermanganat in saurer Lösung vorgenommen, und zwar wurden die Mengen dieser beiden Stoffe so gewählt, daß die abgegebene Sauerstoffmenge die gleiche war. Das Wasserstoffsperoxyd wurde auch aus dem Grunde als zweites Reagens gewählt, weil diese Art der Oxydation den physiologischen Abbauprozessen nahesteht. Die angewandte Wasserstoffsperoxydlösung war 3proz. und in der üblichen Weise schwach sauer, um die Selbstzersetzung hintanzuhalten. Davon wurden der Lösung 60 ccm zugesetzt. Da selbst in der ganz schwach sauren Lösung die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds immerhin ziemlich rasch erfolgte, wurde diese Menge in fünf Portionen zu 10 ccm geteilt und so in gleichen Zeitintervallen der Oxydationslösung zugesetzt. Erhitzt wurde zum mäßigen Sieden in allen Versuchen gleichmäßig, und zwar durch etwa 2 Stunden. Danach wurde der Kühler abgenommen, alkalisch gemacht und so lange erhitzt, bis das Hydroperoxyd zerstört war, was sehr stürmisch erfolgte, und die gebildeten Mengen Ammoniak entfernt waren, so daß sich ein in den Dampf gehaltenes rotes Lackmuspapier nicht mehr bläute. Darauf wurde in aliquoten Teilen Gesamtstickstoff und nach Einengung und Fällung mit Phosphorwolframsäure der Reststickstoff bestimmt. Die Kjeldahlbestimmung sowohl der Niederschläge als auch der mit Phosphorwolframsäure versetzten Filtratflüssigkeiten gestaltete sich sehr schwierig und zeitraubend, oft war die Lösung im Kjeldahlkolben bereits farblos und wurde nach einiger Zeit, besonders nach Umschütteln, plötzlich durch Verkohlung wieder schwarz. Jedemfalls muß unbedingt durch 5 bis 6 Stunden unter Zusatz von Natriumsulfat und Kupfersulfat erhitzt werden, um zu richtigen Resultaten

zu gelangen. An die von *Hausmann* angegebene Bildung des gelben Wolframtrioxyds als Endpunkt kann man sich doch nicht mit voller Sicherheit halten. Am besten ist es, nach dem Hellwerden des Kolbeninhalts noch ein wenig Kjeldahlschwefelsäure zuzusetzen und nach tüchtigem Umrühren nochmals kurze Zeit zu erhitzen. Bleibt die Masse hell, so ist der Endpunkt erreicht, andernfalls tritt eine neue Verkohlung auf.

Nach der Verbrennung mit *Permanganat* war die weitere Verarbeitung folgende. Die Flüssigkeit wurde zuerst mit Sulfit bzw. Wasserstoffsuperoxyd vollkommen entfärbt, um festzustellen, ob eine klare Lösung vorlag. War dies der Fall, wurde alkalisch gemacht und so viel Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt, bis der Braunstein völlig ausgefallen war. Hierauf wurde filtriert, das Filtrat eine Zeitlang alkalisch gekocht, dann auf Volumen gebracht und ebenso behandelt, wie die Lösung nach der Hydroperoxydverbrennung.

Verbrannt wurde zuerst Glykokoll als Vertreter der Monoamino-säuren. Da zeigte sich nun, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, daß Glykokoll von Permanganat bedeutend stärker angegriffen wird als von Wasserstoffsuperoxyd. Es wäre die Möglichkeit gewesen, daß das Permanganat ganz allgemein ein beträchtlich energischeres Oxydationsmittel darstellt. Das ist aber, wie gezeigt werden soll, nicht unbedingt immer der Fall. Für gewöhnlich wird das Wasserstoffsuperoxyd wohl in Verbindung mit Eisensalzen als Katalysator verwendet. Wir verwendeten es ohne einen solchen Zusatz, gerade weil bei dieser normal langsamen Oxydation eine Beobachtung der Wirkung leichter ist.

Es wurde mit Glykokoll eine Reihe von über zwanzig Versuchen angestellt, die im gleichen Sinne verlaufende Ergebnisse hatten. Als nächster Körper wurde ein Gemisch von hauptsächlich Lysin, Arginin und Histidin enthaltenden basischen Körpern verwendet, da die getrennte Isolation der reinen Basen auf viele Schwierigkeiten stieß und auch die Verwendung der einzelnen Stoffe gesondert für die Konstatierung ihres Verhaltens gegenüber den Oxydationsmitteln nicht nötig war. Es war ausreichend, die Gruppe zu untersuchen, deren einzelne Glieder ja einander ziemlich ähnlich sind. Hergestellt wurden sie auf folgende Weise. Fein zerteiltes Pankreas, das von der Insulinherstellung herrührte, wurde durch etwa 6 Stunden der Hydrolyse unterworfen, kolliert, über Tierkohle filtriert und nach Einengung mit Phosphorwolframsäure gefällt. Es wurde, da das Waschwasser trotz des Entfärbeversuchs noch gefärbt ablief, bis zur Aufhellung gewaschen und dann der Niederschlag getrocknet und derselbe, so wie er war, samt der Phosphorwolframsäure zur Verbrennung benutzt. Es verbrauchten 1,4605 g bei der Kjeldalbestimmung 11,6 ccm n/4 Säure, enthielten also 0,0406 g N.

Tabelle II.

Art und Menge der Substanz	Verbrennungszeit Stdn.	Oxydans.	Gesamtrest N nach Oxydation verbrauchter Säuren		Daher fällbar Gesamt-N Proz.	Bemerkungen Die Reaktionen beziehen sich auf das Endprodukt
			ccm	ccm		
Casein						
0,2440	2	60 ccm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	13,5	12,5	7,4	
0,5000	3	5 g Permng.	16,0	6,5	59,4	Schwache Biuretreaktion 2 Proz. keine Gerbs.-Fällung H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0,2000	2	2 g „	14,0	6,4	54,3	Formol N 2,4
0,3800	3 1/2	60 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	17,5	13,5	20,6	Formol N 3,5 schwache Biuretreaktion
0,3000	2	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,3	3,8	38,7	Zuerst 1 Std. mit verdünntem H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> hydrolysiert
Trockenserum						
0,5700	2	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	11,5	9,5	17,4	Wird bei Zugabe von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> trübe
0,5350	2	3 g Permng.	9,0	5,5	31,0	180 H <sub>2</sub> O 20 ccm 10proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Alkalbumin						
0,5780	2	3 g Permng.	12,3	1,5	87,0	180 H <sub>2</sub> O 20 ccm 10proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0,4110	2	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	11,6	6,0	49,0	180 Wasser mit H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> neutral, reagiert nach dem Kochen alkalisch
Basengemisch						
0,5022	2	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3,9	3,5	5,4	Gesamt-N berechnet, am Filter 0,2 N gefunden
0,9534	2	3 g Permng.	7,5	1,2	54,0	Wie vordem, am Filter 2,2 N gefunden
0,8610	2	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,8	5,3	11,0	Wie vordem, am Filter 0,7 N gefunden
1,0632	2	3 g Permng.	8,6	2,8	51,0	Wie vordem, am Filter 2,9 N gefunden

Tabelle III.

Menge und Substanz	Verbrennungszeit	Oxydans	Gesamt-N in n/4 Säure		Daher verbrannt	Bemerkungen
			be-rechnet	ge-funden		
Glykokoll						
0,4432	2h00'	60 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	23,9	21,1	11,7	Ammoniak N entf.
0,3518	2 00	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	18,7	16,8	10,1	
0,3750	2 30	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	20,1	14,6	27,0	
0,3870	2 00	5 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	20,7	19,0	8,2	
0,2910	2 30	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	15,5	12,3	21,3	
0,2768	0 40	20 ccm				
0,4167	2 00	20proz. NaOH 6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	14,8 22,3	14,6 19,5	— —	Versuch ob N verloren geht Wird gelb nach Eindampfen mit 20 ccm Formol, nach KOH-Zugabe braun. Rest-N 15,5, daher fällbar 20,5 Proz.
0,4167	2 00	3 g Permng.	22,3	4,0	82,2	Mit Formol, Rest-N 2,9, fällbar 27,5 Proz.
Casein						
0,2540	2 30	6 × 10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9,8	7,7	21,0	
0,2921	2 30	3 g Permng.	11,3	0,6	95,5	

Aus den in den Tabellen II und III verzeichneten Versuchen ergibt sich nun folgende Tatsache: Das Permanganat ist wohl in saurer Lösung

ein energischeres Oxydationsmittel als das Hydroperoxyd in der von uns angewendeten Form (ohne Katalysator). Aber außerdem ist seine Wirkung auch eine spezifisch andere.

Es zeigte sich bei der Verbrennung mit Permanganat, daß zwar ein geringerer Teil der Substanz intakt blieb, der übrigbleibende Stickstoff sich aber fast zur Gänze im Phosphorsäureniederschlag fand, während Wasserstoffsperoxyd oxydativ geringe Wirkung hatte, aber eine so erhebliche hydrolytische bzw. desamidierende, daß schließlich alle vorhandenen Verbindungen in einer nicht mehr durch Phosphorwolframsäure fällbaren Form vorlagen, so daß der gesamte restliche Stickstoff im *Filtrat* gefunden wurde.

Mit dem eben erwähnten Basengemisch wurden sechs Versuche gemacht, um mit Sicherheit diese auffallende Tatsache festzustellen.

Danach scheint das Wasserstoffsperoxyd eine hauptsächlich hydrolysierende Wirkung auszuüben. Wenn die Lösung während des Versuchs vorsichtig angesäuert und nach Beendigung stark eingeeengt wurde, war es möglich, im Filtrat die Gegenwart von Ammoniak nachzuweisen, was sonst in der fast neutralen Lösung schwer möglich ist, weil während des Kochens das  $\text{NH}_3$  entweicht. Dieses Ansäuern konnte aber nur ganz allmählich mit verdünnter Säure geschehen, da bei Zugabe der Säure in größeren Mengen (0,4 Proz.) das  $\text{H}_2\text{O}_2$  sich fast momentan unter Aufschäumen zersetzte. Dabei wurden in gewissen Grenzen die Versuchsbedingungen geändert. Durch die Beobachtung dieser eigenartigen Wirkungsweise wird auch die schwere Oxydation des Glykokolls erklärlicher, das ja innerhalb des Eiweißmoleküls dem schwerst spaltbaren Komplex angehört und eben auch selbst erst durch die stärksten Mittel oxydiert bzw. desamidiert wird.

Zur Probe wurde ein Peptidgemisch, das aus Pankreas durch mehrtägige Verdauung mit Pepsinsalzsäure gewonnen war und dann nach Kolierung und Filtration mit Phosphorwolframsäure gefällt wurde, ebenso verbrannt bzw. hydrolysiert. Das Resultat war in bezug auf die Stickstoffverteilung in den Endprodukten das gleiche. Dabei ist noch zu bemerken, daß die Permanganatlösung weit stärker angesäuert war als die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung, deren geringer Säuregehalt bei der Hervorrufung der hydrolytischen Spaltung wohl kaum in Betracht zu ziehen war.

Diese hydrolytisch spaltende Wirkung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  wurde das erstemal von *Neuberg* und später von *Miura* beobachtet<sup>1)</sup>. *K. Suto*<sup>2)</sup> veröffentlichte seine Untersuchungen über die Oxydation der Amine durch Wasserstoff-

---

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *S. Miura*, diese Zeitschr. 20, 526, 530, 1909; 36, 37, 1911.

<sup>2)</sup> *K. Suto*, ebendasselbst 71, 169, 1915.

superoxyd. Er fand, daß die Wirkung des  $H_2O_2$  hier eine hauptsächlich desamidierende war. Die Amine wurden unter Loslösung von Ammoniak in die entsprechenden Aldehyde mit der gleichen Kohlenstoffanzahl umgewandelt, ein Vorgang, zu dem jedenfalls die Oxydation der Diaminosäuren ein Analogon darstellt.

Auch bei den Verbrennungen ganzer Eiweißmoleküle zeigten sich ähnliche Unterschiede. Allerdings war es nicht möglich, das gesteckte Ziel zu erreichen und durch Variation von Konzentration und Verbrennungszeit es dahin zu bringen, daß von den durch die teilweise Hydrolyse und Oxydation frei gewordenen Spaltungsprodukten der eine Teil gänzlich unangegriffen blieb. Immer war auch da ein Teil zerstört. Die Verhältnisse lagen so, daß bei Casein, das zuerst verbrannt wurde, sowie auch bei Serumeiweißoxydation das Permanganat zwar einen größeren Teil verbrannte, d. h. also weniger Stickstoff überhaupt gefunden wurde, daß aber ein prozentual wesentlich größerer Teil desselben in einer durch Phosphorwolframsäure fällbaren Form vorlag.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist von den Eiweißkörpern nach dreistündiger Einwirkung der angesäuerten Permanganatlösung fast kein Stickstoff mehr zu finden (nach Entfernung des Ammoniaks), obwohl bei der Bestimmung des *Kohlenstoffs* im ersten Teile der Arbeit nach diesem Zeitraum noch etwa 25 Proz. desselben unverbrannt gefunden wurden. Das läßt den Schluß zu, daß der Stickstoff zuerst abgespalten wird und nach dieser relativ kurzen Zeit nur mehr stickstofffreie Zerfallsprodukte vorhanden sind.

Bei der Verbrennung des Caseins waren einige Schwierigkeiten zu überwinden, wegen der Empfindlichkeit des Wasserstoffsuperoxyds gegen Säuren und insbesondere aber auch ganz geringe Mengen von Basen, die ja besonders geeignet zur Lösung des Eiweißkörpers gewesen wären. Schließlich gelang es, das Casein in einer möglichst geringen Quantität von Kalkwasser zu lösen und so zuzugeben. Die Lösung war nicht ganz klar, sondern opalisierend, aber jedenfalls war doch eine genügend feine Verteilung des Casein im Oxydationsgemisch erreicht.

Schließlich wurden auch noch Verbrennungen mit Nuclein, Alkalialbuminat und dem Methylglykokoll vorgenommen, welche ein den erwähnten Ergebnissen analoges Resultat ergaben.

So läßt sich also zusammenfassend sagen: Der Unterschied in der Angreifbarkeit der Eiweißabbaustoffe durch Oxydationsmittel stellt sich als ein recht bedeutender heraus, wenn es auch nicht gelingt, die eine Gruppe gänzlich unangegriffen zu lassen, während die andere zerstört wird. Inwieweit auch hier die Konstitution von Einfluß ist, läßt sich nicht ohne weiteres beantworten. Tatsächlich sind Aminosäuren, die durch Permanganat leicht verbrannt werden, gegen  $H_2O_2$



sehr resistent. Umgekehrt werden basische Stoffe und Peptide von Wasserstoffsperoxyd stark angegriffen, teils desamidiert und teils gespalten. Die starke hydrolysierende Wirkung des Wasserstoffsperoxyds wird hier deutlich. Woran dieser Unterschied in der Wirkung des vom Hydroperoxyd entwickelten Sauerstoffs liegt, ist vielleicht an der Wirkung des bei der Oxydation entstehenden — naszierenden — Wassers gelegen. Denn wie die neuere physikalische Chemie es tut, ist anzunehmen, daß das gewöhnliche Wasser *polymerisiert* ist und diese großen Moleküle infolgedessen lange nicht so aktiv sind wie die bei verschiedenen Prozessen (Salzbildung, Esterbildung sowie eben auch Zerfall des  $H_2O_2$  entstehenden Einzelmoleküle). Selbstverständlich ist das rein hypothetisch, aber immerhin wahrscheinlich. Denn wenn auch der Sauerstoff des Permanganats voraussichtlich in einer anderen, energischer wirkenden Form abgespalten wird als der des  $H_2O_2$ , etwa als Ozon, so kann dadurch allein noch nicht der große Unterschied in der spezifischen Wirkungsart der beiden Oxydantien erklärt werden.

---

## Über das Wesen der Autolyse.

### IV. Mitteilung:

#### Weitere Beiträge zur Beeinflussung der Autolyse durch Jod.

Von

O. Steppuhn und A. Timofejewa.

(Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Pharmakologie des staatlichen chemo-pharmazeutischen Forschungsinstituts zu Moskau.)

(Eingegangen am 1. Mai 1926.)

Die Verstärkung der Organautoproteolyse durch Jod wurde seinerzeit von *Kepinoff*<sup>1)</sup> und *Kaschiwabara*<sup>2)</sup> beobachtet und konnte neuerdings mit bedeutend verschärfter und verbesserter Methodik durch *O. Steppuhn* und *L. Utkin-Ljubowzoff*<sup>3)</sup> bestätigt werden. Es hat sich gezeigt, daß ganz allgemein nach einer Förderung der Autolyse ein weiterer Jodzusatz eine Hemmung herbeiführt. Die positive Phase hängt nicht mit einer Beteiligung von Antiproteasen im *Jöblingschen* Sinne — durch Jodierung doppelter Fettsäurebindungen — zusammen.

Es gingen diese Versuche darauf hinaus, die beobachtete Jodwirkung in vitro auf den lebenden Organismus zu übertragen. Sollte auch hier der Eiweißzerfall durch Jodzufuhr gefördert werden, und zwar direkt, ohne Umweg der Schilddrüse, dann wären neue Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß die proteolytischen Prozesse in der lebenden Zelle durch dasselbe „autolytische Ferment“ geregelt werden, die uns im Glase die Eiweißstoffe des Organbreies spalten. Nun konnten *O. Steppuhn* und *Xenia Utkin-Ljubowzoff*<sup>4)</sup> und mit noch schärferer Beweisführung *L. Utkin-Ljubowzoff*<sup>5)</sup> inzwischen zeigen, daß, trotz gegenteiliger Anschauungen, das „autolytische Ferment“ mindestens aus drei verschiedenen Fermenten besteht, darunter eins mit dem

1) Diese Zeitschr. 37, 238, 1911.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 82, 425, 1912.

3) Diese Zeitschr. 150, 165, 1924.

4) Ebendasselbst 158, 38, 1925.

5) Ebendasselbst 158, 50, 1925.

unphysiologisch sauren Optimum  $p_{\text{H}} = 3,0$  bis  $3,4$ . Dieses Ferment dominiert bei der Autolyse *in vitro*, theoretisch müßte ihm gerade die geringste Rolle bei dem Zellprozeß *in vivo* zugeteilt werden.

Damit spitzte sich die Frage folgendermaßen zu: Welche proteolytische Fermente von den im Leberbrei gefundenen werden in ihrer Tätigkeit durch Jod angeregt? Es müßte somit die Jodwirkung in den Optimalpunkten der einzelnen Fermente studiert werden.

#### Methodik.

Die Leber eines vorerst entbluteten und mit Ringerlösung durchspülten Kaninchens (näheres siehe vorherige Mitteilungen) wurde im Mörser fein zerrieben und durch ein Nickelsieb geschlagen. Eine bestimmte abgewogene Menge des Leberbreis wurde zu 20 Proz. mit Wasser aufgeschwemmt, gut durchgeschüttelt und durch Gaze filtriert. Das Filtrat wurde in E.-Kölbchen, à 5 ccm, verteilt, dazu wurden 0 bis 3 ccm Jodjodkalilösung gegeben bzw. mit Wasser auf 3 ccm aufgefüllt. Nach Hinzufügen von je 5 ccm Acetat- oder Phosphatpuffer, einigen Körnchen Thymol und Tropfen Toluol gelangten die Kölbchen in einen Thermostaten von  $37^{\circ}$ . Zur Bestimmung des Anfangsreststickstoffs wurden die Kölbchen sofort mit alkalischer Kupfersulfatlösung enteiweißt, am nächsten Tage in ein 50-ccm-Kölbchen übergeführt und aufgefüllt; in 10 ccm des Filtrats wurde der Stickstoff (Mikrokjeldahl) bestimmt. Die im Thermostaten verbliebenen Kölbchen wurden später ebenso behandelt. Der Gesamt-N-Wert wurde in 1 ccm der anfänglichen Organaufschwemmung bestimmt.

In Tabelle I sind die Resultate der Versuche im Wasser und den Pufferungen  $p_{\text{H}} = 5,0$ ;  $7,1$  und  $7,6$  zusammengestellt. Der relative Zuwachs wurde wie früher (s. Mitteilung I und II) berechnet.

Tabelle I.

Berechnung auf 5 ccm 20proz. Aufschwemmung in mg. Dauer der Autolyse 73 Stunden.

Litern	Jod ccm	Anfängl. Rest-N	Wasser		$p_{\text{H}} = 5$		$p_{\text{H}} = 7,1$		$p_{\text{H}} = 7,6$	
			Rest-N nach Autol.	Relat. Zu- wachs	Rest-N nach Autol.	Relat. Zu- wachs	Rest-N nach Autol.	Relat. Zu- wachs	Rest-N nach Autol.	Relat. Zu- wachs
A	0	1,80	4,7	100	7,5	100	3,8	100	3,9	100
B	1 ccm n/160	1,80	5,5	128	7,7	104	4,2	120	3,9	100
C	2 " "	1,80	5,6	131	8,0	109	3,2	70	3,9	100
D	3 " "	1,80	5,1	114	7,2	73	4,2	120(?)	4,4	124
A'	0	1,82	4,1	—	6,3	100	3,0	100	4,2	100
B'	1 ccm n/80	1,82	—	—	7,5	127	3,4	133	2,5	29
C'	2 " "	1,82	—	—	4,9	69	2,8	83	2,4	25
D'	3 " "	1,82	—	—	4,6	62	2,1	23	2,3	21

Wie aus der Tabelle I zu ersehen ist, tritt eine Autolyseförderung beinahe in allen Fällen ein, nur bei  $p_{\text{H}} = 7,6$  und Anwendung von n/80 Jodlösung ist eine Hemmung bei allen Jodkonzentrationen zu beobachten. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß eine Förderung auch in diesem

Falle besteht und einfach durch zu hohe Jodgabe übersprungen wurde. Die beiden Versuchsserien (A, B usw. und A', B' usw.) sind gewiß nicht zu vergleichen, weil sie sich auf zwei verschiedene Lebern beziehen, und doch muß es auffallen, daß, um ein Beispiel zu geben, 2 ccm n/160 Jod bei  $p_H = 7,6$  noch keine Förderung gibt, *dieselbe* Jodmenge jedoch in einer größeren Konzentration (1 ccm n/80) in der zweiten Versuchsreihe einen enormen Abfall der Eiweißspaltung von 100 auf 29 Proz. zeigt. Schon diese Versuche lassen daran denken, daß die Förderung oder Hemmung sehr davon abhängt, mit welchen Jodkonzentrationen die Eiweißemulsion gleich beim Anfang der Jodierung in Berührung kommt. Dieses wurde von uns in einer großen Zahl von Versuchen wiederholt beobachtet, die entsprechenden Protokolle führen wir, um Raum zu sparen, nicht an.

Die Tabelle II zeigt die Beeinflussung durch Jod des im stark sauren Milieu verlaufenden proteolytischen Prozesses. In Anbetracht des oben Mitgeteilten wurde dieser Versuch besonders detailliert mit einer großen Reihe verschiedener Jodgaben durchgeführt und ergab im ganzen dasselbe Resultat: Förderung oder Hemmung der Lyse in Abhängigkeit der zugeführten Jodmengen und in Abhängigkeit der jeweils mit dem Fermentsubstratgemenge bei dem Jodierungsprozeß in Berührung kommenden Jodkonzentration. 2 ccm n/640 und 1 ccm n/320, sowie 2 ccm n/160 und 1 ccm n/80 geben nicht denselben Grad der Förderung, obgleich die absoluten Jodmengen in den beiden ersten und beiden letzten Fällen dieselben sind. Im Prinzip unterscheidet sich aber der Versuch in nichts von vielen anderen: geringere Jodmengen fördern, größere hemmen die Eiweißspaltung. Bei *gegebenen Versuchsbedingungen* ist also dieses eine von der Wasserstoffionenkonzentration des Reaktionsmediums unabhängige Erscheinung.

Tabelle II.

Berechnung auf 5 ccm 20proz. Aufschwemmung. Dauer der Autolyse 72 Stunden.

Jod	$p_H = 3,8$				Bemerkungen
	Anfängl. Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	Relativer Zuwachs	Eiweißspaltung Proz.	
0	2,4	9,7	100	63,0	Gesamt-N-Wert = 14,0 mg
2 ccm n/640	2,4	11,03	118,2	74,0	
3 " n/640	2,4	11,2	120,5	75,9	
1 " n/320	2,4	12,2	134,2	84,5	Eiweißspaltung in Proz. Berechnet nach der Formel $\frac{R_2 - R_1}{G_2 - R_1} \cdot 100$
2 " n/320	2,4	12,2	134,2	84,5	
3 " n/320	2,4	11,9	130,1	81,9	
1 " n/160	2,4	11,9	130,1	81,9	G, Gesamt-N-Wert. R <sub>1</sub> , anfängl. Rest-N R <sub>2</sub> , Rest-N nach Autolyse
2 " n/160	2,4	10,0	104,1	65,5	
3 " n/160	2,4	8,5	83,5	52,6	
1 " n/80	2,4	12,2	134,2	84,5	
2 " n/80	2,4	8,0	76,8	48,3	
3 " n/80	2,4	8,0	76,8	48,3	

Es lehrten uns also alle bisher angeführten Versuche, daß Jod in Abhängigkeit von der *Jodkonzentration* der Jodierungsflüssigkeit mehr oder weniger, aber ganz allgemein und bei verschiedener Pufferung, Förderung

oder Hemmung der Proteolyse hervorruft. Um zu prüfen, ob dieses Ergebnis Allgemeincharakter besitzt und nicht von der Art der Jodierung abhängt, versuchten wir ein anderes Jodierungsverfahren, welches eigentlich nur die „Reihenfolge“ wechselt — es wurde die *Eiweißemulsion in die Jodlösung gegossen*. Die Bedeutung der „Reihenfolge“ bei biologischen Reaktionen wurde bereits öfters betont.

n/80 Jodlösung wurde in E.-Kölbchen gegeben und in jedem Kölbchen mit Wasser auf je 3 ccm Gesamtflüssigkeit aufgefüllt. Die 5 ccm 20proz. Leberemulsion wurden sodann unter Umschwenken in die Jodlösung gebracht.

Es wurde der Versuch bei Pufferungen  $p_H = 3,8$ ; 7,1 und 7,6 durchgeführt. Das Ergebnis war überraschend.

Im sauren Medium bei  $p_H = 3,8$  wurde bei keiner der angewandten Jodmenge eine Förderung beobachtet, sondern eine starke Hemmung, die bei Verminderung der Jodgabe zurückging, um schließlich die normalen Kontrollzahlen des blinden Versuchs (ohne Jod) zu erreichen (s. Tabelle III). Dagegen blieben alle Jodkonzentrationen — sogar die von 3 ccm n/80 Jod pro 5 ccm Aufschwemmung — bei  $p_H = 7,1$  und 7,6 *vollkommen unwirksam*. Die Autolyse blieb nicht stehen; in den 63 bis 64 Stunden hatten sich die Rest-N-Werte um etwa 30 Proz. vergrößert, aber *keine der durchgeprüften zwei Jodkonzentrationen (wie für  $p_H = 3,8$  in Tabelle III) haben es vermocht, den Vorgang zu hemmen oder zu fördern*.

Tabelle III.

Berechnung auf 5 ccm 20proz. Aufschwemmung. Dauer der Autolyse 40 Stunden.

n/80 Jod ccm	$p_H = 3,8$				Bemerkungen
	Anfängl. Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	Relativer Zuwachs	Eiweißzerfall Proz.	
0	4,0	13,0	100	81,8	Gesamt-N-Wert = 15,0 mg  Berechnung des Eiweißzerfalls in Prozenten. Wie in Tabelle II.
3,0	4,0	7,0	33,3	27,2	
2,0	4,0	7,5	30,9	31,8	
1,75	4,0	9,0	55,5	45,5	
1,5	4,0	9,5	62,0	50,0	
1,25	4,0	10,5	72,2	59,0	
1,0	4,0	10,0	67,0	54,5	
0,75	4,0	12,0	89,0	72,7	
0,5	4,0	13,0	100	81,8	
0,25	4,0	13,0	100	81,8	
0,1	4,0	—	—	—	
0,05	4,0	13,0	100	81,8	

Somit steht und fällt der Charakter der Autolysebeeinflussung durch Jod mit der Art der Jodierung. Es mag ja sein, daß, wenn wir in der letzt-erwähnten Versuchsreihe noch größere Jodkonzentrationen angewandt hätten, wir bei  $p_H = 7,1$  und 7,6 doch noch eine Förderung und sodann noch eine Hemmung erhalten hätten, dagegen ist es schon viel weniger wahrscheinlich, daß bei dieser Jodierungsart in saurem Milieu eine Förderung zuwege gebracht werden konnte, denn ganz minimale Jodmengen wirken überhaupt nicht, größere hemmen bereits den Prozeß.

Alles dieses kann vielleicht an und für sich von Interesse sein, nimmt uns aber leider die Möglichkeit, unsere Grundfrage mit Hilfe des Jodeffekts zu entscheiden. Es sollte ja nämlich geprüft werden, ob, wenn durch Jod die Autolyse *in vitro* gefördert wird, Symptome einer direkten Beeinflussung der proteolytischen Prozesse *in vivo* zu beobachten sind, dann wäre es anzunehmen, daß dieselben „autolytischen Fermente“ in der lebenden Zelle funktionieren. Seitdem wir wissen, daß das „autolytische Ferment“ kein einheitlicher Begriff ist, hatte sich unsere Frage weiter zugespitzt. Es sind nämlich die Merkwürdigkeiten der Organautolyse eben nur der Pepsinase mit dem Optimum  $p_H = 3,2$  bis  $3,4$  zuzuschreiben; es ist nichts Außergewöhnliches, daß eben die anderen zwei gefundenen Fermente Bedingungen finden, in der lebenden Zelle zu arbeiten. Es befremdet uns eben nur die Pepsinase und ihre Rolle zu Lebzeiten des Organs. Somit wäre unsere Aufgabe zu entscheiden, ob Arbeit dieses Ferments *in vivo* durch irgendwelche Symptome zu erfassen sei. Würde Jod eben nur dieses Ferment in der einen oder anderen Richtung beeinflussen, dann wäre Aussicht, die Frage auf diese Art zu lösen. Nun haben wir finden können, daß in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen der Jodeffekt ausbleibt oder auch die Autolyse gehemmt oder gefördert wird. Wir können es natürlich niemals vorausahnen, welche „Versuchsbedingungen“ wir bei der Einverleibung von Jod dem lebenden Organismus auf beliebigem Wege, gerade schaffen. Ob wir im Versuch am lebenden Tiere eine Förderung oder Hemmung der Proteolyse oder auch überhaupt kein Resultat erhalten, alles dieses kann auf Beeinflussung eines jeden bereits im Leberbrei (andere Organe würden sicher dasselbe Resultat geben) festgestellten Ferments beruhen. Es ist somit nicht möglich, eine eventuell beobachtete Jodwirkung als Symptom der spezifischen Beeinflussung einer Pepsinase zu betrachten. Der Frage über die Aktivität der Pepsinase in der lebenden Zelle muß auf anderen Wegen nachgegangen werden. In einer der nächsten Mitteilungen werden wir Gelegenheit finden, darauf zurückzukommen.

#### Zusammenfassung.

1. Es wird die Einwirkung von Jod auf die Leberautolyse in der optimalen Wirkungssphäre der einzelnen proteolytischen Leberfermente studiert.
2. Die Jodwirkung ist in hohem Maße von der Art der Jodierung abhängig.
3. Bei  $p_H = 3,8; 5,0; 7,1$  und  $7,6$  erhält man bei Jodzusatz und in Abhängigkeit von der Joddosis das gewöhnliche Bild der Autolyse in wässriger Lösung, d. h. Nulleffekt, Förderung oder Hemmung, wenn man verschiedene Kubikzentimeterzahl in die Eiweißaufschwemmung

einträgt. Läßt man jedoch die Leberemulsion in gleiche Volumina von Jodlösung *verschiedener* Konzentration fließen, so erhält man bei  $p_H = 7,1$  und  $7,6$  bei kleinsten und größten Jodgaben (0,05 ccm n/80 bis 3,0 ccm n/80) überhaupt keine Verschiebung der Autolyse gegenüber der Kontrolle, bei  $p_H = 3,8$  *nur* Hemmung.

4. Diese Tatsachen und der polyfermentative Charakter des sogenannten „autolytischen Ferments“ machen es unmöglich, aus der eventuellen Beeinflussung des N-Umsatzes (Proteolyse) durch Jod auch *in vivo* Schlüsse über die Anteilnahme der einzelnen Fermente des autolysierenden Organs, an den proteolytischen Vorgängen der lebenden Zelle zu ziehen.

---

## Über das Wesen der Autolyse.

V. Mitteilung:

Die Beeinflussung der Proteolyse durch Jod *in vivo*.

Von

O. Steppuhn und A. Timofejewa.

(Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Pharmakologie des staatlichen chemo-pharmazeutischen Forschungsinstituts zu Moskau.)

(Eingegangen am 1. Mai 1926.)

Wir haben in der vorstehenden Mitteilung berichtet, daß Jodzusatz zum Leberbrei unter gewissen Bedingungen alle proteolytischen Fermente der Leberzellen zu aktivieren imstande ist, daß aber andere Versuchsbedingungen, ein Wechsel der Reihenfolge — statt Jodzusatz zur Leberemulsion Emulsionszusatz zur Jodlösung — das Resultat wenden kann: statt Förderung der Autolyse tritt für die Pepsinase Hemmung ein, die bei Verminderung der Jodgabe bis zum Nullwert abklingt, ohne eine Förderungsphase zu zeigen. Die anderen proteolytischen Fermente bleiben in diesem Falle unbeeinflusst. Sind somit schon *in vitro* die Verhältnisse kaum zu übersehen, so sind sie desto verwickelter im lebenden Organismus oder auch überlebenden Organ. Dieses macht es auch verständlich, daß die ziemlich reiche Literatur über die N-Stoffwechselwirkung des Jods eine Unmenge von Widersprüchen birgt. Nicht nur Dosis, Injektionsart, Konzentration der Lösung, Tierart usw. werden für den Ausfall des Versuchs entscheidend sein, sondern auch das, was auch bei der Autolyse sicher eine Rolle spielt, der jeweilige Zustand des Organs, der physikalisch-chemische Zustand des Zellinnern, dessen chemische Zusammensetzung usw.

Im Verlauf unserer Autolyseversuche begannen wir auch mit dem Studium der Jodwirkung auf den Eiweißabbau im lebenden Organismus und überlebendem Organ. Auch autolysierten wir ganze Tiere (Mäuse, Ratten) nach vorheriger Jodbehandlung. Es war in keiner Weise unsere Absicht, aus diesen Versuchen eventuell Standpunkte für die allgemeine Bewertung der Jodwirkung am Mensch oder Tier zu gewinnen. Es interessierte uns vor allen Dingen, im direkten Tierversuch eine die



Proteolyse fördernde Jodwirkung zu fassen. Der Streit darüber, ob die Jodwirkung auf den Eiweißstoffwechsel nur durch Beeinflussung der Schilddrüse erklärt werden müsse, oder auch andere Ursachen besitze, ist noch lange nicht zu Ende, und da schien es uns von Interesse, die direkte Beeinflussung der proteolytischen Fermente möglicherweise als Erklärung heranzuziehen. Wir waren uns vollkommen bewußt, daß wir auf sich widersprechende Resultate stoßen *müssen* — die in-vitro Versuche ließen es erwarten. Unser Ziel aber war unter Umständen eine direkte Proteolyseförderung durch Jod, und zwar in übersichtlichen Verhältnissen an der lebenden Zelle zu sehen, und womöglich unabhängig von der Schilddrüsenwirkung. Und da schienen uns Versuche am überlebenden Organ vor allem als die geeignetsten.

### I. Methodisches.

Die Leber eines Kaninchens wurde nach üblicher Art isoliert; nach Einbindung der Glaskanülen in die Vena porta und Vena cava inf., oberer Teil, wurde sie nach Unterbindung aller Gefäße in einem mit Wasser heizbaren und auf 38° eingestellten Thermostaten auf Glas gebettet und mit Ringerlösung oder später mit 0,9proz. Kochsalzlösung unter beständigem Druck durchspült. Die Jodjodkalilösung wurde direkt in die Nährflüssigkeit gegeben. Zuerst wurde die reine Salzlösung längere Zeit durchströmt, sodann eine mit verschiedenen Mengen Jod versetzte Nährlösung; in der Abflußflüssigkeit wurde Stickstoff (siehe die einzelnen Versuche) bestimmt; in einigen Fällen wurde die so jodierte Leber noch einer Autolyse unterworfen.

*Versuch 540.* Isolierte Kaninchenleber mit Ringer durchströmt. Nachdem die Spülflüssigkeit keine Spur von Blutkörperchen enthielt, Vorlage gewechselt, 800 ccm gesammelt, darin Stickstoff bestimmt (I). 1 Liter Ringer, enthaltend 100 mg Jod, durchlaufen lassen. Stickstoffbestimmung in der Waschflüssigkeit (II), dasselbe beim weiteren Durchlaufen von 1 Liter Ringer, enthaltend 200 mg Jod (III).

<i>Resultat:</i>	I	enthält in 50 ccm	. . . . .	0,308 mg N
	II	„ „ 50 „	. . . . .	1,008 „ N
	III	„ „ 50 „	. . . . .	1,232 „ N

*Versuch 541.* Wie der vorige, mit dem Unterschied, daß die Vordurchströmung der Leber so lange dauerte, bis die Abflußflüssigkeit keine Spur Trübung zeigte.

<i>Resultat:</i>	I	enthält in 50 ccm	. . . . .	Spuren N
	II	„ „ 50 „	. . . . .	0,616 mg N
	III	„ „ 50 „	. . . . .	0,700 „ N

Es ist interessant, zu erwähnen, daß in diesen Fällen und bei ähnlicher Wiederholung des Versuchs die Abflußflüssigkeit *frei von Jod* war. Alles Jod wurde von der Leber aufgenommen — wir nehmen an, hauptsächlich durch das Leberglykogen. Die angeführten Versuche lassen den Zweifel auftauchen, daß der Anstieg der Stickstoffwerte nicht auf dem Heraustritt von Eiweißabbauprodukten durch Aktivierung der intrazellulären Proteasen beruhe, sondern auf Eiweißanreicherung der Flüssigkeit durch Läsion der

Zellen. Allerdings sprach dagegen die Wasserklarheit der Spülflüssigkeiten im Versuch 541.

Um die Frage zu entscheiden, bestimmten wir in ähnlich gearteten Versuchen Gesamtstickstoff und Reststickstoff der Spülflüssigkeit. Diese Versuche zeigen klar, daß der N-Anstieg auf Kosten des Reststickstoffs geht, da der Protein-N ziemlich konstant bleibt.

Im einzelnen gestalteten sich die Versuche folgendermaßen.

**Versuch 549.** Die vorpräparierte Leber wurde mit 0,9proz. ClNa-Lösung durchströmt (nicht Ringer, um die Reaktion zwischen Bicarbonat und Jod auszuschließen) (0), sodann 1,2 Liter einer Kochsalzlösung mit Jodgehalt 40 mg-Prom. (I), danach wurde einer der Leberlappen unterbunden und der Rest mit 3,5 Liter derselben Lösung behandelt (II): schließlich nach Unterbinden eines weiteren Lappens mit 1,5 Liter einer Jodlösung 120 mg-Prom. (III). Es ist unmöglich und hat deswegen keinen Wert, anzugeben, wieviel Jod tatsächlich auf jeden Lappen kam, denn ein Teil des Jods wurde von der Leber gebunden, ein Teil mag durch die Undichtigkeiten und Ödem des Organs verloren gegangen sein. Das Gewicht der Lappen zu bestimmen, hat auch wenig Sinn, da eben mit der Durchströmung der Wassergehalt der Zellen ansteigt.

**Versuch 550.** Wie Versuch 549, mit dem Unterschiede, daß die absolute Jodmenge viel geringer war (etwa ein Drittel des vorigen Versuchs).

Die abgeschnittenen Lappen wurden der Autolyse unterworfen. Wir führen die entsprechenden Protokolle nicht an, weil sie nichts Neues ergeben. Wie bei  $p_H = 3,8$ , so auch bei  $p_H = 7,1$  fanden wir manchmal eine Förderung, manchmal auch Hemmung der Autolyse durch das Jod der Spülflüssigkeit, welches in den einzelnen Lappen sitzen geblieben war.

Die Tabelle I illustriert die beschriebenen Versuche.

Tabelle I.

Berechnung auf 100 ccm Waschflüssigkeit in mg.

Stadium der Jod-anreicherung	Gesamt-N		Rest-N		Protein-N	
	Vers. 549	Vers. 550	Vers. 549	Vers. 550	Vers. 549	Vers. 550
0	0,056	0,40	Spuren	Spuren	0,056	0,40
I	1,68	0,45	1,37	0,05	0,31	0,40
II	1,76	0,52	1,30	0,08	0,46	0,44
III	3,98	0,62	3,90	0,21	0,08	0,41
IV	—	0,60	—	0,20	—	0,40

Betrachten wir Tabelle I, so sehen wir, daß in beiden Versuchsreihen der Rest-N ansteigt. Allerdings ist auch ein Anstieg des Protein-N im Versuch 549 gleich bei der ersten Joddurchströmung zu verzeichnen, der aber weiterhin auf demselben Niveau bleibt (Unterschied 0,1 mg), um weiterhin sogar abzufallen (auf 0,08 mg). Dieses läßt daran denken, daß der anfängliche Anstieg sich auch nicht auf ein „Protein“ bezieht, denn wenn tatsächlich unter Einfluß von Jod die Zelle lädiert wird und Eiweiß austritt, dann ist nicht gut verständlich, daß bei noch weiterem Jodzusatz diese Läsion nicht weiterschreitet. „Rest-N“ ist eben ein Relativbegriff und hängt von der Enteiweißung ab. Jedes Enteiweißungsmittel teilt das komplizierte Gemisch aller Durchgangspunkte von der Aminosäure bis zum

Protein an einer besonderen Stelle. Damit wird „Protein-N“ (Gesamt-N — Rest-N) auch zum Relativbegriff. Der letzte Anstieg des Rest-N auf 3,9 mg ist sehr bedeutend und bemerkenswert.

Der Versuch 550 läßt alle Zweifel schwinden. Von Anfang bis zu Ende der Eiweißbestimmungen bleibt der Protein-N konstant. Der Rest-N steigt ganz regelmäßig an.

Somit kann man mit Sicherheit behaupten, daß es unter Umständen gelingt, an einem überlebenden Organ eine intrazelluläre Beeinflussung der proteolytischen Fermente durch Jod zu demonstrieren. Damit ist alle Ursache vorhanden, den so oft beschriebenen Anstieg des N-Umsatzes nach Joddarreichung *auch* auf eine direkte Beeinflussung des proteolytischen Zellprozesses zurückzuführen.

## II.

In Entwicklung unserer Versuche über die Beeinflussung der Autolyse durch Jod *in vitro* und, wie eben dargelegt, am isolierten Organ, versuchten wir auch die Jodierung *in vivo* und studierten dann die Autolyse an Organen der so vorbehandelten Tiere. Da der Vergleich von vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tieren nur dann sichere Resultate ergeben kann, wenn sehr große Versuchareihen angestellt werden (individuelle Schwankungen sind sehr bedeutend), so zogen wir eine andere Arbeitsweise vor.

*Versuch 552.* Kaninchen. Gewicht 1400 g. Vollkommene Unterbindung eines Leberlappens. In die Vena jugularis 50 mg Jod in JK eingeführt. Nach 30 Minuten Entblutung. Aus dem jodierten wie unjodierten Leberanteil wurden Aufschwemmungen bereitet (s. oben) und der Autolyse dreimal 24 Stunden bei 37° überlassen.

Tabelle II.

Berechnung auf 5 ccm der 10proz. Aufschwemmung. Dauer der Autolyse 72 Stunden.

Organ	Anfänglicher Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	Relativer Zerfall
Leber nicht jodiert . . . . .	0,84	1,50	100
Leber jodiert . . . . .	0,90	2,25	205

Schon *a priori* war es wenig wahrscheinlich, daß diese Verstärkung der Autolyse nicht primär ist, sondern auf der bekannten und vielfach angenommenen Umwegwirkung der Schilddrüse beruht. Die Zeit zwischen Jodeinspritzung und Tötung des Tieres überstieg nicht 30 Minuten. Trotzdem hielten wir es für nötig, darüber Gewißheit durch einen speziellen Versuch uns zu verschaffen.

*Versuch 560.* Kaninchen, 1200 g. Extirpation der Schilddrüse. Nach 6 Stunden Operation. Unterbindung eines Leberlappens und einer Niere. Intravenös 25 mg Jod (2 ccm n/10). Nach 30 Minuten Tötung. Bereitung der 10proz. Aufschwemmungen aus den jodierten und nicht jodierten Organen.

Tabelle III.

Berechnung auf 10 ccm durch 10proz. Aufschwemmung. Dauer der Autolyse 72 Stunden.

Organ	Anfänglicher Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	Gesamt-N mg	$\frac{R_2 - R_1}{G - R_1} \cdot 100^*)$
Niere . . . . .	2,50	4,6	24	9,7
Niere jodiert . . . . .	1,80	5,2	22	16,8
Leber . . . . .	1,96	4,6	19	15,3
Leber jodiert . . . . .	2,10	5,2	18	19,3

\*) Siehe Mitteilung IV.

Die Tabelle zeigt, daß auch bei einem schilddrüsenlosen Tier die Erhöhung der Autolyse durch Jod hervorgerufen wird, daß somit eine direkte Beeinflussung der proteolytischen Fermente bei der Steigerung des N-Stoffwechsels sehr wahrscheinlich ist.

Versuche über die Beeinflussung der Leberautolyse durch Jodinjektionen hat seinerzeit *Kepinoff*<sup>1)</sup> angestellt und konnte auch zeigen, daß intravenöse Jodzufuhr die Leberautolyse des Tieres steigert, allerdings erst nach sechs und mehr Stunden nach der Injektion. Auch gelang es uns, nach der Jodinjektion eine bald danach auftretende Steigerung der Rest-N-Werte im Blute zu zeigen. Allerdings gelingt dieser Versuch nicht immer, was aus den Darlegungen der vorhergehenden Mitteilung ohne weiteres verständlich ist. Wir haben neben dem Rest-N auch immer den Wassergehalt des Blutes bestimmt und dann den Rest-N auf den Trockenrückstand bezogen. Dieses ist unbedingt notwendig, da sonst Irrtümer auftreten können. Es ist nämlich wohl Regel, daß Jodinjektionen eine Hydrämie nach sich ziehen, was klinisch nach Darreichung von Jodpräparaten öfters beobachtet wurde und sich in unseren Versuchen auch bestätigte. Wassergehalt des Blutes und Rest-N-Werte (Wolframatenteiweißung) wurden nach der üblichen Art bestimmt.

*Versuch 533.* Kaninchen. Wassergehalt des Blutes = 81,5 Proz. Blutrest-N-Wert in 1 ccm = 0,54 mg. Blutrest-N-Wert in Trockensubstanz = 0,29 Proz.

50 mg J intravenös. Wassergehalt = 87,1 Proz. Blutrest-N-Wert in 1 ccm = 0,546 mg. Blutrest-N-Wert in Trockensubstanz = 0,42 Proz. nach weiteren 35 Minuten = 0,43 Proz. (bei 88,6 Proz. Wassergehalt).

Von fünf derartigen Versuchen fielen drei wie der eben beschriebene aus, dagegen erhielten wir in einem Falle einen Sturz wie der absoluten Rest-N-Werte, so auch des Wassergehaltes. Es wäre interessant, speziell zu untersuchen, ob eine Hemmung der vitalen Proteolyse durch Jod mit einer Eindickung des Blutes im Zusammenhange steht. Jedenfalls ist es klar, daß, genau wie bei der in-vitro-Autolyse, Jod wie eine Hemmung, so auch eine Förderung der Autolyse bedingen kann. Der Versuch sei kurz erwähnt.

*Versuch 537.* Wassergehalt:

vor Injektion	80,6 Proz.	Rest-N pro 1 ccm	0,56 mg
20 Minuten nach Injektion	74,1	„ „ „ 1 „	0,21 „
40 „ „ „	70,4	„ „ „ 1 „	0,40 „

<sup>1)</sup> l. c., IV. Mitteilung.

Nachdem wir nun festgestellt hatten, daß im akuten Versuch eine Steigerung der Proteolyse, in manchen Fällen wohl auch eine Hemmung zu beobachten ist, gingen wir zu systematischer Jodzufuhr in kleineren Gaben über. Es schien uns hier von Vorteil, nicht die Autolyse eines einzelnen Organs zu studieren, sondern des Körpers in toto, mit Ausschaltung nur des Magendarmkanals und der Haut. Mäuse waren da das geeignetste Material. Es sei gleich erwähnt, daß wir auch die Wirkung von systematischer JK-Zufuhr studierten, was in der Tabelle V zusammengefaßt ist. Die täglichen Jod- und JK-Gaben sind aus den Tabellen zu ersehen. Die Jodzufuhr dauerte 9 Tage; das Gewicht der Tiere war um 15 g herum. Die N-Werte in der Tabelle sind auf 2 g Mausgewicht berechnet. Die Tötung der Tiere geschah durch Nackenschlag, wonach die Exstirpation des Magendarmkanals, Enthäutung und Verarbeitung zur 10proz. Aufschwemmung geschah. Die Kontrollversuche sind durch 0-Dosis verzeichnet.

Tabelle IV.

Dauer der Autolyse 72 Stunden.

Nr.	Tägliche Jodzufuhr mg	Gesamt-N mg	Anfänglicher Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	$\frac{R_2 - R_1}{G - R_1} \cdot 100$
1	0	53	9,5	42	74,7
2	0	46	7,5	35	74,3
3	0,023	42	8,0	36	82,3
4	0,045	42	7,0	32	71,4
5	0,090	60	8,0	35	51,9

Tabelle V.

Nr.	Tägliche JK-Dosis ccm n/400	Gesamt-N mg	Anfänglicher Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	$\frac{R_2 - R_1}{G - R_1} \cdot 100$
1	0	42	6,0	31	69,4
2	0	44	7,0	33	70,2
3	0,25	40	6,0	34	82,3
4	0,50	48	8,4	36	69,7 (?)
5	0,75	40	8,1	34	81,25

Wie die angeführten Tabellen zeigen, gestaltete sich das Bild im allgemeinen recht klar. Auch bei langdauernder Jodzufuhr ist Förderung oder Hemmung in Abhängigkeit von der Dosis zu beobachten. Da Mäuse immer gleichen Alters und von derselben Partie verwandt wurden, so stimmen die Kontrollen gut überein; die erste kleinste Joddosis peitscht die Autolyse hinauf, weitere größere Gaben hemmen den Prozeß ganz auffallend.

Bei Jodkalizufuhr ist das Bild nicht anders. Leider fällt ein Versuch aus der Reihe, was ganz entschieden auf einen Versuchsfehler zu beziehen ist. Im übrigen ist auch hier eine Verstärkung der Spaltung zu konstatieren. Sicher beruht dieses aber *nicht* auf einer JK-Wirkung. Abgesehen davon, daß JK uns niemals im eigentlichen in-vitro-Versuch Förderung gab, eher eine kleine Hemmung, stellten wir einen speziellen akuten Versuch an. Es wurden einem Kaninchen 2 ccm 1,5proz. JK-Lösung intravenös gegeben.

Vor der Injektion wurde ein Leberlappen unterbunden, ein zweiter sofort nach der Injektion, nach 2 Stunden wurde das Tier getötet und die drei Leberteile einzeln der Autolyse überlassen — es trat *keine* Förderung der Autolyse ein, sondern eher eine ganz geringe Hemmung im zweiten unterbundenen Lappen (sofort nach Injektion), die dann später (nach 2 Stunden) zur Norm zurückkehrte. Somit ist die beobachtete Verstärkung der Autolyse nach langdauernder Jodkalibehandlung entweder auf Abspaltung von Jod und dessen direkte Beeinflussung der Proteolyse zu beziehen, oder auf indirekte Schilddrüsenwirkung.

Um diese Frage zu entscheiden, mußten normale und schilddrüsenlose Tiere verglichen werden, und zwar mit J und mit JK gespritzte und nicht vorbehandelte. Mäuse waren da nicht zu verwenden, da die Exstirpation der Schilddrüse bei Mäusen *uns* wenigstens nicht gelang. Dagegen waren weiße Ratten ein geeignetes Objekt.

Die Jod- und JK-Behandlung dauerte 11 Tage. Die erste Injektion der operierten Tiere geschah erst am nächsten Tage. Im übrigen waren die Versuchsbedingungen genau wie im Mäuseversuch. Die Resultate sind in Tabelle VI zusammengefaßt.

Tabelle VI.

Berechnung auf 2 ccm 10proz. Aufschwemmung. Dauer der Autolyse 72 Stunden.

Dosis	Gewicht g	Gesamt-N-Wert mg	Anfänglicher Rest-N mg	Rest-N nach Autolyse mg	Eiweißzerfall Proz.
Normale Ratten.					
0	90	2,28	0,41	1,01	32,0
0	190	1,8	0,4	0,85	28,1
0	180	2,0	0,4	0,80	25,0
1,0 ccm n/200 J	160	2,0	0,4	1,05	40,8
0,5 " "	160	1,8	0,4	1,3	64,2
0,25 " "	105	2,6	0,4	1,0	45,3
1 ccm JK 0,2:100	230	2,2	0,4	0,8	22,2
0,5 ccm . . .	230	2,0	0,4	0,8	25,0
0,25 " . . .	250	2,0	0,5	0,8	20,0
Schilddrüsenlose Ratten.					
0	—	1,98	0,43	0,67	15,5
0	150	1,92	0,43	0,66	15,4
0	—	—	—	—	—
1,0 ccm n/200 J	150	2,04	0,43	1,05	38,5
	200	2,0	0,5	0,8	20,0
0,5 " "	160	2,4	0,5	0,8	15,8
0,25 " "	100	2,0	0,4	0,6	11,95
1 ccm JK 0,2:100	110	3,0	0,5	0,9	16,0
0,5 ccm . . .	110	2,4	0,4	0,8	20,0
0,25 " . . .	270	2,0	0,4	0,7	18,7

Die Betrachtung der Tabelle VI führt uns zu interessanten Schlußfolgerungen. Einmal sieht man, wie die Schilddrüsenentfernung auf die Intensität der Autolyse selbst einwirkt. Normale Tiere geben einen Eiweißzerfall von etwa 28 Proz. durchschnittlich, operierte dagegen etwa die Hälfte. Damit ist mit Sicherheit bewiesen, daß die Aktivität der proteolytischen

Fermente nach Schilddrüsenexstirpation fällt; ob nun die Schilddrüse einen bestimmten „Stoff“ abgibt, der die Fermente aktiviert oder diese Aktivierung auf einem mehr oder weniger langen Umweg erfolgt, ist schwer zu sagen; es scheint die zweite Annahme mehr Wahrscheinlichkeit zu haben. Spritzt man nun normalen Ratten Jod im Verlauf von einer Reihe von Tagen (11 in unserem Falle) ein, so ist das gewöhnliche Bild zu beobachten. Bei einer bestimmten mittleren Dosis (0,5 ccm) ist der Anstieg am bedeutendsten. Größere und kleinere Gaben bringen geringere Anstiege gegenüber der Norm, die Dosis 0,25 ccm, weil sie noch zu klein ist, die Dosis 1 ccm, weil sie bereits hemmt. Jodkalium ist in diesem Falle machtlos, es scheint, daß hier zwischen Maus und Ratte prinzipiell Unterschiede bestehen, denn die Einführung von JK gab bei Mäusen auch eine Anspornung der Autolyse (s. Tabelle V). Dieses ist sehr bedauerlich, denn somit wird die Entscheidung vereitelt, ob die an Mäusen beobachtete JK-Wirkung auf dem Umwege der Schilddrüse zustande kommt. Betrachten wir nun die Wirkung von Jod bei operierten Tieren, so ist auch dort eine Erhöhung der Autolyse durch Jod zu sehen, aber sicher in geringerem Maße. Zwei Gaben, die bei normalen Tieren eine ausgesprochene Verstärkung der Proteolyse gaben, zeigen hier normale oder gar subnormale Werte. Und daß die größte Dosis bei normalen Tieren bereits eine Hemmung gab, zeigt hier eine Aktivierung des Eiweißzerfalls. Wir können also mit Recht annehmen, daß bei der Jodierung *in vivo*, also bei chronischer Jodzufuhr die Schilddrüse sicher nicht die einzige Ursache der verstärkten postmortalen Proteolyse der Organe ist. Es wirkt Jodzufuhr auf die Aktivität der Schilddrüse, die Schilddrüse hat entschiedene Bedeutung für die Aktivität der Zellfermente beim postmortalen Prozeß. Die Jodwirkung ist aber nicht nur auf diesem Wege zu erklären, es gibt auch eine unmittelbare Beeinflussung *in vivo* der proteolytischen Fermente. Merkwürdigerweise gibt JK bei schilddrüsenlosen Tieren nicht die übliche geringe Hemmung, sondern eher eine kleine Förderung. Das Versuchsmaterial ist aber zu gering, um eventuelle Schlüsse über eine bei schilddrüsenlosen Ratten *doch* noch eintretende reine Jodwirkung (als Jodabspaltung) zu sprechen. Diesbezügliche Versuche wollen wir fortsetzen.

Wenn wir noch einmal zu der Frage zurückkehren wollen, ob das „autolytische Ferment“ dasselbe ist, welches die proteolytischen Prozesse in der lebenden Zelle leitet, so müssen wir es entschieden bejahen. Alles was wir von der Jodwirkung *in vitro* kennengelernt haben, finden wir bei der *in vivo*-Jodierung und der nachfolgenden Organautolyse wieder, aber auch noch mehr: Bei Jodeinführung *kann* sich der Rest-N des Blutes vergrößern und am überlebenden Organ der Rest-N der abfließenden Nährflüssigkeit. Ganz allgemein kann man also behaupten, daß bei der postmortalen Organautolyse wohl dieselben proteolytischen Fermente und in derselben Richtung funktionieren, wie im intrazellulären Prozeß zu Lebzeiten der Zelle. *Eine* Frage bleibt aber auch hier offen, nämlich ob *alle* Fermente, die an der postmortalen Proteolyse teilnehmen, auch in der lebenden Zelle ihre Arbeitsanteile haben. Wie bereits am Schluß der vorhergehenden Mitteilung gesagt wurde, ist die sehr interessante Frage nach den Einzelrollen der proteolytischen Teilfermente der Zelle nicht ent-

schieden. Speziell ist es wichtig, zu erfahren, ob die bei der Autolyse dominierende Pepsinase mit dem Optimum  $p_H = 3,2$  auch in der lebenden Zelle eine Funktion erfüllt.

Dieser und den damit zusammenhängenden Fragen nachzugehen, ist Absicht der nächsten Mitteilung.

#### Zusammenfassung.

1. Jodzusatz zur Nährflüssigkeit eines durchspülten überlebenden Organs kann zur Aktivierung der intrazellulären Proteolyse des Organs führen.

2. Im akuten Versuch kann Jod zur Anreicherung des Blutes an Rest-N führen.

3. Jodinjektion führt zur Verstärkung der Autolyse der Organe. JK tut es nicht. Die akute Wirkung ist von der Schilddrüse unabhängig.

4. Die Autolyse ganzer Mäuse, die längere Zeit mit J und mit JK behandelt wurden, gibt je nach Dosis Verstärkung oder Hemmung.

5. Die Annahme ist berechtigt, daß die Erhöhung des N-Stoffwechsels nach Joddarreicherung auf einer unmittelbaren Beeinflussung der proteolytischen Zellfermente beruhen kann.

6. Die Autolyse normaler Ratten in toto ist stärker als die Autolyse schilddrüsenloser Ratten.

7. Längere Jodbehandlung verstärkt die Autolyse wie normaler, so auch schilddrüsenloser Ratten, im zweiten Falle geringer. Es ist also die Jodwirkung nicht bloß auf dem Umwege der Schilddrüse möglich.

8. JK ruft unter diesen Umständen keine Veränderung hervor.

Dem Oberassistenten der Abteilung, Herrn Dr. *Tschetschulin*, sei unser herzlichster Dank auch an dieser Stelle für die so geschickte Durchführung der Operationen ausgesprochen.



# Die Abhängigkeit der Oberflächenspannung des Blutes von der Wasserstoffionenkonzentration.

Von

L. Jendrassik und J. Geldrich.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 2. Mai 1926.)

Nach Angaben mehrerer Autoren wird die Kapillaraktivität des Serums erhöht, wenn durch Zusatz von Säure die Wasserstoffionenkonzentration ansteigt (1) (2). Während anderseitiger Untersuchungen fanden wir, daß solche Peptonlösungen, deren Kapillaraktivität der des Serums gleich ist, diese Erscheinung nicht zeigen; die Oberflächenspannung bleibt auch nach Zusatz von Säure unverändert. Dies ist aber nicht mit den Ergebnissen von *Tominaga* (3) in Einklang zu bringen, nach welchem die Kapillaraktivität des Blutes bzw. des Serums beim Kaninchen durch Anwesenheit von Peptonen und Albumosen bedingt wird. In diesem Falle wäre nämlich zu erwarten, daß sich die Oberflächenspannung des Serums und der Peptonlösungen gegen Änderung der  $p_H$  gleichmäßig verhalten. In der Hoffnung, auf diesem Wege zur Erklärung der Kapillaraktivität des Serums nähere Anhaltspunkte finden zu können, hielten wir es für angebracht, diese Zusammenhänge zu untersuchen. Wir mußten unsere Untersuchungen aus äußeren Gründen unterbrechen, unsere Daten wären noch von mehreren Seiten zu ergänzen. In Kürze haben wir über diese Arbeit bereits berichtet (4).

## Methodik.

Die Oberflächenspannung haben wir mit der Ringmethode nach dem Verfahren von *Brinkman* gemessen. Einzelheiten der Ausführung sind in einem früheren Aufsatz zu finden (5). Die Wasserstoffionenkonzentration wurde teils auf elektrometrischem Wege ermittelt, teils mit den *Michaelis*-schen einfarbigen Indikatoren bestimmt. Die potentiometrische  $p_H$ -Bestimmung geschah in der üblichen *Michaelis*-schen Anordnung. Als Vergleichselektrode benutzten wir eine gesättigte KCl-Kalomelektrode. Zur Füllung der U-Elektrode diente reines Wasserstoffgas, als Nullinstrument ein Galvanometer nach *Deprez-d'Arsonval*. Ganz genaue Werte waren bei diesen Untersuchungen übrigens nicht nötig, da sich die  $p_H$  mindestens um mehrere Zehntel ändern muß, um eine bemerkbare Differenz in der Oberflächenspannung zustande zu bringen.

Der größte Teil der Untersuchungen wurde mit Pferdeserum ausgeführt, da uns dies am besten zur Verfügung stand. Das durch besondere

Maßnahmen vor  $\text{CO}_2$ -Verlust nicht geschützte, von der Schlachtbrücke bezogene Serum oder mit 0,5proz. Na-Citrat oder 0,2- bis 0,3proz. Na-Oxalat erhaltene Plasma wurde eine halbe Stunde lang zentrifugiert.

Die Ringmethode mißt die statische Oberflächenspannung. Es ist bekannt, daß die so gemessene Oberflächenspannung bei den Lösungen schwer diffundierender hydrophiler Kolloide in der ersten halben Stunde bzw. Stunden allmählich sinkt, bis sie endlich ihren konstanten Endwert erreicht. [Bei verdünnten Lösungen dauert dieser Prozeß gewöhnlich etwas länger (6).] Daher haben wir unsere Messungen in einigen Fällen der Untersuchungen so vorgenommen, daß wir die mit Säure bzw. Lauge versetzte Lösung mit der entsprechenden Kontrolllösung zur gleichen Zeit auf das Uhrglas gebracht und die nach längeren Zeitintervallen gemessenen Werte verglichen haben. In solchen Fällen hielten wir die Lösung in einer feuchten Kammer: unter Petrischalen, die auf nasses Filtrierpapier gedeckt waren. Doch zeigten diese Messungen, daß die Wirkung der die Oberflächenspannung beeinflussenden Substanzen sofort eintritt. Darum haben wir in anderen Fällen schon nach einigen Minuten nach Zusatz der betreffenden Lösung die Oberflächenspannung gemessen. Ist eine Senkung nachweisbar, so ist dies immer beweisend. Kleine Erhöhungen werden aber manchmal nur durch ein Stören der Adsorptionsschicht vorgetäuscht. *Brinkman* empfiehlt, jede Messung dreimal nacheinander zu wiederholen und den Mittelwert der drei Messungen zu nehmen. Wir fanden jedoch, daß es richtiger ist, einmal zu messen, weil jedes Abreißen des Tropfens die oberflächliche Schicht stört und so auch die statische Oberflächenspannung mehr oder minder beeinflusst.

#### Ergebnisse.

Die wässrige oder mit Tyrodelösung bereitete Peptonlösung (*Witte*), deren Oberflächenspannung gleich oder nur ein ganz wenig niedriger ist, als die des Serums, ändert ihre Kapillaraktivität nach Zusatz von Salzsäure nur in geringem Maße. Entweder sinkt sie überhaupt nicht, oder nur sehr wenig. Am meisten wird eine geringe Erhöhung der Oberflächenspannung beobachtet. Nur bei konzentrierten Lösungen, deren Kapillaraktivität viel größer ist als die des Serums, zeigt sich ein Absinken der Oberflächenspannung beim Ansteigen der Wasserstoffionenkonzentration. Dasselbe gilt für Zusatz von Lauge. Entweder bleibt die Oberflächenspannung unverändert, oder ist sie etwas erhöht.

Säuren erniedrigen die Oberflächenspannung — mit der Ringmethode gemessen — beim Pferdeserum und Plasma nicht regelmäßig und erniedrigen sie nicht in jedem Falle. Manchmal ist diese Wirkung eine starke, manchmal bleibt sie ganz aus.

Zwischen reinem Serum und Plasma und zwischen einem mit Wasser oder 0,9proz. NaCl-Lösung, oder Tyrodelösung aufs zehnfache verdünntem Serum zeigte sich in dieser Beziehung kein wesentlicher Unterschied. (Die Oberflächenspannung des Plasmas war immer etwas höher als die des Serums.)

Diese Sera bzw. Plasmas, bei welchen die Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration die Oberflächenspannung in erheblichem Maße erniedrigte, zeigten auch in reinem Zustande ein erhebliches spontanes Absinken der Oberflächenspannung. Fast ist bei diesen das der Fall, daß die saure Reaktion die Oberflächenadsorption der kapillaraktiven Substanzen und das Erreichen des dem Gleichgewicht entsprechenden Endwertes nur beschleunigt. Auch bei normaler Reaktion sinkt die Oberflächenspannung so weit nach genügend langer Zeit.

Bei diesen Sera, bei welchen die Oberflächenspannung ihren Endwert bald erreicht und nicht von selbst allmählich sinkt, ist auch die Wirkung der Säure nur schwach und vorübergehend, wir finden sogar manchmal ein geringes Ansteigen. Einige Minuten lang ist die Oberflächenspannung eine niedrigere und steigt dann zu dem normalen Wert wieder an.

Bald stellte sich heraus, was den Unterschied zwischen den einzelnen Sera bzw. Plasmas verursachen kann. Im allgemeinen waren jene Sera gegen Säuren empfindlich, bei welchen eine spontane Hämolyse wahrzunehmen war (bei diesen sank auch die Oberflächenspannung von selbst). Dieser Umstand deutete darauf, daß bei der Hämolyse solche Substanzen frei werden, deren Kapillaraktivität beim Ansteigen der Wasserstoffionenkonzentration gesteigert wird. Beweisend dafür, daß sich das hämolysierte Blut gegenüber Säuren so verhält, ist folgendes: solches Serum bzw. Plasma, dessen Oberflächenspannung gegen Säure nicht empfindlich ist, wird empfindlich, wenn man hämolysiertes Blut dazu mengt. Eine weitere Frage dürfte es sein, welche Substanzen diese Wirkung hervorrufen.

In wässriger Lösung des Hämoglobins verursacht die Säure kein Absinken der Oberflächenspannung. Gibt man aber zum Serum bzw. zur Peptonlösung ein wenig von einer Lösung des kristallisierten Hämoglobins, welche selbst die Oberflächenspannung nicht beeinflusst, so bewirkt dies auch eine Empfindlichkeit gegen Säure. Also wenigstens teilweise ist das Hämoglobin diejenige Substanz, welche das hämolysierte Blut säureempfindlich macht. Vermengt man aber das Serum mit hypotonisch hämolysiertem Blut, welches ungefähr ebensoviel Hämoglobin enthält, so wird die Säurewirkung in stärkerem Grade befördert. Dieser Umstand spricht dafür, daß neben dem Hämoglobin auch andere Substanzen eine Rolle spielen können.

Mit der hier geäußerten Meinung steht auch die bereits erwähnte Tatsache in Übereinstimmung, daß die Oberflächenspannung der Peptonlösungen von selbst nur ganz wenig absinkt. Auch bei Kaninchen-serum, Schweineserum sinkt die Oberflächenspannung nach Zusatz von HCl bei wahrnehmbarer spontaner Hämolyse.

Zusatz von Lauge (NaOH) bewirkt gewöhnlich eine geringe Erhöhung der Oberflächenspannung sowohl bei Seren, wie auch bei Peptonlösungen.

*Buglia* fand beim Ansäuern des Serums mit HCl oder  $H_2SO_4$  ein weniger einfaches Verhalten der Oberflächenspannung des Rinderserums. Kleine Gaben wirkten erniedrigend, bei größeren war der Wert auf der normalen Höhe. Noch größere Säuremengen ergaben ein viel stärkeres Absinken der Spannung bis zu einem Minimum, und von da an stieg diese mit der Säurezufuhr wieder allmählich fast zur normalen Höhe zurück. Da aber das Rinderserum fast immer hämolytisch verunreinigt zu sein pflegt, glauben wir annehmen zu dürfen, daß die Senkung auch hier durch die aus den roten Blutkörperchen ausgetretenen Substanzen bedingt war. Wir fanden aber auch den Zusammenhang bei hämolytischen Seren einfacher (meistens eine stetige Abnahme bei steigender HCl-Konzentration), etwa so, wie dies *Buglia* für Essigsäure und Oxalsäure beschrieben hatte. *Buglia* filtrierte außerdem seine Lösungen. Wie einer von uns zeigte, wird die statische Oberflächenspannung des Serums und vieler Lösungen durch ein Berühren mit Filtrierpapier beträchtlich geändert (5). Dies könnte daher seine Ergebnisse in beträchtlichem Maße entstellt haben.

Ein Schafserum, welches kein Zeichen einer Hämolyse trug, zeigte eine große Erniedrigung der Oberflächenspannung nach Zugabe von HCl. Würde sich dies als Regel erweisen, so müßten beim Schaf nicht Albumosenpeptone, sondern andere Substanzen die Kapillaraktivität des Blutes bedingen.

Unsere Untersuchungen zeigten also, daß die Oberflächenspannung der Sera (Plasma) und Peptonlösungen von der Wasserstoffionenkonzentration in ähnlichem Sinne abhängt. Dies steht also im Einklang mit der Meinung, daß die Albumosen und Peptone die Kapillaraktivität des Blutes beherrschen. Im allgemeinen könnte ein Erforschen des Zusammenhangs zwischen Oberflächenspannung und  $p_H$  beim Nachweis und Identifizierung kapillaraktiver Substanzen gewisse Dienste leisten.

#### Zusammenfassung.

In reinem Pferdeserum, falls keine spontane Hämolyse eingetreten ist, ist die Oberflächenspannung ebenso unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration wie in gleich stark kapillaraktiven Peptonlösungen. Die bei der Hämolyse frei werdenden Substanzen (teilweise das Hämoglobin) bewirken ein Absinken der Oberflächenspannung beim Ansteigen der Wasserstoffionenkonzentration (und das Adsorptionsgleichgewicht stellt sich früher ein). Das Herabsetzen der Wasserstoffionenkonzentration erhöht die Oberflächenspannung in geringem Maße.

Tabelle I.  
0,1 proz. Pepton in Wasser (2—2 ccm).

0,1 proz. Pepton $p_H = 7,3$		10 ccm Pepton + 0,05 ccm n/10 HCl $p_H = 5,9$		10 ccm Pepton + 0,1 ccm n/10 HCl		10 ccm Pepton + 0,15 ccm n/10 HCl $p_H = 3,6$		10 ccm Pepton + 0,2 ccm n/10 HCl $p_H = 2,9$		10 ccm Pepton + 0,25 ccm n/10 HCl	
nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
4'	58,3	6,5'	58,6	17'	59,4	19'	59,4	23'	60,5	26'	61,0
37'	57,8	39'	57,5	42	59,1	44	57,8	46	59,1	48	59,4
3h 53'	58,3	3h 56'	58,3	4h 04'	56,4	4h 08'	56,2	4h 11'	57,8	4h 14'	57,0

Tabelle II.  
0,1 proz. Pepton in Wasser (1,5—1,5 ccm).

0,1 proz. Pepton		10 ccm Pepton + 0,05 ccm n/10 NaOH		10 ccm Pepton + 0,10 ccm n/10 NaOH		10 ccm Pepton + 0,15 ccm n/10 NaOH		10 ccm Pepton + 0,20 ccm n/10 NaOH		10 ccm Pepton + 0,25 ccm n/10 NaOH	
nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
4'	58,3	6'	58,3	8'	59,4	10'	59,1	12'	59,7	14'	60,2

Tabelle III.  
Pepton in Tyrodelösung. (2—2 ccm 3 Minuten nach Vermengen gemessen.)

Lösung	2 ccm		2 ccm + 0,2 ccm n/10 HCl		2 ccm + 0,4 ccm n/10 HCl		2 ccm + 0,6 ccm n/10 HCl	
	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
1 proz. Peptonlösung . . .	5'	53,7	8'	51,6	—	—	—	—
1 prom. . . . .	25	53,0	20	49,7	—	—	—	—
2 ccm 1 prom. Pepton + 0,2 ccm 2 prom. Hämoglobin krist. (Merck)-Lösung . . . . .	7	58,3	10	60,8	13'	59,1	17'	59,1
2 ccm 1 prom. Pepton + 0,2 ccm 1:100 hämolyisiertes Hammelblut . . . . .	5	59,7	—	—	8	58,5	—	—
0,1 prom. Peptonlösung . . . . .	5	60,5	—	—	8	57,2	—	—
2 ccm 0,1 prom. Pepton + 0,1 ccm 1:100 hämolyisiertes Menschenblut . . . . .	4	64,8	7	66,7	10	65,6	13	66,2
	4	62,1	7	55,4	—	—	—	—

Tabelle IV.  
Pferde-Serum mit Wasser zu 1:10 verdünnt; geringe spontane Hämolyse.  
 $p_H$  elektrometrisch bestimmt.

Serum $p_H = 7,86$		10 ccm Serum + 0,1 ccm n/10 HCl $p_H = 7,10$		10 ccm Serum + 0,2 ccm n/10 HCl $p_H = 6,86$		10 ccm Serum + 0,3 ccm n/10 HCl $p_H = 6,34$		10 ccm Serum + 0,4 ccm n/10 HCl $p_H = 5,63$		10 ccm Serum + 0,5 ccm n/10 HCl $p_H = 4,93$	
nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
7'	63,2	11'	62,6	14'	59,4	17'	60,5	19'	55,4	22'	54,0
27	63,5	30	62,6	32	61,0	34	59,4	36	55,1	38	53,7
117	61,6	119	60,5	121	59,9	124	57,7	126	52,4	129	52,9

Tabelle V.

Pferde-Serum mit 0,9 proz. Na Cl-Lösung zu 1:10 verdünnt; nicht hämolytisch.

Serum $p_H = 7,60^*)$		10 ccm Serum + 0,1 ccm n/10 HCl $p_H = 7,10$		10 ccm Serum + 0,2 ccm n/10 HCl $p_H = 6,7$		10 ccm Serum + 0,3 ccm n/10 HCl $p_H = 6,1$		10 ccm Serum + 0,4 ccm n/10 HCl $p_H = 5,6$		10 ccm Serum + 0,5 ccm n/10 HCl $p_H = 4,5$	
nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
10'	57,2	12'	59,7	14'	60,8	17'	58,3	23'	57,8	20'	58,6

\*) Elektrometrisch und mit Indikatoren gemessen: beide Werte übereinstimmend. Die übrigen Werte von  $p_H$  nur mit den Indikatoren bestimmt.

Tabelle VI.

	Nach	dyn/cm	Nach	dyn/cm	Nach	dyn/cm
2 ccm Pferdeplasma (0,3 proz. Na-Oxalat; ein wenig hämol.)	5'	63,2	—	—	—	—
	55	54,0	—	—	—	—
Dasselbe . . . . .	7	64,8	10' Zus. v. 0,2 ccm n/10 HCl	56,2	20' Zus. v. 0,2 ccm n/10 HCl	55,4
			13'		57	52,7
1,5 ccm Pferdeserum (ein wenig hämol.)	3	61,3	54' Zus. v. 0,1 ccm n/10 HCl	49,8	—	—
	48	50,9	58'	48,3	—	—
			60	48,9	—	—
Dasselbe . . . . .	7	61,5	9' Zus. v. 0,2 ccm n/10 HCl	54,3	52' Zus. v. 0,1 ccm n/10 HCl	50,9
			11'	51,3	55'	

Tabelle VII.

2-2 ccm Pferdeserum von je zwei Lösungen nach	Mittelwerte $p_H = 7,77$ dyn/cm	2 ccm Serum + 0,1 ccm n/10 HCl		2 ccm Serum + 0,4 ccm n/10 HCl	
		nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
35'	60,6	40'	60,4	45'	59,3
85	58,5	95	59,9	115	59,7

Tabelle VIII.

Pferde-Serum, nicht hämolytisch.

Lösung	Allein		Zusatz von 0,15 ccm n/10 HCl		Zusatz von 0,3 ccm n/10 HCl	
	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm	nach	dyn/cm
2 ccm Pferdeserum . . . . .	5'	60,8	8'	61,8	—	—
2 ccm Pferdeserum + 0,15 ccm 1:100 verdünntes hämolysiertes Pferdeblut . . . . .	5	61,8	8	58,7	12'	56,7

Tabelle IX.

## Pferdeserum und Pferdeplasma.

	Nach	dyn/cm	Nach	dyn/cm	Nach	dyn/cm		
2 ccm Pferdeserum	3'	62,6	7' Zus. v. 0,2 ccm n/10 HCl 9'	59,4	10' Zus. v. 0,4 ccm n/10 HCl 12'	56,2		
	15	62,9					36	58,9
2 ccm (1/2 proz.) Na-Citratplasma	20	64,5	20' Zus. v. 0,6 ccm n/10 HCl 23'	61,8	—	—		
					28	63,7	—	—
					—	—	—	—

## Literatur.

1) *G. Buglia*, diese Zeitschr. **2**, 311, 1908. — 2) *W. Frei*, Zeitschr. infekt. Haustiere **6**, 363, 1909. — 3) *T. Tominaga* (neben *Brinkman*), diese Zeitschr. **186**, 138; **140**, 230; **141**, 248, 1923. — 4) *L. Jendrassik* und *J. Geldrich*, Magyar Orv. Arch. 1926, H. 1. — 5) *L. Jendrassik*, diese Zeitschr. **169**, 178, 1926. — 6) *P. L. du Nouy*, Ber. Physiol. **21**, 450, 25217.

# Zur Kenntnis der Gärungsspaltungen in Milchsäurebakterien und in Hefen.

Von

Ragnar Nilsson und Erik Sandberg.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm und der bakteriologischen Abteilung der Centralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen.)

(Eingegangen am 3. Mai 1926.)

Sämtliche Versuche mit Milchsäurebakterien, die hier mitgeteilt werden, sind mit *Thermobacterium helveticum* (= *B. casei*  $\epsilon$ ) gemacht. Die Bakterien wurden in geklärter Molke gezüchtet. Die Klärung der Molke geschah in folgender Weise.

Molke von der Käsebereitung wurde mit HCl bis  $p_H = 4,5$  versetzt und durch Einleitung von Wasserdampf auf etwa  $90^\circ$  erwärmt, wobei die Albumine ausgefällt wurden. Die Fällung wurde wegfiltriert und die Molke dann bis  $p_H = 6,0$  neutralisiert. Die Phosphatfällung, die hierbei auftrat, wurde nicht wegfiltriert. Die Molke wurde schließlich nochmals durch Einleitung von Wasserdampf bis  $90^\circ$  erhitzt und nach Erkalten mit 48stündiger Molkekultur von *Thermobacterium helveticum* geimpft. Die Kultur entwickelte sich dann im Thermostaten bei etwa  $40^\circ$ . Nach etwa 50 Stunden wurden die Bakterien ( $p_H = 4$ ) abzentrifugiert.

Die mikroskopische Probe zeigte *Thermobacterium helveticum* und einzelne Milchsäurekokken. Die Kulturen wurden auf Molkegelatine ausgesät. Nach 14 Tagen nur Kolonien von *Thermobacterium helveticum*.

Im Jahre 1924 hat *J. Arlington Anderson* im hiesigen biochemischen Laboratorium Versuche über die eventuelle Carboxylasewirkung der Milchsäurebakterien angestellt. Sein Resultat war negativ. Da uns diese Frage sehr wichtig scheint, haben wir neue Versuche gemacht und, wie gezeigt werden soll, mit demselben Resultate.

## Versuche mit Milchsäurebakterien.

Mit einer Suspension frischer Bakterien, die ein Trockengewicht von 0,0867 g pro 1 ccm hatte und also sehr stark war, wurden gleichzeitig folgende Versuche gemacht.

- I. Aktivitätsprobe.
- II. Carboxylaseprobe.
- III. Milchsäuregärung von Glucose und Prüfung von optischer Aktivität der gebildeten Milchsäure.



I. Die Aktivität der Bakterien wurde bei 30° in zwei Parallelproben von folgender Zusammensetzung gemessen:

0,2 g Glucose,  
5 ccm 0,3 mol. Phosphatpuffer,  $p_H = 5$ ,  
15 „ Bakteriensuspension.

Zu verschiedenen Zeiten wurde die Milchsäure in 2 ccm bestimmt. Die Milchsäurebestimmungen wurden nach der Methode, die von *van Slyke* und *Clausen*<sup>1)</sup> und kurz darauf unabhängig von *Hirsch-Kauffmann*<sup>2)</sup> beschrieben ist, gemacht.

In der folgenden Tabelle sind die aus den Analysen berechneten Milchsäuremengen in den zwei Parallelproben, in Milligramm ausgedrückt, eingeführt.

Stunden	Probe I	Probe II
0	145	110
16	165	138
18	225	203
74	333	348

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Bakterien stark aktiv sind. Die Zuckerabnahme nach *Willstätter-Schudel* zu verfolgen ist ebenfalls versucht worden, die Verwendung der Methode scheint aber hier nicht vorteilhaft zu sein. Auch die Zuckerbestimmung nach *Bertrand* liefert bei frischen Bakterien schlechte Ergebnisse.

II. Zu den Carboxylaseproben wurde eine 0,1 n Brenztraubensäurelösung benutzt, die mit Na OH bis  $p_H = 7$  neutralisiert war. Die Gärung wurde bei Zimmertemperatur ausgeführt. Es wurden zwei gleiche Proben gemacht von der Zusammensetzung:

0,5 g  $KH_2PO_4$ ,  
5 ccm Brenztraubensäurelösung,  
5 ccm Bakteriensuspension.

ccm  $CO_2$ .

Stunden	Temperatur °C	Probe I	Probe II
1/2	16,0	0	0
1	16,0	0	0
3	16,8	0	0
4	17,0	0	0
16	16,0	0	0

<sup>1)</sup> *van Slyke* und *Clausen*, Journ. Biol. Chem. 52, 263, 1922.

<sup>2)</sup> Die ausführliche Beschreibung der früher von *Emden* mitgeteilten Methode: *Hirsch-Kauffmann*, H. 140, 25, 1924.

Zum Vergleich führen wir einige Versuche an, die mit derselben Brenztraubensäurelösung und ausgewaschener Hefe gemacht sind.

2 g ausgewaschene Trockenhefe H + 5 ccm Wasser. Hefesuspension.

Probe I.	Probe II.
0,5 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,	0,5 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,
5 ccm Brenztraubensäurelösung,	5 ccm Brenztraubensäurelösung,
5 „ Hefesuspension,	1 „ Hefesuspension,
5 „ Wasser.	9 „ Wasser.

ccm  $\text{CO}_2$ .

Minuten	Temperatur °C	Probe I	Probe II
5	18,8	2,8	0,8
10	19,0	4,1	1,3
20	19,0	5,1	1,8
35	19,2	5,2	2,3
75	19,0	5,3	3,2

In einem früheren Versuch haben wir eine etwas verschiedene Versuchsanordnung benutzt. Die Aktivitätsprüfung wurde diesmal nicht durch Milchsäurebestimmungen verfolgt. Da wir jedoch keinen Grund haben anzunehmen, daß die Bakterien nicht aktiv waren, werden die Versuche hier kurz erwähnt.

Die benutzte Brenztraubensäurelösung war 0,5 n und mit NaOH bis  $p_{\text{H}} = 7$  neutralisiert. Die Bakteriensuspension hielt 0,0114 g Trockengewicht pro 1 ccm.

Zu jeder Probe 0,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 5 ccm Brenztraubensäurelösung + x ccm Bakteriensuspension + (5 - x) ccm Wasser. In einer Nullprobe wurde statt Brenztraubensäure Wasser zugesetzt.

ccm  $\text{CO}_2$ .

Zeit	Temperatur °C	ccm Bakteriensuspension					Nullprobe
		5,0	3,0	1,0	0,5	0,2	
5'	16,6	0	0	0	0	0	0
35	16,0	0	0	0	0	0	0
45	16,0	0	0	0	0	0	0
1h 5	15,2	0	0	0	0	0	0
2 35	16,6	0	0	0	0	0	0
16	16,2	0	0	0	0	0	0
18	16,6	0	0	0	0	0	0

Zu den Gärungsproben wurde jetzt Hefe gesetzt. 1 g Trockenhefe H + 20 ccm Wasser. Hefesuspension. Totalvolumen der zugesetzten Hefesuspension durch Zusatz von Wasser immer 1 ccm.

ccm CO <sub>2</sub> .							
Zeit	Temperatur	ccm Hefesuspension					Nullprobe
		1,0	1,0	0,5	0,5	0,2	
	° C	ccm Bakteriensuspension					
		5,0	3,0	1,0	0,5	0,2	
5'	16,3	0,7	0,7	0,5	0,5	0,5	0
1 h 15	16,3	1,8	1,8	1,2	1,1	0,9	0
2 10	16,6	2,6	2,6	1,9			0
3 5	16,0	3,3	3,5	2,3			0
4 55	16,2	4,5	4,6	3,2			0
7 45	16,0	5,6	5,8	4,0			0
9 5	15,3	6,0	6,3	4,5			0

Dieselbe Hefesuspension wurde außerdem zu zwei Parallelproben von folgender Zusammensetzung benutzt:

0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,  
 5 ccm 0,5 n Brenztraubensäurelösung,  
 1 „ Hefesuspension,  
 4 „ Wasser.

ccm CO <sub>2</sub> .			
Minuten	Temperatur ° C	Probe I	Probe II
5	16,7	0,2	0,2
60	16,0	1,3	1,3
180	16,2	3,0	3,2
360	15,4	4,7	4,9
420	15,3	5,2	5,4

III. Optische Aktivität der bei Milchsäuregärung von Glucose gebildeten Milchsäure.

Die Milchsäuregärungen wurden in zwei Parallelproben von derselben Zusammensetzung wie bei der Aktivitätsprüfung gemacht. Also zu jeder Probe

0,2 g Glucose,  
 5 ccm 0,3 mol. Phosphatpuffer,  $p_H = 5$ ,  
 15 „ Bakteriensuspension.

Die Gärungen wurden gleichzeitig mit der früher erwähnten Aktivitätsprüfung des Bakterienpräparats gemacht, welche somit auch für die letztgenannten Gärungen gültig ist.

Versuchstemperatur 30°, Versuchsdauer 3 Tage.

Eiweiß und Zucker wurden nach *Hirsch-Kauffmann* weggefällt. Die Drehungen wurden dann im 2-dm-Rohr bestimmt. Jeder an-

geführte Wert ist der Mittelwert von einer großen Anzahl (etwa 10) Bestimmungen, die untereinander gut stimmen. (Maximale Differenz 0,02).

		Differenz
Wasser . .	— 0,08	
Probe I . .	— 0,15	— 0,07
Probe II . .	— 0,13	— 0,05
Wasser . .	— 0,08	

Nach den Ablesungen eines anderen Beobachters (*K. Josephson*) sollen die Differenzen — 0,10 bzw. — 0,08 sein.

Die Proben waren stark alkalisch. Die Milchsäure war also in Form von Ca-Salz vorhanden. Da die d-Milchsäure linksdrehende Salze hat, war es also wahrscheinlich, daß die entstandene Milchsäure die d-Säure war.

Die Proben wurden mit  $H_2SO_4$  stark angesäuert, wobei große Mengen  $CaSO_4$  ausfielen. Die Drehungen wurden dann wie vorher bestimmt.

		Differenz
Wasser . .	— 0,08	
Probe I . .	— 0,07	+ 0,01
Probe II . .	— 0,07	+ 0,01

Nach einigen Tagen, wo noch mehr  $CaSO_4$  ausgefällt war, wurde die Drehung nochmals bestimmt.

		Differenz
Wasser . .	— 0,07	
Probe I . .	— 0,07	0,00
Probe II . .	— 0,07	0,00

Weder das Filtrat, noch die abzentrifugierte Fällung von  $CaSO_4$  gaben *Molischs* Kohlehydratreaktion.

Die Milchsäuremenge wurde von jeder Probe in 1 ccm bestimmt.

	mg Milchsäure
Probe I . .	4,3
Probe II . .	2,5

Nachdem unsere Versuche abgeschlossen waren, erschien eine Mitteilung von *Virtanen, Karström* und *Bäck*) „Über die Milchsäuregärung. II“.

<sup>1)</sup> *Virtanen, Karström* und *Bäck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 151, 232, 1926.

*Unsere Versuche sind völlig im Einklang mit den Resultaten von Virtanen und seinen Mitarbeitern, die also hier bestätigt werden.*

#### Versuche mit Hefe.

Nachdem *Neuberg* und *Karczag*<sup>1)</sup> im Jahre 1911 die Vergärung von Brenztraubensäure durch Hefe beschrieben hatten, ist das Problem Brenztraubensäure als Zwischenprodukt der Gärung der Gegenstand mehrerer Untersuchungen gewesen. Der Umstand, daß man bei der Zuckervergärung keine Anreicherung von Brenztraubensäure hat nachweisen können, hat zu vergleichenden Untersuchungen über die Reaktionsgeschwindigkeiten der Zuckervergärung und der Brenztraubensäurevergärung geführt. *Euler*<sup>2)</sup> hat für das Verhältnis

$$N = \frac{\text{Reaktionsgeschwindigkeit der Glucosevergärung}}{\text{Reaktionsgeschwindigkeit der Brenztraubensäurevergärung}}$$

die Bezeichnung *Neuberg-Quotient* eingeführt.

Versuche zur Bestimmung von *N* liegen z. B. in einer Arbeit von *Lindberg*<sup>3)</sup> vor. Nach seinen Untersuchungen soll  $N < 1$  sein, was auch mit den Erfahrungen, die bei späteren Arbeiten im hiesigen biochemischen Laboratorium über Carboxylasegärung gesammelt sind, übereinstimmt.

Nun haben kürzlich *Hägglund*<sup>4)</sup> und *Augustsson* dagegen einen Wert für *N* bestimmt, der  $> 1$  ist.

Bei der Carboxylasegärung fällt die Gärungskurve bekanntlich sehr früh ab. Aus Versuchen von *Euler*, *Myrbäck* und *Nilsson*<sup>5)</sup> geht hervor, daß schon während der ersten halben Stunde die Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit sehr beträchtlich ist, besonders wenn man mit schwachem Puffer arbeitet, selbst wenn die Gärung bei Zimmertemperatur gemacht wird. In der Formel zur Berechnung von *N* muß selbstverständlich für die Reaktionsgeschwindigkeit  $\left(\frac{dx}{dt}\right)_{t=0}$  zur Verwendung kommen und also  $\frac{dx}{dt}$  im ersten Teil der Gärung gemessen werden, wo noch nicht Vergiftungserscheinungen mitspielen.

Die Versuche von *Hägglund* und *Augustsson* sind bei 30° ausgeführt, und die erste Ablesung ist erst nach einer halben Stunde gemacht, was etwa 1 Stunde entspricht, wenn man bei 20° arbeitet. Das scharfe

1) *Neuberg* und *Karczag*, diese Zeitschr. 86, 68, 1911.

2) *Euler* und *Karlsson*, ebendasselbst 180, 551, 1922.

3) *Lindberg*, ebendasselbst 182, 129, 1922.

4) *Hägglund* und *Augustsson*, ebendasselbst 170, 118, 1926.

5) *Euler*, *Myrbäck* und *Nilsson*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 144, 137, 1925.

Abfallen der Kurven in den Versuchen ist auch sehr auffallend. Wir meinen, daß für die Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit der Carboxylasegärung die Gärung während der ersten halben Stunde maßgebend sein muß, und daß darum zu Beginn der Reaktion Ablesungen sehr oft gemacht werden müssen. Am besten wählt man die Versuchstemperatur nicht über 20°.

Im folgenden ist versucht worden, N unter den oben angegebenen Bedingungen zu bestimmen.

Die Glucosegärung wurde bei  $p_H = 6,4$ , die Brenztraubensäuregärung dagegen bei  $p_H = 4,5$  gemacht.

Zu allen Proben wurde eine Suspension von 20 g Trockenunterhefe H in 80 ccm Wasser benutzt.

Die Glucoselösung enthielt 6 g Glucose in 20 ccm Wasser gelöst. Die Brenztraubensäurelösung war 0,5 n und mit NaOH bis neutral gegen Lackmus neutralisiert.

Zusammensetzung der Brenztraubensäuregärungsproben. Zu jeder Probe 0,5 g  $KH_2PO_4$  + 5 ccm Hefesuspension + in

1. 10 ccm Pyruvinalösung
2. 5 „ „ + 5 ccm Wasser
3. 3 „ „ + 7 „ „
4. 2 „ „ + 8 „ „
5. 1 „ „ + 9 „ „

Die Gärungen wurden bei Zimmertemperatur gemacht. Die Temperatur hielt sich die ganze Zeit innerhalb 1° konstant und war auch bei den nachfolgenden Glucosegärungen dieselbe. Vor jeder Ablesung wurden die Kolben gut geschüttelt.

ccm  $CO_2$ .

Minuten	1	2	3	4	5
5	3,9	3,7	3,5	3,0	1,9
10	6,3	6,3	6,0	5,6	4,4
15	8,2	8,2	7,8	7,4	5,9
20	9,9	9,8	9,3	8,8	6,8
25	11,7	11,6	10,9	10,5	7,2
35	14,7	14,4	13,6	12,7	7,2
45	16,4	16,2	15,2	13,7	7,2
55	18,7	18,6	16,9	14,4	7,2
65	20,9	20,8	18,0	14,9	7,2
75	22,8	22,6	20,1	14,9	7,2
95	26,8	26,4	22,2	15,3	7,6
165	33,8	32,8	22,8	16,1	8,2

Wenn wir von den ersten Ablesungen absehen, erhalten wir für die maximale Gärungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure den Wert 23 ccm  $CO_2$ /Stunde. Wenn auch die ersten Ablesungen in Betracht kommen, erhalten wir den Wert 29 ccm  $CO_2$ /Stunde.

## Zusammensetzung der Glucosegärungsproben.

Zu jeder Probe 5 ccm 10proz. Phosphatpuffer,  $p_H = 6,4$  + 5 ccm Hefesuspension + in

1. 5 ccm Glucoselösung
2. 4 „ „ + 1 ccm Wasser
3. 3 „ „ + 2 „ „
4. 2 „ „ + 3 „ „
5. 1 „ „ + 4 „ „

Die Gärungen wurden wie im vorigen Versuche ausgeführt.

ccm CO <sub>2</sub> .					
Minuten	1	2	3	4	5
65	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3
75	1,1	1,0	0,9	0,8	0,5
90	3,2	2,6	2,1	2,1	1,7
120	6,8	5,5	4,4	4,6	4,0
150	12,0	9,3	8,0	8,5	8,0
180	17,6	14,0	12,4	14,0	13,2

Aus der Probe I läßt sich eine Gärungsgeschwindigkeit von höchstens 12 ccm CO<sub>2</sub>/Stunde berechnen. Aus den Versuchen geht zwar nicht hervor, daß Glucose im Überschuß vorhanden ist und die oben berechnete Gärungsgeschwindigkeit somit maximal ist. Die Glucosekonzentration ist jedoch, besonders in Probe I so groß, daß es sehr unwahrscheinlich ist, daß durch Erhöhung der Zuckerkonzentration eine wesentlich größere Gärungsgeschwindigkeit erreicht werden könnte. Für die hier untersuchte Hefe ist also mit größter Wahrscheinlichkeit N wenigstens nicht > 1.

Die Behauptung von *Hägglund* und *Augustsson*: „Brenztraubensäure wird nicht so schnell wie Zucker vergoren, auch bei optimaler Wasserstoffionenkonzentration nicht“, wird von ihnen durch folgende Versuche begründet.

## I.

0,2 mol. Brenztraubensäure-Na-pyrovinatlösung mit  
0,15 mol. Phosphatpuffer,  
1½ g Hefe aus Unterhefe A. 20 ccm Lösung.

Nach einer halben Stunde wurden 32 ccm CO<sub>2</sub> erhalten.

## II.

0,2 mol. Brenztraubensäure-Na-pyrovinatlösung mit  
0,15 mol. Phosphatpuffer und  
0,5 g Glucose,  
1½ g Hefe aus Unterhefe A. 20 ccm Lösung.

Nach einer halben Stunde wurden 45,5 ccm CO<sub>2</sub> erhalten und in der nächsten halben Stunde 67,2 ccm.

Über diese Versuche sagen die Verfasser: „Um die Geschwindigkeit der Gärung von Brenztraubensäure und von Zucker (Glucose) zu vergleichen, wurde die Gärungsmischung, die im vorhergehenden Versuch angewandt wurde, mit 0,5 g Glucose versetzt. Die Gärungsgeschwindigkeit ist, wie wir sehen, bei Anwesenheit von Zucker wesentlich größer. Die Brenztraubensäure vergärt unter diesen Umständen zweifellos langsamer als Glucose, eine Tatsache, die allerdings nicht als Beweis gegen die Brenztraubensäuretheorie der Gärung angeführt werden kann, da, wie wir annehmen, die gärungshemmende Wirkung des Acetaldehyds wegen der momentan erfolgenden „gemischten Dismutation“ bei dem Zuckerabbau nicht erfolgen kann. Es steht aber fest, daß Brenztraubensäure unter den angeführten Bedingungen bei weitem nicht so schnell wie Glucose vergoren wird“.

Ohne hieran eine eingehendere Diskussion knüpfen zu wollen, möchten wir im Anschluß an dasjenige, was wir oben über die Methodik der Carboxylasegärung mitgeteilt haben, nur auf zwei Punkte hinweisen, nämlich daß *Hägglund* und *Augustsson* die maximale Vergärungsgeschwindigkeit nicht experimentell bestimmt haben, und ferner, daß die Glucosevergärung in Gegenwart von Brenztraubensäure gemessen wurde, aber keine Parallelversuche mit Glucose allein angegeben worden sind.

Wir sind durch die *Hägglundschen* Versuche also noch nicht ganz überzeugt, daß in der von *Hägglund* und *Augustsson* benutzten Hefe der *Neuberg-Quotient*  $N > 1$  ist. Demgemäß halten wir es noch *nicht für notwendig, eine Anreicherung von Brenztraubensäure bei der Zuckervergärung zu erwarten.*

#### Einfluß von Co-Zymase auf die Brenztraubensäuregärung.

Schon *Neuberg*<sup>1)</sup> zeigte (was durch Versuche von *Euler* und *Karlsson* bestätigt wurde), daß für die Carboxylasegärung die Co-Zymase nicht notwendig ist. Nachdem, besonders durch Versuche von *Euler* und *Myrbäck*, die Methode mit der ausgewaschenen Hefe so gut ausgearbeitet ist, daß man durch Auswaschen mit Wasser die Co-Zymase so gut wie vollständig entfernen kann, ohne daß die Zymase zerstört oder entfernt wird, fanden wir es nicht unwichtig, mit einer solchen gut ausgewaschenen Hefe die Unabhängigkeit der Brenztraubensäuregärung von der Co-Zymase nochmals zu prüfen.

Zu den Versuchen wurden folgende Präparate benutzt:

0,1 n Brenztraubensäurelösung. Hefesuspension von 2 g ausgewaschener Trockenhefe H + 5 ccm Wasser. Hefe-Co-Zymase durch Aufkochen von Trockenhefe H mit Wasser dargestellt.

<sup>1)</sup> *Neuberg* und *Rosenthal*, diese Zeitschr. 51, 128, 1913.



## Zusammensetzung der Proben 1 bis 4.

Zu jeder Probe 0,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 5 ccm Brenztraubensäurelösung + in

1. 5 ccm Hefesuspension + 5 ccm Wasser
2. 1 „ „ + 9 „ „
3. 5 „ „ + 5 „ Hefe-Co-Zymase
4. 1 „ „ + 9 „ „

Zu den Proben 5 und 6: 1 g Glucose + 5 ccm 10proz. Phosphatpuffer  
 $p_{\text{H}} = 6,4$  + 5 ccm Hefesuspension + 5 ccm Wasser.

Zeit	Temperatur °C	1	2	3	4	5	6
5'	18,8	2,8	0,8	2,7	0,9	0,0	0,0
10	19,0	4,1	1,3	3,9	1,3	0,0	0,0
20	19,0	5,1	1,8	4,8	1,8	0,0	0,0
15h30	18,5	5,5	4,5	11,8	6,1	0,5	0,8
19 0	19,3	5,7	4,7	15,4	7,0	0,5	0,8

*Eine Trockenhefe, die vollkommen Co-zymasefrei ist, ruft also eine Brenztraubensäuregärung hervor, die durch Zusatz von Co-Zymase nicht erhöht wird. Für die Nachgärung der in der Hefe vorhandenen Kohlehydrate scheint die Co-Zymase notwendig zu sein.*

## Weitere Versuche über die Reinigung der Oxydoredukase (Schardingerenzym, Perhydridase).

Von

B. Sbarsky und D. Michlin.

(Aus dem biochemischen Institut des Kommissariats für Volksgesundheit  
in Moskau.)

(Eingegangen am 4. Mai 1926.)

In einer früheren Mitteilung (1) berichteten wir über eine Methode zur Darstellung eines aktiven Trockenpräparats der Oxydoredukase (Schardingerenzym, Perhydridase) aus Buttermilch. Es gelang uns, aus diesem Präparat durch Behandlung mit  $n/200$  Salzsäure ein sehr aktives Filtrat zu gewinnen, welches Nitrate zu Nitriten reduzierte, Methyleneblau entfärbte und dabei die Fähigkeit besaß, außer Aldehyden Xanthin und Hypoxanthin zu oxydieren.

Im trockenen Zustand behält dieses Präparat seine Aktivität, wenn es in geschlossenen Gefäßen unter Petroläther aufbewahrt wird. Zum Gebrauch genügt es, das Präparat zwischen Filtrierpapier abzapressen; dabei verdunstet der Äther im Laufe weniger Minuten. So hat z. B. ein von uns zu Beginn des vorigen Jahres hergestelltes, unter Petroläther aufbewahrtes Präparat seine volle Wirksamkeit über ein Jahr behalten. Am 4. Februar 1925 wurde die Wirksamkeit des Präparats nach der in unserer vorhergehenden Arbeit genau beschriebenen Nitratmethode von *Bach* (2) geprüft: 5 mg des Präparats lieferten 0,0022 mg  $N_2O_3$ ; am 1. März 1926 lieferten 5 mg desselben Präparats 0,0021 mg  $N_2O_3$ .

Die Lösung des Präparats in schwacher Salzsäure ist, wie bereits in unserer früheren Arbeit bemerkt wurde, noch stark durch Begleitstoffe, insbesondere durch Eiweißstoffe, verunreinigt. Deswegen versuchten wir, das Ferment einer weiteren Reinigung zu unterwerfen, indem wir für die Oxydoredukase diejenigen Reinigungsmethoden benutzten, die von *Willstätter* und seinen Mitarbeitern (3, 6) zur Reindarstellung einer ganzen Reihe von Fermenten angewendet worden sind.

Nach einer Reihe von Versuchen mit verschiedenen Adsorbentien und Eluentien wählten wir folgende Methode, welche die besten Resultate ergab.

1 Liter frische, aus nichterwärmtem Rahm bereitete Buttermilch, wird mit 3 Liter frisch destilliertem Aceton gefällt. Die Mischung wird nach energischem Umrühren eine halbe Stunde stehengelassen. Sodann wird die klare Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag abgenutscht, mit wasserfreiem Aceton verrieben und nochmals abgenutscht. Das erhaltene trockene Präparat wird alsdann zur Entfettung mehrmals mit kaltem Petroläther extrahiert. Es kann nun unter Petroläther im Dunkeln lange Zeit aufbewahrt werden.

Zur weiteren Bearbeitung des Präparats wird auf folgende Weise verfahren. Das aus dem Petroläther herausgenommene Präparat wird zwischen Filtrierpapier abgepreßt, bis der Geruch nach Petroläther verschwunden ist. Darauf wird es mit  $n/200$  Salzsäure (4 ccm pro 1 g Trockensubstanz) verrieben und mehrere Tage bei Zimmertemperatur unter Toluol stehengelassen. Die dicke Suspension wird durch ein Faltenfilter filtriert. Die erhaltene opaleszierende Fermentlösung wird dann auf Bolus alba adsorbiert.

Zu diesem Zwecke wird käufliche Bolus alba mehrere Male mit destilliertem Wasser gewaschen; davon werden 30 g in 100 ccm Wasser suspendiert. 200 ccm der salzsauren Fermentlösung werden mit 400 ccm Wasser vermischt und mit der Suspension von Bolus alba eine Stunde lang geschüttelt, worauf die Mischung zentrifugiert und der Niederschlag zwei bis dreimal mit Wasser gewaschen wird. Der Niederschlag wird 2 Stunden lang mit 200 ccm einer 0,05proz. Ammoniaklösung geschüttelt und energisch zentrifugiert, bis die Lösung klar wird. Die abgegossene Lösung wird bei Zimmertemperatur im Vakuumapparat eingedampft, am besten, indem man die Lösung allmählich aus einem Tropftrichter in ein dickwandiges Reagenzglas fließen läßt (beim Eindampfen schäumt die Lösung stark). Das erhaltene Trockenpräparat ist gelblich, in Wasser gut löslich, gibt keine Biuretreaktion. Es enthält 5,2 Proz. Asche; in der Asche ist Fe nachgewiesen worden. Unter Petroläther ist das Präparat dauernd haltbar. Was die Wirksamkeit des Präparats betrifft, so liefert 1 mg des Ferments nach der Nitratmethode bei Anwesenheit von Acetaldehyd oder Hypoxanthin ebensoviel  $N_2O_3$ , als dem Mittelwert für 2 ccm Milch entspricht. Wird der Fermentgehalt eines Kubikzentimeters Milch als Einheit gewählt, so entspricht 1 g des gereinigten Präparats 2000 Einheiten.

Folgende Beispiele geben eine zahlenmäßige Vorstellung von den quantitativen Resultaten bei der Adsorption und Elution der Oxydoredukase.

**Wirksamkeit der salzsauren Lösung.**

0,1 ccm Fermentlösung + 1 ccm Pufferlösung ( $p_H$  7,6) + 1 ccm  $NaNO_3$ -Lösung (15proz.) + 0,1 ccm Acetaldehydlösung (10proz.) liefern 0,0164 mg  $N_2O_3$ .

200 ccm dieser Lösung werden mit 400 ccm Wasser und 400 ccm Suspension von Bolus alba versetzt, 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur mäßig geschüttelt und zentrifugiert.

**Wirksamkeit des Zentrifugats.**

0,5 ccm Zentrifugat + 0,5 ccm Pufferlösung ( $p_H$  7,4) + 1 ccm Nitratlösung (15proz.) + 0,1 ccm Acetaldehydlösung liefern 0,0038 mg  $N_2O_3$ . Folglich hat sich der Fermentgehalt der Lösung um 77 Proz. verringert.

**Wirksamkeit des Niederschlags.**

Der Niederschlag wird in 200 ccm Wasser aufgeschwemmt.

0,1 ccm der Suspension + 0,1 ccm Pufferlösung ( $p_H$  7,4) + 1 ccm Nitratlösung + 0,1 ccm Acetaldehydlösung liefern 0,0105 mg  $N_2O_3$ .

**Wirksamkeit der Elution.**

Der Niederschlag wird dreimal mit Wasser gewaschen; dabei werden vom Waschwasser Spuren Ferment mitgerissen. Darauf wird der abzentrifugierte Niederschlag 2 Stunden mäßig mit 200 ccm 0,05proz. Ammoniaklösung geschüttelt und zentrifugiert, bis die Lösung klar wird.

0,1 ccm Elution + 1 ccm Pufferlösung ( $p_H$  7,4) + 1 ccm 15proz. Nitratlösung + 0,1 ccm Acetaldehydlösung liefern 0,0076 mg  $N_2O_3$ .

**Wirksamkeit des gereinigten Trockenpräparats.**

Die Elution wird im Vakuum zur Trockne eingedampft. 1 mg Fermentpräparat + 1 ccm Pufferlösung ( $p_H$  7,4) + 1 ccm Nitratlösung (15proz.) + 0,1 ccm Acetaldehyd (10proz.) liefern 0,0055 mg  $N_2O_3$ .

Es ist uns also gelungen, weitgehend gereinigte, wirksame und dauernd haltbare Präparate der Oxydoredukase (Perhydridase, Schardingerenzym) herzustellen. In unserer früheren Arbeit haben wir Vermutungen über die Einheitlichkeit des nach diesem Verfahren gewonnenen Ferments ausgesprochen. Neuerdings konnten *A. Bach* und *K. Nikolajew* (4) tatsächlich mit dem nach unserer Methode hergestellten Ferment erhebliche Mengen Salicylsäure aus Salicylaldehyd gewinnen, und zwar sowohl unter aeroben als anaeroben Bedingungen. Der Beweis der Identität des Schardingerenzym und der Salicylase ist somit erbracht. Mittels desselben Ferments hat *Lebedew* (5) Methylglyoxal oxydiert. Ferner oxydiert das nach unserem Verfahren gereinigte Ferment Xanthin und Hypoxanthin zu Harnsäure, was auf dessen Identität mit der Xanthinoxidase hinweist.

Freilich könnte man diese Ergebnisse auch dahin deuten, daß das von uns erhaltene gereinigte Präparat ein Gemisch von mindestens drei spezifisch wirkenden Fermenten darstellt; allein zu einer derartigen Annahme liegt zurzeit keine hinreichende Veranlassung vor. Weitere diesbezügliche Versuche sind im hiesigen Institut im Gange.

#### Literatur.

1) *Sbarsky* und *Michlin*, diese Zeitschr. 155, 486. — 2) *A. Bach*, ebendasselbst 31, 443; 33, 282; 38, 154; 52, 412; 58, 205. — 3) *Willstätter* und *Racke*, Ann. d. Chem. 425, 1, 1920/21. — 4) *Bach* und *Nicolajeff*, diese Zeitschr. 169, 105. — 5) *Lebedew*, ebendasselbst 169, 501. — 6) *Willstätter* und *Pollinger*, Ann. d. Chem. 480, 2/3, 269.

---

## Zur kolorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionen- konzentration.

Von

Alexander Janke und Stephan Kropacsy.

(Technische Hochschule Wien.)

(Eingegangen am 6. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen.

### I. Die Untersuchungsmethodik.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration auf *kolorimetrischem* Wege kommt meist bei Massenanalysen zur Anwendung, bei denen das Hauptgewicht auf rasche Ausführung gelegt, der Erzielung einer möglichst großen Genauigkeit hingegen eine geringere Bedeutung beigemessen wird. Dieser Umstand hat jedoch dazu geführt, daß vielfach eine allzu primitive Untersuchungsmethodik zur Anwendung kommt, die einer berechtigten Kritik nicht standzuhalten vermag. Besonders unangenehm wird sich dieser Übelstand dann bemerkbar machen, wenn man — wie bei der Untersuchung von Flüssigkeiten, die eine Vergiftung der Elektroden herbeiführen — auf die kolorimetrische Methode *angewiesen* ist. Soll diese letztere *objektiv*, also unabhängig von den individuellen Abweichungen der Augen des Beobachters sein, so müssen vor allem Probe und Vergleichslösung das *gleiche Absorptionsspektrum* aufweisen, und ferner erscheint es unbedingt nötig, daß die Farbtöne beider Lösungen mit *einem* Auge *gleichzeitig* betrachtet werden. Inwieweit gegen die erste Bedingung bei der Verwendung anorganischer Vergleichslösungen verstoßen wird, soll weiter unten gezeigt werden. Der zweiten Bedingung wird am besten dadurch Genüge geleistet, daß die auf Zusatz eines Indikators sich einstellenden Farbtöne von Probe und Vergleichslösung in einem *einzigem* Gesichtsfeld zur Beobachtung gelangen, wie dies auch *Schlaginweit*<sup>1)</sup> in seinem Komparator angestrebt hat, welcher Apparat ebenso wie jener von *Walpole* für die Verwendung von Reagenzgläsern eingerichtet ist. Der

---

<sup>1)</sup> Deutsch. med. Wochenschr. 1922, S. 251.

Benutzung dieser letzteren kommt wohl der Vorteil der Wohlfeilheit zu, jedoch wird dieser durch bedeutende Nachteile mehr als wettgemacht. So hat man bei der Durchsicht senkrecht zur Längsachse nicht nur mit dem Reflex der gewölbten Glaswand zu rechnen, sondern es ist vor allem auch die Dicke der Flüssigkeitsschicht zu gering; so haben wir wiederholt feststellen können, daß bei der Betrachtung von Probe und Vergleichslösung in Reagenzgläsern Farbgleichheit herrschte, während bei der Beobachtung in höherer Schicht, z. B. im 60-mm-Rohr, deutliche Unterschiede in Erscheinung traten, die dann besonders augenfällig wurden, wenn die beiden Absorptionsspektren voneinander abwichen, wie dies bei der Verwendung anorganischer Vergleichslösungen der Fall war. *Kolthoff* trachtete dem Übel der zu geringen Schichtdicke dadurch zu begegnen, daß er Phiolen (Aspirinröhrchen) benutzte und in der Richtung der Achse durchblickte. Jedoch auch dieses Verfahren kann für genauere Untersuchungen, wie z. B. für die von uns durchgeführten spektroskopischen, nicht befriedigen, weshalb eine andere Vorrichtung angewendet werden mußte, die in Abb. 1 dargestellt ist. In dem von *Schott und Genossen* in Jena stammenden Kolorimetergefäß *K*, das eine direkt aufgeschmolzene, geschliffene und polierte Klarglasplatte trägt und in Abständen von 10 zu 10 mm, von der inneren Bodenfläche an gemessen, eine Rundteilung aufweist, ist mittels des Gummiringes *G* das Glasröhrchen *R*, auf dessen einem Ende mittels Hartparaffins das planparallel geschliffene Glasplättchen *P* aufgedichtet ist, verschiebbar angebracht. Das Röhrchen kann entweder mit dem Plättchen gegen den Boden des Kolorimetergefäßes zu oder aber umgekehrt eingeschoben werden, je nachdem, ob man die Probe in geringerer oder höherer Schichtdicke untersuchen will. Außer den abgebildeten 50-mm-Röhrchen wurden auch solche von bloß 30 mm verwendet, die in Abständen von je 5 mm von beiden Enden eine Rundteilung aufwiesen, die im Verein mit den Marken des Kolorimetergefäßes auch eine Einstellung der Flüssigkeitsschicht auf halbe Zentimeter ermöglichte.

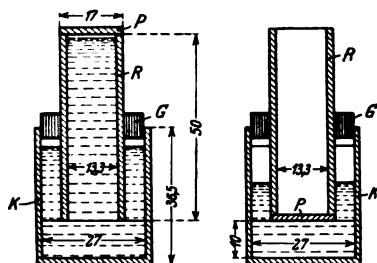


Abb. 1.  
Kolorimetergefäß zur  $p_{\text{H}}$ -Bestimmung.

Zwecks Ausführung der Untersuchung werden Probe und Vergleichslösung in je einen derartigen, zweckmäßig von einem schwarzen Papierzylinder umhüllten Apparat gebracht und unter einem Kolorimeter, dessen Röhrchen ausgeschraubt sind, miteinander verglichen; wir verwendeten in unseren Versuchen das Mikrokolorimeter von *Dubosq*.

Weist die zu untersuchende Flüssigkeit eine Eigenfarbe auf, so werden je zwei solcher Apparate hintereinander geschaltet, und zwar kommt unter die mit dem Indikator versetzte Probeflüssigkeit destilliertes Wasser und unter die Vergleichslösung die Probeflüssigkeit ohne Indikatorzusatz.

Die geschilderte Arbeitsweise vereinigt alle wünschenswerten Vorteile: Die Lösungen können in entsprechend hoher Schicht verglichen werden, das Licht passiert nur planparallel geschliffene Glasflächen, die Gefäße sind nicht nur stehend, sondern auch liegend benutzbar, da die zwischen Kolorimetergefäß und Innenröhrchen eingeschlossene Luft den Strahlengang nicht stört, und endlich ermöglicht die Vereinigung der beiden Strahlenbündel in *einem* Gesichtsfeld eine einwandfreie einäugige Beobachtung. Kommt nur ein vertikaler Verlauf der Lichtstrahlen in Frage, dann kann aus Gründen der Wohlfeilheit auf das Kolorimetergefäß verzichtet und mit dem Innenröhrchen allein das Auslangen gefunden werden, sofern das letztere in Abständen von 10 mm Rundteilungen aufweist und auf beiden Seiten mittels planparalleler Plättchen verschlossen ist.

## II. Die kolorimetrische $p_H$ -Bestimmung mittels anorganischer Dauerreihen.

### A. Allgemeines.

Die Umständlichkeit der Herstellung von Puffergemischen sowie die relativ kurze Lebensdauer der Indikatorvergleichsreihen haben einerseits zur getrennten Verwendung der sauren und alkalischen Form der Indikatoren durch *Gillespie* geführt, welches Prinzip den Kolorimetern von *Gillespie* und von *E. van Alvine* sowie jenem von *Bjerrum-Arrhenius* zugrunde liegt, andererseits Bestrebungen entstehen lassen, mittels anorganischer Salzgemische den Farbton gewisser Indikatoren nachzuahmen und auf diesem Wege Vergleichsdauerreihen zu schaffen.

In vorliegender Abhandlung wollen wir uns mit diesen letzteren befassen. Vor allem *J. H. Kolthoff*<sup>1)</sup> hat versucht, mit Eisen- und Kobaltsalzen Farbtöne zu erreichen, die mit jenen, durch Neutralrot, Methylorange, Tropäolin 00 und Methylrot erzeugten, übereinstimmen. Auch die Nitrophenole in der Dauerreihe von *Michaelis* hat genannter Forscher durch anorganische Salze, und zwar Chromate und Bichromate zu ersetzen getrachtet, in welcher Richtung sich durch *Windisch* und Mitarbeiter<sup>2)</sup> schon früher unternommene Versuche bewegten.

<sup>1)</sup> Pharm. Weekbl. 59, 104, 1922; Chem. Centralbl. 1922, II, 670; Der Gebrauch von Farbindikatoren, 2. Aufl., Berlin 1923.

<sup>2)</sup> *W. Windisch, W. Dietrich* und *P. Kolbach*, Wochenschr. f. Brauerei 89, 79, 1922.



Eine Nachprüfung dieser Methoden hat nun Unstimmigkeiten in den Farbtönen ergeben, weshalb wir uns veranlaßt sahen, eine vergleichende spektroskopische Untersuchung der genannten Indikatorlösungen und ihrer anorganischen Ersatzflüssigkeiten durchzuführen, um so zu ermitteln, ob diese Methode überhaupt ein brauchbares *objektives* Verfahren darstellt. Die Untersuchungen wurden mit dem Vergleichsspektroskop für Laboratoriumszwecke von *Zeiss* durchgeführt, da leider kein Gitterspektroskop zur Verfügung stand; hierdurch ergab sich die Unannehmlichkeit einer allzu geringen Dispersion im langwelligen Spektralbereich, so daß Unterschiede im Rot und Gelb nur sehr mangelhaft festgestellt werden konnten.

*B. Die Dauerreihen mittels Eisen- und Kobaltsalzen nach Kolthoff.*

*Kolthoff*<sup>1)</sup> benutzte Lösungen von Eisenchlorid und Kobaltnitrat, die in 250 ccm 11,262 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , bzw. 18,2 g kristallisiertes  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ , und zwar in 1proz. HCl gelöst, enthielten.

1. Methylrot als Indikator.

*Kolthoff* verwendete auf je 10 ccm Biphthalat-Laugepuffer 0,4 ccm einer 0,025proz. Lösung von Methylrot in verdünntem Alkohol und gab folgende Mischungsverhältnisse für die Eisenkobaltlösungen an.

$p_{\text{H}}$ :	6	5,8	5,6	5,4	5,2
ccm Fe-Lösung . . . .	10	10	9	2,4	0,4
ccm Co-Lösung . . . .	1,75	3,8	10	10	10

Ein Vergleich der einem  $p_{\text{H}}$ -Wert von 6 entsprechenden Lösungen unter Verwendung von Citratpuffern ergab bei Betrachtung im Kolorimeter in 60 mm hoher Schicht für die Methylrotlösung einen dunkleren und rötlicheren Farbton als für die anorganische Vergleichslösung. Wie aus den im 20-mm-Rohr ausgeführten spektrographischen Aufnahmen hervorgeht (Spektr. 1 der Abb. 2), absorbiert die dunklere Methylrotlösung im violetten Teile zwischen 400 bis 450  $\mu\mu$  schwächer als die Eisen-Kobaltlösung, so daß es nicht möglich ist, durch Verdünnung der ersteren Farbgleichheit zu erreichen. Schaltet man jedoch die violetten Strahlen durch Verwendung eines Gelbfilters aus, so werden die beiden Spektren einander recht ähnlich (Sp. 2 der Abb. 2). Wohl

<sup>1)</sup> Wir verwendeten die ursprünglich von *Kolthoff* (Pharm. Weekbl. 59, 104, 1922; Chem. Centralbl. 1922, II, 670) angegebenen Mischungsverhältnisse, weil die denselben entsprechenden  $p_{\text{H}}$ -Werte mittels Pufferlösungen leicht reproduzierbar sind und sich daher für die Überprüfung besser eignen als die von diesem Forscher später empfohlenen (Der Gebrauch von Farbindikatoren, 2. Aufl. Berlin 1923).

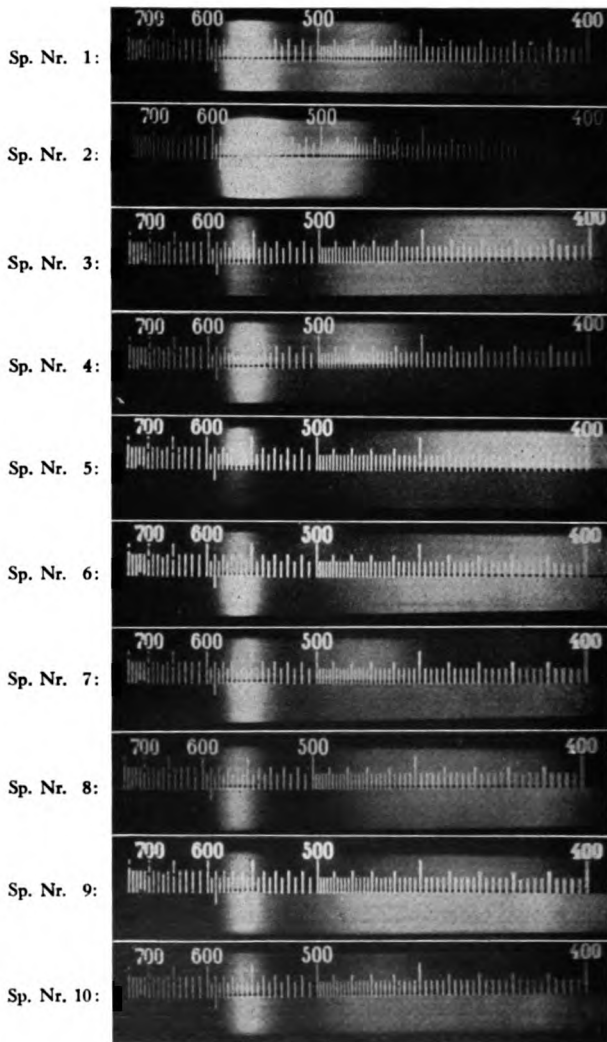


Abb. 2.

Sämtliche Spektren wurden bei Verwendung einer Mikrobogenlampe von Zeiss als Lichtquelle und bei Einstellung der Kolorimetergefäße auf 20 mm Schichthöhe auf farbenempfindliche Platten von etwa 21° Scheiner aufgenommen. Von den einzelnen Spektrenpaaren entspricht das obere Spektrum immer der Eisen-Kobalt-Vergleichslösung, das untere der Indikatorlösung.

- Spektr. Nr. 1. Methylrot als Indikator,  $p_H = 6$ .
- " " 2. Desgleichen, jedoch unter Vorschaltung eines Gelbfilters (Hübl Nr. 3).
  - " " 3. Methylrot als Indikator,  $p_H = 5,2$
  - " " 4. Tropäolin 00 als Indikator,  $p_H = 3$ .
  - " " 5. Tropäolin 00 als Indikator,  $p_H = 1,8$ .
  - " " 6. Methylorange als Indikator,  $p_H = 3,05$ .
  - " " 7. Methylorange als Indikator,  $p_H = 4,6$ .
  - " " 8. Methylorange als Indikator,  $p_H = 3,05$ , Eisen-Kobaltgemisch mit  $FeCl_3$ -Lösung versetzt, so daß in 12,5 mm hoher Schicht dieselbe Farbtiefe erreicht wurde als mit der Indikatorlösung in 20 mm hoher Schicht.
  - " " 9. Neutralrot als Indikator,  $p_H = 7$ .
  - " " 10. Neutralrot als Indikator,  $p_H = 7,8$ .

gelang es, durch Zusatz von Co-Lösung zum Fe-Co-Gemisch eine Lösung zu erhalten, die in 13 mm hoher Schicht ungefähr den gleichen Farbton aufwies als die Methylrotlösung in 15 mm hoher Schicht, aber auch in diesem Falle zeigten die Spektren große Verschiedenheiten.

Bei den einem  $p_H$ -Wert von 5,2 entsprechenden Lösungen war im Gegensatz zu dem besprochenen Falle die Eisen-Kobaltlösung dunkler und zugleich stärker rot als die Methylrotlösung gefärbt. Durch Verdünnen der ersteren konnte wohl infolge Einengung des totalen Absorptionsbereichs (480 bis 540  $\mu\mu$ ) ein Ähnlicherwerden der Spektren bewirkt werden, jedoch trat zugleich im Spektrum des Eisen-Kobaltgemisches eine Aufhellung in den Bereichen 550 bis 580  $\mu\mu$  und 400 bis 450  $\mu\mu$  ein, wodurch der Unterschied noch verstärkt wurde (Sp. 3 der Abb. 2). Durch Zusatz von etwas Fe-Lösung zum Fe-Co-Gemisch ließ sich eine Lösung erhalten, die in 12 mm hoher Schicht ungefähr den gleichen Farbton aufwies wie die Methylrotlösung bei Betrachtung im 15 mm-Rohr, doch zeigten auch in diesem Falle die Spektren wieder große Abweichungen.

Aber nicht nur bei den extremen Gliedern obiger Reihe waren bedeutende Unterschiede in den beiderlei Spektren wahrzunehmen, sondern auch bei dem mittleren Gliede, entsprechend einem  $p_H$  von 5,6. Hier erschien sowohl im 60-mm- als auch im 20-mm-Rohr bei Betrachtung im Kolorimeter die Fe-Co-Lösung wesentlich dunkler, während die Methylrotlösung einen rötlicheren Farbton aufwies. Die Untersuchung im Vergleichsspektroskop ergab für die Fe-Co-Lösung eine stärkere Absorption im Violett als für die Indikatorlösung, selbst dann noch, als durch Veränderung der Schichthöhe auf gleiche Farbtiefe eingestellt worden war.

## 2. Tropäolin 00 als Indikator.

Zu je 10 ccm verdünnter HCl-Lösungen setzte *Kolthoff* 0,2 ccm einer 0,1proz. wässrigen Tröpäolinlösung und benutzte die folgenden anorganischen Gemische.

$p_H$ :	8,0	2,7	2,53	2,4	2,34	2,30	2,25	2,15	2,09	1,92	1,80
ccm Fe-Lösung	10	10	10	10	10	8	6	3,5	2,2	0,8	0
ccm Co-Lösung	1,6	2,6	3	6,8	9	10	10	10	10	10	10

Ein Vergleich der einem  $p_H$  von 3 entsprechenden Lösungen bei Benutzung von Citratpuffern ergab sowohl im 60-mm- als auch im 20-mm-Rohr für die Indikatorlösung einen wesentlich dunkleren Farbton als für das Eisen-Kobaltgemisch, was auf eine schwächere Absorption des letzteren zurückzuführen ist, die vor allem im violetten Teile besonders augenfällig wird (Sp. 4 der Abb. 2). Wenn man jedoch das

anorganische Gemisch in 20 mm Höhe mit der Farbstofflösung in 10 mm Höhe verglichen, in welchem Falle Farbton und Farbtiefe nahezu übereinstimmten, wies umgekehrt die Fe-Co-Lösung im violetten Bezirk die stärkere Absorption auf; ferner war auch ein Unterschied im Spektralbereich 540 bis 570  $\mu\mu$  feststellbar.

Die Unterschiede zwischen Farbstofflösung und anorganischem Vergleichsgemisch sind am anderen Ende obiger Reihe noch größer. So ergab sich für den  $p_H$ -Wert von 1,8 im 60-mm-Rohr, daß die Tropäolinlösung wesentlich dunkler und merklich gelber gefärbt war als das Fe-Co-Gemisch, was bei der spektroskopischen Untersuchung in 20 mm hoher Schicht in einer wesentlich stärkeren Absorption der Farbstofflösung, und zwar nicht nur im violetten, sondern auch im roten Teile des Spektrums zum Ausdruck kam (Sp. 5 der Abb. 2). Durch Zusatz von etwas  $FeCl_3$  zur Kobaltlösung ergab sich ein Gemisch, das in 20 mm hoher Schicht mit der im 10-mm-Rohr betrachteten Tropäolinlösung bezüglich Farbton und Farbtiefe halbwegs gute Übereinstimmung zeigte; die zugehörigen Spektren ließen jedoch auch in diesem Falle Abweichungen erkennen.

### 3. Methylorange als Indikator.

Kolthoff fügte zu je 10 ccm Biphthalat-Laugepuffer 0,4 ccm einer 0,025proz. wässrigen Methylorangelösung und verwendete für die anorganischen Vergleichslösungen die nachstehenden Mischungsverhältnisse.

$p_H$ :	4,6	4,4	4,2	4,05	3,95	3,8	3,6	3,4	3,2	3,05
ccm Fe-Lösung	10	10	10	10	8	6,2	3,5	2,2	0,8	0
ccm Co-Lösung	2,8	3,8	6,5	9	10	10	10	10	10	10

Der Vergleich einer mit Methylorange in der oben angegebenen Menge versetzten Citrat-Salzsäure-Pufferlösung von  $p_H = 4,6$  mit dem entsprechenden Fe-Co-Gemisch ergab, daß letzteres dunkler gefärbt ist als ersteres, was auf eine bedeutend stärkere Absorption im violetten Teile zurückzuführen ist (Sp. 7 in Abb. 2).

Auch das andere Endglied der Fe-Co-Reihe, entsprechend einem  $p_H$  von 3,05, zeigt im Vergleich zur Indikator-Pufferlösung einen dunkleren und mehr ins Rot gehenden Farbton, was durch eine stärkere Absorption im blauen Spektralbereich zu erklären ist (Sp. 6 in Abb. 2). Durch Zugabe von  $FeCl_3$ -Lösung zum Fe-Co-Gemisch konnte in 12,5 mm hoher Schicht dieselbe Farbtiefe erreicht werden als die Indikator-Pufferlösung im 20-mm-Rohr zeigte; auch die Spektren wiesen einige Ähnlichkeit auf, jedoch im äußersten Violett bestanden noch Unterschiede.

## 4. Neutralrot als Indikator.

Auf je 10 ccm Phosphatgemisch verwendete *Kolthoff* 0,2 ccm einer 0,05proz. Lösung von Neutralrot in verdünntem Alkohol und nachstehende anorganische Vergleichsgemische.

$p_H$ :	8,0	7,8	7,6	7,4	7,2	7,0
ccm Fe-Lösung . . .	7	6	5	4,5	3	1
ccm Co-Lösung . . .	3	4	5	5,5	7	9

Die einem  $p_H$ -Wert von 7 entsprechende, mit Neutralrot versetzte Citrat-Lauge-Pufferlösung wies sowohl bei Betrachtung im 60-mm-Rohr als auch in 20 mm Schichtdicke gegenüber dem zugehörigen Fe-Co-Gemisch ganz bedeutende Unterschiede auf (Sp. 9 in Abb. 2).

Ebenso ausgeprägt war der Unterschied auch beim Vergleich der beiden Lösungen für  $p_H = 7,8$  (Sp. 10 in Abb. 2). Ähnlich wie bei den anderen Indikatoren war es auch hier möglich, durch Variierung der Konzentrationsverhältnisse der beiden Salze sowie der wirksamen Schichthöhe zwischen den Fe-Co-Gemischen und den Neutralrotlösungen weitgehende Übereinstimmung in Farbton und Farbtiefe zu erzielen, doch zeigten auch in diesem Falle die Spektren starke Abweichungen.

*Aus dem Vorstehenden ergibt sich, daß es nicht möglich ist, mit Hilfe von Fe- und Co-Salzen Lösungen zu erzeugen, die jenen mit Methylrot, Tropäolin 00, Methylorange und Neutralrot als Indikatoren versetzten in Farbton und Farbtiefe ähnlich sind, bei gleichzeitiger annähernder Übereinstimmung der Absorptionsspektren.*

## C. Die Dauerreihen mittels Chromaten und Bichromaten.

*Michaelis*<sup>1)</sup> hat unter Verwendung von m- und p-Nitrophenol sowie  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Dinitrophenol Dauerreihen angegeben, die wir im 40-mm-Rohr mittels Puffergemischen überprüften und die hierbei im allgemeinen eine gute Übereinstimmung zeigten. Da diese Indikatorlösungen aber mit der Zeit doch etwas ausbleichen, sind durch *W. Windisch* und Mitarbeiter<sup>2)</sup> einerseits, durch *Kolthoff* andererseits anorganische Vergleichsreihen unter Verwendung von Chromaten bzw. Bichromaten angegeben worden, über deren optische Überprüfung wir im nachstehenden berichten.

<sup>1)</sup> *L. Michaelis* und *A. Gyemant*, diese Zeitschr. 109, 165 bis 210, 1920; *L. Michaelis* und *R. Krüger*, ebendasselbst 119, 307 bis 327, 1921; *L. Michaelis*, Deutsch. med. Wochenschr. 46, 1238, 1920; 47, 673, 1921; Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 42, 75, 1921; Wochenschr. f. Brauerei 88, 107, 1921; *I. Michaelis* und *M. Mizutani*, diese Zeitschr. 147, 7 bis 21, 1924.

<sup>2)</sup> *W. Windisch*, *W. Dietrich* und *P. Kolbach*, Wochenschr. f. Brauerei 89, 79, 1922.

1. Vergleich der Dauerreihen nach *Michaelis* mit den Chromat- und Bichromatreihen nach *Windisch* und Mitarbeiter.

a) Ersatzlösungen für die  $\alpha$ -Dinitrophenolreihe nach *Michaelis*.

$p_H$ :	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4
ccm m/100 $K_2CrO_4$ .	0,5	0,9	1,2	1,7	2,5	3,5	4,7	2,9	3,9
ccm $H_2O$ . . . . .	20	20	20	20	20	20	20	10	10

Von den beiden Reihen wurden die den fett gedruckten  $p_H$ -Werten entsprechenden Lösungen im 60-mm-Rohr miteinander verglichen und eine nahezu vollkommene Übereinstimmung derselben in Farbton und Farbtiefe sowie eine weitgehende Ähnlichkeit der Absorptionsspektren festgestellt.

b) Ersatzlösungen für die  $\gamma$ -Dinitrophenolreihe nach *Michaelis*.

$p_H$ :	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	5,4
ccm m/50 $K_2Cr_2O_7$ .	0,7	1,1	1,7	2,6	3,8	2,6	3,3	4,5
ccm $H_2O$ . . . . .	20	20	20	20	20	10	10	10

Der Vergleich der beiden Lösungen für die fett gedruckten  $p_H$ -Werte im 60-mm-Rohr ergab für die Glieder der *Michaelis*schen Reihe eine stärkere Färbung als für jene der Bichromatreihe, und zwar war der Unterschied für  $p_H = 4$  kaum merklich, nahm jedoch mit steigender Konzentration immer mehr zu.

c) Ersatzlösungen für die  $p$ -Nitrophenolreihe nach *Michaelis*.

$p_H$ :	5,4	5,6	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0
ccm m/100 $K_2CrO_4$ .	0,8	1,0	1,7	2,6	1,8	2,9	4,0	7,5	10
ccm $H_2O$ . . . . .	20	20	20	20	10	10	10	10	10

In diesem Falle konnte zwischen den im 60-mm-Rohr verglichenen, den fett gedruckten  $p_H$ -Werten entsprechenden Lösungen sowohl bei der kolorimetrischen als auch bei der spektroskopischen Untersuchung eine weitgehende Übereinstimmung beobachtet werden.

d) Ersatzlösungen für die  $m$ -Nitrophenolreihe nach *Michaelis*.

$p_H$ :	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0	8,2	8,4
ccm m/100 $K_2CrO_4$ .	1,5	1,4	2,0	1,5	2,5	4,0	7,0	8,0
ccm m/50 $K_2Cr_2O_7$ .	0,1	0,2	0,5	0,5	1,0	1,0	1,6	2,5
ccm $H_2O$ . . . . .	20	20	20	10	10	10	10	10

Verglichen wurden die beiden Reihen für die fett gedruckten  $p_H$ -Werte im 60-mm-Rohr; hierbei ergab sich sowohl im Kolorimeter als auch im Spektroskop für  $p_H = 7,0$  und  $7,4$  eine gute, für  $7,8$  eine halbwegs gute Übereinstimmung, während für  $p_H = 8,2$  die Indikatorlösung deutlich dunkler gefärbt als die anorganische Vergleichslösung war.

2. Die Chromat- und Bichromatreihen nach Kolthoff<sup>1)</sup>.

a) Die Chromatreihen.

Kolthoff hat folgende Tabelle für 15° C angegeben:

ccm 0,1 proz. $K_2CrO_4$ . . . . .	0,3	0,45	0,7	1,1	1,5	1,8	2,3	3,1	3,7	4,0
Entspricht $p_H$ auf $\alpha$ -Dinitrophenol (0,2 ccm 0,1 proz. Indikator auf 10 ccm) . . . . .	2,95	3,18	3,35	3,55	3,75	3,95	4,15	4,35	4,60	—
Entspricht $p_H$ auf p-Nitrophenol (0,2 ccm 0,3 proz. Indikator auf 10 ccm) . . . . .	(5,62)	5,70	5,78	5,93	6,1	6,24	6,45	6,8	7,05	7,15
(0,1 ccm 0,3 proz. Indikator auf 10 ccm) . . . . .	—	—	—	—	—	7,13	7,36	7,55	—	—

Für die fett gedruckten  $p_H$ -Werte wurde die kolorimetrische und spektroskopische Untersuchung im 60-mm-Rohr durchgeführt, und zwar kamen beim  $\alpha$ -Dinitrophenol Salzsäure-Citratpuffer, beim p-Nitrophenol Phosphatpuffer zur Anwendung. Hierbei ergab sich für  $p_H = 2,95$  eine gute, für  $p_H = 6,15$ ,  $6,45$  und  $7,15$  eine leidlich gute Übereinstimmung zwischen den Indikatorpufferlösungen und den anorganischen Vergleichslösungen. Eine wesentlich dunklere Färbung der letzteren hingegen war zu konstatieren für  $p_H = 3,35$ ,  $3,95$  und  $4,60$ , während im Gegensatz hierzu für  $p_H = 5,7$  ein hellerer Farbton als bei den Indikatorlösungen in Erscheinung trat.

b) Die Bichromatreihen.

Für die Verwendung von Bichromat gab Kolthoff die folgende Zusammenstellung (für 15° C):

ccm 0,1 proz. $K_2Cr_2O_7$ . . . . .	0,23	0,35	0,55	0,72	1,1	1,55	1,8	2,2	3,0
Entspricht $p_H$ auf $\gamma$ -Dinitrophenol (0,2 ccm 0,1 proz. Indikator auf 10 ccm) . . . . .	3,95	4,05	4,25	4,45	4,65	4,85	5,05	5,25	5,45
Entspricht $p_H$ auf m-Nitrophenol (0,4 ccm 0,3 proz. Indikator auf 10 ccm) . . . . .	7,0	7,2	7,5	7,7	7,9	8,1	8,3	8,5	—

Es wurde wieder für die fett gedruckten  $p_H$ -Werte die kolorimetrische und spektroskopische Prüfung bei 60 mm Schichthöhe vorgenommen, und zwar unter Verwendung von Salzsäurecitratpuffern beim  $\gamma$ -Dinitro-

<sup>1)</sup> Der Gebrauch von Farbindikatoren, 2. Aufl. Berlin 1923.

phenol und Phosphatpuffern beim m-Nitrophenol. Hierbei ergab sich für  $p_H = 3,95, 5,05, 7,0$  und  $7,5$  eine halbwegs gute Übereinstimmung, während bei  $p_H = 4,45, 5,45, 8,1$  und  $8,5$  die Bichromatlösung einen wesentlich dunkleren Farbton aufwies als die entsprechende Indikator-Pufferlösung.

Die zur Herstellung der anorganischen Dauerreihen benutzten Chemikalien stammten von *Merck* (Darmstadt), bzw. *Kahlbaum* (Berlin), die verwendeten Indikatoren von den *Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf* in Berlin mit alleiniger Ausnahme des Tropäolin 00, das von *Dr. Grübler & Co.* in Leipzig bezogen wurde.

#### D. Zusammenfassung.

*Die Verwendung von anorganischen Dauerreihen aus Eisen- und Kobaltsalzen zum Vergleich mit den durch zweifarbige Indikatoren hervorgerufenen Farbtönen ist nicht empfehlenswert, da die entsprechenden Absorptionsspektren voneinander wesentlich abweichen und demnach ein objektives Urteil über das Auftreten von Farbgleichheit nicht gewährleistet erscheint.* Es wäre vielmehr jeder Untersucher genötigt, entsprechend der individuellen Empfindlichkeit seines Auges für die verschiedenen Wellenlängen, sich die passenden Mischungsverhältnisse selbst zusammenzustellen.

*Chromate und Bichromate hingegen sind für die Herstellung anorganischer Dauerreihen, die zum Vergleich mit Nitrophenolen und Dinitrophenolen dienen sollen, gut verwendbar, da sie bei Einstellung auf die gleiche Farbtiefe mit den genannten Indikatoren genügend übereinstimmende Absorptionsspektren liefern, soweit sich dies mit Prismenspektroskopen überhaupt feststellen läßt.* Es hat sich jedoch gezeigt, daß die in der Literatur sich findenden Angaben über anorganische Vergleichslösungen mit den entsprechenden Indikatorlösungen in der Farbtiefe zum Teil nur *mangelhaft* übereinstimmen.

---



# Über die Totenstarre und die postmortale Säurebildung in verschiedenen Organen des Tierkörpers insbesondere unter dem Einfluß von Giften.

Von  
José de Nito.

(Aus dem pathologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 6. Mai 1926.)

Die Totenstarre ist eine Fortsetzung der Lebenstätigkeit des Muskels. Diese alte, über die eigentlichen Vorgänge wenig aussagende Lehre *Nystens* aus dem Jahre 1811 hat erst durch die Erkenntnis der Analogie der chemischen Prozesse im Muskel bei der physiologischen Kontraktion und beim Eintritt der Totenstarre eine sichere Unterlage gewonnen. Der Unterschied zwischen Kontraktion und Starre besteht im wesentlichen darin, daß die unter dem Einfluß der gebildeten Milchsäure und der sauren Phosphate eintretende Kontraktion des Muskels beim lebenden Organismus reversibel ist, während die Starrekontraktion einen Dauerzustand darstellt. Bei der physiologischen Kontraktion verschwinden die sauren Bestandteile wieder unter dem Einfluß der Blutzirkulation, d. h. der Muskel erholt sich, bei der Starre hingegen bleiben die sauren Valenzen erhalten. Wenn also schon kein Zweifel mehr darüber besteht, daß die Säurebildung das ursächliche Moment ist, so gehen doch die Anschauungen über die zur Starre führenden physikalisch-chemischen Prozesse weit auseinander. Und gerade dieses Problem beansprucht ein besonderes Interesse, weil seine Lösung mit der Frage nach der Quelle der Muskelkraft in innigem Zusammenhang steht.

Die alten Forscher, wie *Brücke* und *Kühne*, dachten sich das Zustandekommen der Leichenstarre als einen mit dem Blutgerinnungsvorgang identischen bzw. analogen Eiweißgerinnungsprozeß. Später hat die *Engelmannsche* Anschauung mehr und mehr Anklang gefunden. *Engelmann* faßt die Totenstarre als einen Quellungsvorgang des Eiweißes unter dem Einfluß der postmortal gebildeten Säure auf. Zu den Anhängern der Säurequellungstheorie zählt auch *v. Fürth*<sup>1)</sup>. Er stellt sich vor, daß die

<sup>1)</sup> *v. Fürth* und *Lenk*, diese Zeitschr. 68, 1911.

freie Milchsäure die kontraktile Substanz zur Quellung bringt. Die schwerwiegenden Bedenken, die auch von *Meyerhof*<sup>1)</sup> gegen diese Theorie geltend gemacht werden, liegen darin, daß die zur Quellung erforderliche freie Säure „in statu nascendi“ vornehmlich durch Alkalieweiß neutralisiert und der isoelektrische Punkt nach der sauren Seite nicht überschritten wird, und daß ferner das Eiweiß des ermüdeten Muskels weniger quellbar ist, als das des unermüdeten. Diese Entionisierung des Eiweißes ist nach *Hill*<sup>2)</sup> mit erheblicher anaerober Wärmeentwicklung verknüpft, deren Auftreten nur auf diese Weise erklärbar ist. Weiter müßte eine Säure-Eiweißspaltung sich durch eine erhebliche Volumenzunahme zu erkennen geben, da nach landläufigen Begriffen mit jeder Quellung eine *allseitige* Volumenzunahme verknüpft ist. Eine solche ist aber beim Muskel nicht nachweisbar, es bedarf daher nach *Fürth* einer *Hilfshypothese*, d. h. der Annahme einer ultramikroskopischen Struktur der kontraktilen Substanz und einer zweiten *Hilfshypothese*, wonach sich das quellende Eiweiß bloß nach einer Richtung ausdehnt. Eine Widerlegung dieser Vorstellungen *Fürths* für die Muskelkontraktion, die auch für die Totenstarre gilt, findet sich bei *O. Meyerhof* (a. a. O.). Eine besondere Schwierigkeit dürfte den Anhängern der Säurequellungstheorie auch die Erklärung jener *alkalischen* Totenstarre<sup>3)</sup> bereiten, die nach Inanitions-, Hunger- und Insulintod auftritt.

Durch fortlaufende Untersuchung des Skelettmuskels und seines wässerigen Kochextrakts beim getöteten Kaninchen konnte *Wacker*<sup>4)</sup> feststellen, daß sofort nach dem Tode im amphoterem Muskelextrakt die alkalischen Valenzen überwiegen. Die Alkaleszenz geht aber rasch zurück, und nach 6 bis 7 Stunden überwiegen die sauren Bestandteile (Monophosphate) die alkalischen (Diphosphate, Carbonate und Alkalieweißverbindungen) um ein Mehrfaches, und damit setzt auch die Starre im normalen unversehrten Muskel ein. Die Säurebildung geht in der ersten halben Stunde nach dem Tode am raschesten vor sich und flaut allmählich mehr und mehr ab. Nach *Fletcher*<sup>5)</sup> treibt die gebildete Milchsäure Kohlensäure aus dem Muskel aus. Die Menge der Kohlensäure geht parallel mit der Milchsäureproduktion, daher ist sie am stärksten in der ersten Stunde nach dem Tode und nimmt dann rapid ab. Das Verhältnis von Säure zu Alkali (ausgedrückt in Kubikzentimeter n/10 KOH bzw. ClH) haben *Oppenheim* und *Wacker*<sup>6)</sup> als Säurealkaliindex bezeichnet. Die Größe des Index ist ein Maßstab für die Menge der gebildeten Milchsäure<sup>6)</sup> und

<sup>1)</sup> *O. Meyerhof*, Handb. d. normalen u. pathol. Physiol. 8 (I), 534, 1925.

<sup>2)</sup> *A. V. Hill, Long und Lupton*, Journ. of Biol. 52, 263; Chem. Centralbl. 1922, IV, 53; *O. Meyerhofs* Handb. d. normalen u. pathol. Physiol., S. 520 bis 522.

<sup>3)</sup> *Fr. Oppenheim und L. Wacker*, Berl. klin. Wochenschr. 56, 990, 1919; *H. Bauer, R. Kuhn und L. Wacker*, Münch. med. Wochenschr. 1924, S. 169; *R. Kuhn und H. Baur*, ebendasselbst 1924, S. 541.

<sup>4)</sup> *L. Wacker*, diese Zeitschr. 75, 101, 1916.

<sup>5)</sup> *W. M. Fletcher*, Journ. of Physiol. 23, 1898.

<sup>6)</sup> *Fr. Oppenheim und L. Wacker*, a. a. O.

die Leistungsfähigkeit des Muskels im Moment des Todes. Beispielsweise ist der Index des frischen Muskels des Hinterbeins vom Kaninchen sofort nach dem Tode etwa 1,5 und steigt im Verlauf von 24 Stunden im Maximum bis auf 4,7. Die Muskeln der Vorderläufe des Kaninchens (und Meerschweinchens) erreichen einen weniger hohen Index, stehen also an Leistungsfähigkeit hinter den Hinterbeinen zurück. Die Beziehungen von Index und Intensität wurden von *Oppenheim* und *Wacker* a. a. O. eingehender an menschlichen Leichen studiert. Über den Fußbrücken, der Verbindungslinie beider Knöchel entsprechend, wurde der Bügel einer Wagschale gelegt und durch Auflegen von Gewichten auf die Wagschale das zur Beugung des Beines im Kniegelenk erforderliche Gewicht bestimmt. Beim Menschen erreichte der Index nur selten den Höchstwert von 4. Naturgemäß trifft man hohe Zahlen nicht nach langer Krankheit, sondern bei plötzlichen Todesfällen mitten aus der Tätigkeit heraus oder auch bei Selbstmord. Die Starre kann in solchen Fällen so erheblich sein, daß zu ihrer gewaltsamen Lösung am Bein ein Gewicht notwendig ist, das ungefähr dem Körpergewicht des betreffenden Menschen entspricht. Umgekehrt erreicht der Index nach kachektischen Erkrankungen auch nach 24 Stunden oft kaum den Wert von 1. Dementsprechend ist die Totenstarre dann auch sehr gering und kurz anhaltend, und es genügt oft schon das Gewicht der leeren Wagschale, um das am Kniegelenk unterstützte Bein zu senken. In solchen Fällen ist im Muskel keine Glykogenspeicherung mehr nachzuweisen.

Ähnliche Verhältnisse obwalten, wie *Baur*, *Kuhn* und *Wacker* a. a. O. nachgewiesen haben, auch beim Hunger- und Insulintod. Ebenso wie bei Inanition und Kachexie verarmt im Hunger das Blut an Zucker und der Muskel an Glykogen. Da das Glykogen die Muttersubstanz zur Milchsäurebildung ist, kann sich bei Abwesenheit von Glykogen keine Säure bilden. Die vorwiegend alkalische Reaktion des Muskels bleibt also auch nach 24stündigem Liegen des Muskels bestehen. Der Säurealkaliindex beträgt z. B. im Muskel des verhungerten Kaninchens sofort nach dem Tode 0,37 und nach 24 Stunden 0,41. Ein solcher Muskel verhält sich also wie ein ausgeruhter frischer (gleich nach dem Tode untersuchter) Muskel. Führt man einem Kaninchen übermäßige Mengen von Insulin zu, so sinkt der Blutzuckerspiegel so stark, daß auch der Muskel an Kohlehydrat verarmt. Es fehlt also auch beim Insulintod wie im Hunger die Muttersubstanz der Milchsäure, und der Muskel bleibt nach dem Tode vorwiegend alkalisch.

Bemerkenswert ist ferner die Beobachtung *Wackers* beim Warmblüter<sup>1)</sup>, und von *de Nito*, *Oberzimmer* und *Wacker*<sup>2)</sup> beim Kaltblüter,

<sup>1)</sup> *L. Wacker*, diese Zeitschr. 75, 1916.

<sup>2)</sup> *de Nito*, *Oberzimmer* und *Wacker*, Zeitschr. f. Biol. 81, 1924.

daß im Kochextrakt des frischen Muskels ionisiertes, an Alkali gebundenes Eiweiß in weit größerer Menge vorhanden ist, als im Muskel nach Ermüdung durch elektrische oder chemische Reizung oder nach längerem Liegen bis zum spontanen Eintritt der Totenstarre. Daraus ist zu schließen, daß das an Alkali gebundene Eiweiß unter dem Einfluß der Säurebildung, d. h. also sowohl bei starker Ermüdung oder bei der Totenstarre unter Abscheidung der unlöslichen Eiweißkomponente zerlegt wird. Beim Eintritt der Starre wird dieses Eiweiß im Muskel selbst mehr und mehr — je nach der Menge der gebildeten Säure — ausgefällt und bleibt in unlöslicher Form in ihm liegen. Dieses Fällungseiweiß ist im Gegensatz zu dem in Alkali gelösten mehr dickflüssig und gelatinös und trägt daher zur Versteifung des Muskels bei. Das trübe opake Aussehen des starren Muskels ist auf die Eiweißabscheidung zurückzuführen. Das Auftreten solcher Alkalieiwweißverbindungen im Muskel bestreitet *Fürth* und glaubt die von *Wacker* im Kochextrakt nachgewiesenen Eiweißkörper als durch den Kochprozeß entstandene Zersetzungsprodukte auffassen zu müssen. Nach den Feststellungen *Hills* und *Meyerhofs* a. a. O. dürfte jedoch bezüglich der Existenz des ionisierten Eiweißes im Muskel kein Zweifel mehr bestehen, und gerade *Hill* mißt der Einwirkung von Milchsäure auf die Alkaliproteine eine so große Bedeutung bei, daß sie ihm zur Aufstellung einer Theorie [Gelatinierungstheorie<sup>1)</sup>] Veranlassung gab. Die Totenstarre ist daher nach *Wacker* durch einen gleichzeitig eingreifenden Komplex von Erscheinungen bedingt, nämlich durch osmotischen Druck, infolge des Molekülzuwachses beim Abbau des Glykogens (und eventuell Lactacidogens) zur Milchsäure, durch Kohlensäuredruck als Folge der Austreibung der Kohlensäure aus Natriumbicarbonat durch die Milchsäure und durch die erwähnte Eiweißfällung. Die Lösung der Starre erfolgt durch osmotischen Druckausgleich und Entweichen von Kohlensäure. Auch autolytische Prozesse können in Frage kommen. Diese würden auch die tagelang anhaltende Kohlensäureproduktion des isolierten Muskels erklären<sup>2)</sup>. Die hervorstechendsten Erscheinungen der Totenstarre werden natürlich durch den Skelettmuskel verursacht, aber auch im Herzmuskel macht sich eine Starre, und zwar schon früher als im Skelettmuskel bemerkbar<sup>3)</sup>. Der linke Ventrikel bildet im Einklang mit seiner größeren Leistungsfähigkeit mehr Säure als der rechte, hat also normaliter einen höheren Index. Nach *Oberzimmer* und *Wacker* kann man aus dem am Leichenherz ermittelten Index den Zustand des

<sup>1)</sup> *A. V. Hill*, „Nature“, 14. Juli 1923. Handb. d. normalen u. pathol. Physiol. 8 (I), 536, 1925.

<sup>2)</sup> *L. Wacker*, diese Zeitschr. 79, 1919.

<sup>3)</sup> Literatur hierüber bei *W. Gerlach*, „Ergebnisse der Pathologie“, 20. Jahrg., 2. Abteilung.

Herzens im Moment des Todes beurteilen. Eine hohe Zahl findet sich bei Hypertrophie, und ein Index kleiner als 1 deutet mit Sicherheit auf eine Insuffizienz<sup>1)</sup>.

Auch die glatte Muskulatur verfällt nach dem Tode in einen Starrezustand<sup>2)</sup>. Schon *Kühne* hat bei Hunden nach dem Tode eine Verkleinerung der Blase nachgewiesen, die wahrscheinlich auch die Ursache ist, daß tote Tiere häufig einige Zeit nach dem Tode Harn lassen. Ein besonderes Augenmerk haben *Aschoff* und *Mangold* der Lageveränderung des Magens unter dem Einfluß der Starre gewidmet und festgestellt, daß die Magenstarre viele Tage anhalten kann.

Die Erscheinung der postmortalen Säurebildung beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Muskelarten, sondern sie ist, wie die folgenden Untersuchungen und die Arbeiten von *Warburg*<sup>3)</sup> und Mitarbeitern zeigen, mehr oder weniger in allen Organen zu beobachten. Auch die Glykolyse im Blute dürfte dieser Allgemeinerscheinung zuzuzählen sein. So ist bereits bekannt, daß die Leber postmortal sauer wird und bei der Durchblutung Milchsäure bildet. Die Säure verursacht in der Leber eine Trübung des Zellinhalts und eine Eiweißgerinnung. Der Vorgang erinnert also in jeder Hinsicht an die Muskelstarre, besonders da das vorher weiche Leberparenchym brüchig wird<sup>4)</sup>.

Zur weiteren Klärung der Verhältnisse habe ich noch beim Kaninchen und Meerschweinchen an einer Reihe von Organen vergleichende Untersuchungen durchgeführt und auch den Einfluß von Giften studiert.

#### Experimenteller Teil.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen und Meerschweinchen. Ich stellte den Säurealkaliindex von Skelettmuskel, Herz, Leber, Nieren und Lungen sofort nach dem Tode und nach längerer Zeit, in der Regel nach 24 Stunden, fest. Die Tiere wurden durch Nackenschlag, Entblutung oder Gift getötet. Auch Hungertiere wurden untersucht. Die Einzelheiten über die Art der Versuche, Menge des Giftes usw. sind in den Tabellen I und II verzeichnet. Die gleich nach dem Tode herausgenommenen Gewebstücke wurden auf einer gut ziehenden Handwage abgewogen und die Hautwunde wieder sorgfältig geschlossen, um ein Austrocknen der Organe bis zur zweiten Entnahme — nach 24 Stunden — zu verhindern. Vom Muskel und der Leber konnten jeweils 15 g verarbeitet werden, von den paarigen Organen wurde der eine Teil sogleich, der andere nach 24 Stunden untersucht. Zur

<sup>1)</sup> *Oberzimmer* und *Wacker*, *Virchows Arch.* **236**, 1922.

<sup>2)</sup> *L. Aschoff*, Über den Engpaß des Magms. Jena 1918. *E. F. Hirsch*, *Journ. of biol. Chem.* **45**, 297, 1920. *E. Mangold*, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **12**, 1921; *Pflügers Arch.* **120**, 1921. Weitere Literatur bei *W. Gerlach*, a. a. O., S. 277.

<sup>3)</sup> *Warburg*, *Posener*, *Negelein*, diese *Zeitschr.* **152**, 1924.

<sup>4)</sup> *Ploßz*, *Pflügers Arch.* **7**, 1873; *Embden* und *Kraus*, diese *Zeitschr.* **45**, 1912.

Tabelle I. Postmortale Säure

Nr.	Datum	Tierart	Gewicht g	Todesart	Unter- suchung in Stdn. nach dem Tode	Skelettmuskel		
						Acidität	Alkalinität	Index
1	28. II. 24.	Kaninchen .	2840	Nackenschlag	Sofort	49,3	33,3	1,1
					6 Stdn.	—	—	—
					24 " 96 "	53,3	20,0	2,5
2	9. III. 24.	Kaninchen .	3150	Fettembolie	Sofort	—	—	—
					8 Stdn.	48,0	22,7	2,1
					24 "	—	—	—
3	10. IV. 24.	Kaninchen .	2750	Entblutet aus Carotis	Sofort	56,0	33,3	1,5
					8 Stdn.	73,3	17,3	4,1
4	8. V. 24.	Kaninchen .	1800	Entblutet aus Carotis	Sofort	57,3	34,7	1,6
5	7. VII. 25.	Kaninchen .	2800	Nackenschlag	24 Stdn.	69,3	14,7	4,7
					Sofort	56,0	37,3	1,5
6	26. VII. 25.	Kaninchen .	2350	Nackenschlag	24 Stdn.	61,3	13,3	4,4
					Sofort	66,7	24,0	2,7
7	30. IV. 24.	Kalb . . . .	—	Entblutung im Schlachthaus	6 $\frac{1}{2}$ "	—	—	—
					24 "	—	—	—
8	23. VII. 25.	Meerschweinchen	418	Nackenschlag	Sofort	38,0	34,0	1,1
					24 Stdn.	58,0	10,0	5,8

Tabelle II. Postmortale Säure

Nr.	Datum	Tierart	Gewicht g	Todesart	Unter- suchung in Stdn. nach dem Tode	Skelettmuskel		
						Acidität	Alkalinität	Index
1	9. VII. 25.	Kaninchen .	2520	Strychninvergiftung	Sofort	61,3	24,0	2,5
					24 Stdn.	84,0	12,0	7,0
2	16. VII. 25.	Kaninchen .	2450	Strychninvergiftung	Sofort	73,3	20,0	3,6
					(20 Min.) 24 Stdn.	80,7	20,0	5,0
3	31. VII. 25.	Kaninchen .	2540	Kaliumrhodanatvergiftung	Sofort	57,3	29,1	2,0
					24 Stdn.	80,0	13,3	6,0
4	3. VIII. 25.	Kaninchen .	2020	Kaliumrhodanat	Sofort	64,0	26,7	2,4
					24 Stdn.	74,7	13,3	5,6
5	10. VIII. 25.	Kaninchen .	4600	Curarevergiftung	Sofort	58,7	36,7	1,6
					24 Stdn.	80,0	13,3	6,0
6	17. VII. 25.	Kaninchen .	3620	Curarevergiftung	Sofort	49,5	42,5	1,1
					24 Stdn.	81,3	17,3	4,6

ildung bei normalen Tieren.

Herz			Leber			Nieren			Lungen			Bemerkungen
Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	
—	—	—	18,6	21,3	0,9	14,3	22,8	0,6	6,8	—	—	Acidität und Alkaleszenz ausgedrückt in Kubikzentimetern
—	—	—	18,6	14,7	1,3	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	38,6	18,6	2,0	31,4	20,0	1,5	31,4	17,1	1,8	n/10 Kalilauge bzw. Salzsäure und umgerechnet auf 100 g Organ
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Säure-Alkaliindex = $\frac{\text{Acidität}}{\text{Alkaleszenz}}$
—	—	—	22,7	18,7	1,2	16,9	26,5	0,6	—	—	—	
8,5	8,8	3,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Säure-Alkaliindex < 0,5 entsprechend Milchsäure < 0,02 Proz.
—	—	—	40,0	14,7	2,7	26,2	23,8	1,1	—	—	—	
—	—	—	34,7	23,3	1,5	21,2	23,7	0,9	12,3	27,7	0,4	Säure-Alkaliindex 0,5—1,0 entsprechend Milchsäure 0,02—0,10 Proz.
10,5	15,2	2,0	48,0	20,0	2,4	29,2	21,9	1,3	17,0	26,8	0,6	Säure-Alkaliindex > 1,0 entsprechend Milchsäure > 0,10 Proz.
2,4	18,0	1,2	26,7	16,0	1,7	20,9	22,8	0,9	12,5	16,7	0,7	Zit. nach Kühn, Baur. Gültig für Skelettmuskel. Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 17
—	—	—	40,0	9,3	4,3	29,6	18,5	1,6	27,0	16,2	1,7	
19,8	17,6	1,1	30,7	21,3	1,4	18,2	33,3	0,5	10,8	32,4	0,3	
—	—	—	52,0	24,0	2,2	35,5	32,2	1,1	32,4	27,2	1,2	
14,6	17,6	1,4	29,3	23,3	1,2	15,6	21,9	0,7	12,0	16,0	0,7	
—	—	—	46,7	12,0	3,9	29,0	19,3	1,5	32,0	16,0	2,0	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	18,7	17,3	1,1	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	22,7	22,7	1,0	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

ildung bei vergifteten Tieren.

Herz			Leber			Nieren			Lungen			Bemerkungen
Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	Acidität	Alkaleszenz	Index	
28,6	14,3	2,0	24,0	13,3	1,8	14,7	23,5	0,6	10,0	20,0	0,5	Intravenöse Injektion von 1 ccm = 0,002 g Strychninitrat. Das Tier stirbt sofort unter heftigen Krämpfen. Die Totenstarre beginnt nach 1 Std. an den hinteren Extremitäten
—	—	—	45,3	14,7	3,0	28,5	17,1	1,7	22,8	17,1	1,3	
—	—	—	24,0	17,3	1,3	19,0	17,2	1,1	20,0	20,0	1,0	Subkutane Injektion von 0,8 ccm = 0,0016 g Strychninitratlösung. Stirbt unter heftigen Krämpfen nach etwa 30 Min. Eintritt der Todesstarre nach 15 Min.
34,0	9,0	3,8	38,1	16,0	2,4	31,2	15,8	2,0	27,3	13,6	2,0	
25,7	17,9	1,4	33,3	18,7	1,6	21,6	21,6	1,0	10,1	15,2	0,6	3 ccm 1proz. Kaliumrhodanatlösung intravenös
—	—	—	45,3	13,3	3,4	32,9	19,2	1,7	20,8	16,7	1,2	Tod sofort. Totenstarre nach 4 Stdn.
—	—	—	21,3	14,7	1,4	23,2	51,1(1)	0,4	18,6	18,6	1,0	2 ccm 1proz. Kaliumrhodanatlösung subkutan. 9h 20' vorm., 10h weitere 2 ccm subkutan. 10h 15' weitere 2 ccm intravenös.
31,6	10,5	3,0	41,3	12,0	3,3	37,9	20,7	1,8	27,6	17,2	1,6	12h 15' tot. Totenstarreintritt nach 3 Stdn.
—	—	—	20,0	13,3	1,5	20,2	26,1	0,8	17,1	22,8	0,7	2 ccm einer 1proz. Curarelösung intravenös.
—	—	—	101,3	18,7	5,4	32,3	20,2	1,6	33,3	18,7	1,7	Tod nach 5 Min.
—	—	—	21,4	24,0	0,8	14,1	31,0	0,4	9,7	19,3	0,5	Totenstarre nach 4 Stdn.
26,0	15,6	1,6	41,4	16,0	2,5	31,0	22,5	1,3	19,3	16,1	1,2	10h 5' vorm. 1 ccm 1proz. Curarelösung subkutan, 10h 30' vorm. 1 ccm 1proz. Curarelösung subkutan, 10h 30' gestorben
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Totenstarre nach 3 Stdn.

Tabelle II

Nr.	Datum	Tierart	Gewicht g	Todeart	Unter- suchung in Stdn. nach dem Tode	Skelettmuskel		
						Acidität	Alkalinität	Index
7	15. VII. 25.	Kaninchen .	3360	Curarevergiftung	Sofort 24 Stdn.	54,7 69,3	33,3 16,0	1,6 4,3
8	6. VIII. 25.	Kaninchen .	4250	Phlorrhizin- vergiftung und dann durch Nackenschlag getötet	Sofort 6 Stdn. 24 " "	68,0 78,7(?) 84,0	26,7 13,3 20,0	2,3 5,9 4,1
9	21. VII. 25.	Kaninchen .	2800	Phlorrhizin- vergiftung und Nackenschlag	Sofort 24 Stdn.	48,0 66,7	45,3 22,7	1,1 2,9
10	11. VII. 25.	Kaninchen .	2620	Phlorrhizin- vergiftung	36 " " 60 " "	53,3 60,0	45,3 40,0	1,1 1,5
11	23. VIII. 25.	Meerschweinchen	420	Phlorrhizin- vergiftung und Nackenschlag	Sofort 24 Stdn.	36,0 48,0	46,0 24,0	0,5 2,0
12	28. VII. 25.	Kaninchen .	2620	Ammoniumchlorid	Sofort 24 Stdn.	54,7 72,0	32,0 10,7	1,7 6,7
13	31. VII. 25.	Kaninchen .	2100	Ammoniumchlorid	Sofort 24 Stdn.	57,3 76,0	32,0 17,3	1,8 4,3
14	21. VII. 25.	Kaninchen .	2400	Adrenalin	Sofort 24 Stdn.	64,0 82,7	26,7 14,7	2,4 5,6
15	23. VII. 25.	Kaninchen .	2420	Adrenalin	Sofort 24 Stdn.	60,0 81,3	43,7 24,0	1,6 3,3
						Postmortale Säurebildung		
16	11. IV. 26.	Kaninchen .	1700	Insulin	Sofort 24 Stdn.	34,6 52,0	58,6 48,0	0,59 1,08
17	13. IV. 26.	Kaninchen .	1900	Insulin	Sofort 36 Stdn.	40,0 52,0	66,0 38,6	0,60 1,34
18	20. IV. 26.	Kaninchen .	1750	Insulin	Sofort 24 Stdn.	28,0 29,3	54,6 40,0	0,51 0,73
19	22. I. 24.	Kaninchen .	Anfangsgewicht 1700 g Endgewicht 1060 g	Hunger 8 × 24 Stdn.	4 " " 14 " "	21,3 23,3	57,3 57,3	0,37 0,41
20	15. II. 24.	Kaninchen .		Hunger	1 Std. 3 Stdn. 8 " "	— — —	— — —	— — —
21	5. III. 24.	Kaninchen .	Anfangsgewicht 2920 g Endgewicht 1840 g	Hunger 12 × 24 Stdn.	Sofort 24 Stdn.	— 34,7	— 50,7	— 0,68



Fortsetzung).

Herz			Leber			Nieren			Lungen			Bemerkungen
Acidität	Alkalieszenz	Index	Acidität	Alkalieszenz	Index	Acidität	Alkalieszenz	Index	Acidität	Alkalieszenz	Index	
10,0	12,4	1,6	24,0	20,0	1,2	16,0	24,0	0,6	14,4	21,7	0,6	2 ccm Curare 1proz. subkutan. Eintritt des Todes nach 2 Stdn.
—	—	—	38,7	17,3	2,2	36,0	12,0	3,0	31,7	9,5	3,3	
—	—	—	18,7	25,3	0,7	21,2	21,2	1,0	15,6	18,7	0,8	
13,7	9,0	3,7	54,7	23,3	2,4	38,6	15,9	2,4	42,6	25,9	1,6	Am 25. VIII. 25 ccm Phlorrhizinlösung = 1,65g subkutan
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Am 26. VIII. 20 ccm Phlorrhizinlösung = 0,40g subkutan. Krämpfe 2 Stdn. nach der letzten Injektion, durch Nackenschlag getötet. Eintritt der Totenstarre nach 3/4 Stdn.
—	—	—	24,0	17,3	1,3	17,5	31,6	0,5	9,0	20,5	0,4	Injektion von 15 ccm einer 0,5 Proz. Phlorrhizinlösung innerhalb von 3 Stdn. in die Ohrvene und dann durch Nackenschlag getötet. Totenstarre nach 10 Min.
14,5	16,4	2,0	45,3	18,7	2,4	35,1	17,6	2,0	21,4	25,0	0,8	
13,4	14,9	1,5	36,0	20,0	1,8	29,2	22,5	1,3	15,4	15,4	1,0	5 ccm einer gesättigten Phlorrhizinlösung intravenös. Tot nach 12 Stdn. Kräftige Totenstarre.
—	—	—	38,7	20,0	1,9	36,6	22,0	1,6	28,0	18,0	1,6	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Erhält innerhalb 2 1/2 Stdn. etwa 3g Phlorrhizinlösung subkutan und wird dann getötet. Rascher Eintritt der Totenstarre. Siehe dazu die Kontrollmeerschweinchen unter Tabelle 1.
—	—	—	50,0	20,0	2,5	—	—	—	—	—	—	
12,6	13,1	3,2	37,3	12,0	3,1	20,0	20,0	1,0	36,2	9,5	3,8	10 ccm einer 10proz. Ammoniumchloridlösung intravenös. Tod sofort. Totenstarre nach 4 Stdn.
—	—	—	50,7	9,3	5,1	42,2	15,4	2,7	44,1	7,5	5,9	
—	—	—	23,3	13,3	1,7	30,0	20,0	1,5	50,0	15,0	3,5	4h nachm. 2 ccm einer 10proz. Ammoniumchloridlösung subkutan, 4h 30' weitere 2 ccm, 4h 50' 10 ccm, 5h 10' Krämpfe, 6h Tod. 7h Eintritt der Totenstarre.
16,7	10,2	6,5	42,7	12,0	3,5	10,0	16,7	4,8	55,9	9,3	6,0	
15,2	31,2	1,8	26,7	20,0	1,3	15,4	30,8	0,5	7,4	18,1	0,4	2 ccm 1 prom. Adrenalin intravenös. Stirbt nach 1 Std. unter heftigen Krämpfen. Eintritt der Totenstarre nach 20 Min.
—	—	—	42,7	16,0	2,6	45,2	25,8	1,7	15,6	13,0	1,2	
—	—	—	29,3	20,0	1,4	21,3	16,0	1,3	10,3	10,3	1,0	10h 1 ccm 1 prom. Adrenalin intravenös, worauf sogleich Lähmung eintritt. 10h 15' 2 ccm 1 prom. Adrenalin subkutan, 11h 30' weitere 2 ccm subkutan, 11h 45' 1 ccm intravenös. Tod 12h 15'. Nach 1 Std. geringe Totenstarre.
25,0	5,5	4,5	49,3	16,0	3,0	58,3	11,1	5,2	24,7	4,7	5,3	

bei Insulin- und Hungertod.

17,4	39,1	0,44	24,0	29,3	0,81	16,0	32,0	0,50	15,0	45,0	0,33	Am 10. IV. um 5h abends 100 Insulineinheiten intravenös, um 7h heftige Krämpfe. 11. IV. 10h 30' vorm. weitere 100 Insulineinheiten intravenös, 10h 40' tot, 12h 50' Totenstarre.
—	—	—	44,0	29,3	1,50	20,0	20,0	1,0	20,0	33,3	0,60	
—	—	—	18,6	34,6	0,53	17,8	42,8	0,41	11,1	33,3	0,33	13. IV. nach eintägigem Hungern um 10h vorm. 100 Insulineinheiten, 4h nachm. Tod unter heftigen Krämpfen. Totenstarre nach 15 Min.
26,6	31,1	0,85	36,0	26,6	1,35	34,2	34,2	1,0	17,3	34,7	0,50	
13,3	31,1	0,42	20,0	41,3	0,48	16,6	30,3	0,55	10,0	30,0	0,33	Am 20. IV. nach 36stündigem Hungern um 10h 30' vorm. 100 Insulineinheiten. Tod unter Krämpfen um 1h nachm. Starre nach 15 Min.
—	—	—	37,3	26,6	1,40	22,2	31,1	0,71	12,5	20,8	0,60	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Unter Verabreichung von Trinkwasser
—	—	—	—	—	—	19,3	41,9	0,46	8,0	40,0	0,20	Unter Verabreichung von Trinkwasser
16,7	41,7	0,40	—	—	—	18,6	32,5	0,57	10,0	50,0	0,20	Unter Verabreichung von Trinkwasser
—	—	—	25,3	22,7	1,11	26,8	26,8	1,00	12,8	34,0	0,37	
20,8	25,0	0,83	36,0	17,3	2,08	32,5	29,2	1,11	22,7	27,3	0,83	

Tabelle III.

Säure-Alkalindex beim normalen, vergifteten und verhungerten Kaninchen vor und nach dem Eintritt der Totenstarre.

Todesursache	Skelettmuskel		Herz		Leber		Nieren		Lungen	
	sofort	24 Stdn. nach dem Tode	sofort	24 Stdn. nach dem Tode	sofort	24 Stdn. nach dem Tode	sofort	24 Stdn. nach dem Tode	sofort	24 Stdn. nach dem Tode
Normales Tier . . .	1,8	4,4	1,2	2,5	1,3	3,0	0,7	1,3	0,5	1,5
Strychninvergiftung	3,0	6,0	2,0	3,8	1,6	2,7	0,8	1,8	0,7	1,6
Kaliumrhodanatvergiftung . . . . .	2,2	5,8	1,4	3,0	1,5	3,3	0,7	1,7	0,8	1,4
Curarevergiftung . .	1,4	5,0	1,6	1,6	1,2	3,4	0,6	2,0	0,6	2,1
Phlorrhizinvergiftung	1,8	3,5	—	2,8	1,0	2,2	0,7	1,9	0,6	1,1
Ammoniumchloridvergiftung . . . . .	1,7	5,5	3,2	6,5	2,4	4,3	1,2	3,7	3,6	5,9
Adrenalinvergiftung .	2,0	4,4	1,8	4,5	1,3	2,8	0,9	3,4	0,7	3,2
Insulinvergiftung . .	0,56	1,05	0,43	0,85	0,61	1,42	0,49	0,90	0,33	0,57
Hungertod . . . . .	0,37	0,54	0,40	0,83	1,11	2,08	0,73	0,84	0,28	0,51

Feststellung des Säurezuwachses im Herz waren jeweils zwei Tiere erforderlich. Bei einem Tiere wurde er sofort, beim zweiten 24 Stunden nach dem Tode festgestellt. Die abgewogenen Mengen wurden unverzüglich in 50 ccm kochendes Wasser eingetragen und erst nach kräftigem Aufkochen mit der Schere zerkleinert und dann noch 10 Minuten weitergekocht. Im übrigen verweise ich auf das Verfahren von *Wacker*, diese Zeitschr. 75, 119, 1916.

Rasches Erhitzen durch Einlegen der körperwarmen frischen Organe in bereit gehaltenes kochendes Wasser ist aus zweierlei Gründen erforderlich. Erstens werden dadurch die milchsäurebildenden Fermente rasch unschädlich gemacht (vgl. die Kurven in Abb. 1 bei *Wacker*, diese Zeitschr. 75, 111) und dann wird ein klarerer Extrakt erzielt, so daß der Umschlag der Indikatoren bei der nachfolgenden Titration deutlicher erkennbar wird. Wichtig ist es ferner, die Titrationen in den abgekühlten Extrakten vorzunehmen.

### Ergebnisse.

Bei der Vergiftung der Tiere durch energisch und rasch wirkende Gifte, wie Strychnin und Kaliumrhodanat, setzt gegenüber den durch Entblutung oder Nackenschlag getöteten Tieren (s. Tabelle I) eine raschere und intensivere Starre ein, die mit höheren Indexzahlen parallel geht (s. Tabelle II). Schon bei der ersten Untersuchung des Skelettmuskels — sofort nach dem Tode — macht sich eine größere Säurebildung (Versuche 1, 2, 3 und 4 der Tabelle II) gegenüber den normalen Tieren (Tabelle I) bemerkbar. Aus der Zusammenstellung der Indexzahlen (Mittelzahlen) in Tabelle III ist ersichtlich, daß in allen untersuchten Organen nach dem Tode eine Zunahme der sauren Valenzen bemerkbar ist. Am stärksten ist sie beim Skelettmuskel, dann folgen der Reihe nach Herz, Leber, Nieren und Lungen. Etwas abweichend verhalten sich die Organe bei Vergiftung mit Phlorrhizin. Die Säurebildung ist in diesem Falle anscheinend etwas geringer, wenn es sich nicht um besonders gut genährte Tiere handelt, wie dies bei Versuch 8, Tabelle II, der Fall war. Bei Ammoniumchlorid sind die Indexzahlen besonders groß. Dieser Befund steht im Einklang mit den Angaben, daß diese Substanz acidotisch wirkt. Eine Ausnahmestellung nimmt der Hunger- und Insulintod ein. In Übereinstimmung mit den Befunden von *Oppenheim* und *Wacker* (a. a. O.) bei Inanition überwiegen die alkalischen Valenzen (mit Ausnahme der Leber) in allen Organen. Bei Hunger und Insulinzufuhr tritt somit im Endstadium eine Steigerung der Alkaleszenz auf.

Das Auftreten einer Totenstarre beim Hungertier dürfte wahrscheinlich in der immerhin bemerkbaren, wenn auch geringen Säurebildung zu suchen sein. Im Kochextrakt überwiegt jedoch, auch nach 24stündigem Liegen der Organe, die Alkaleszenz die Acidität bei weitem. Die Hungertotenstarre spricht also auch gegen die Säurequellentheorie *Fürths*. Der Zeitpunkt des Eintritts der Totenstarre wird von

verschiedenen Autoren recht verschieden angegeben. Diese verschiedenartige Beurteilung rührt meines Erachtens nicht nur von den Begleitumständen des Todes und dem Ernährungszustand her, sondern auch von dem ganz allmählichen Eintritt der Starreerscheinungen. Ohne einen Maßstab für die Intensität zu besitzen, bleibt es dem individuellen Ermessen des Beobachters anheimgestellt, wenn ihm der richtige Zeitpunkt gekommen erscheint. Ich hatte mit *Lee* und *Harold*<sup>1)</sup> den Eindruck, daß nach Phlorrhizinvergiftung und nach dem Hungertod die Starre ziemlich rasch, wenn auch nicht intensiv einsetzt.

---

<sup>1)</sup> *Lee* und *Harold*, Arch. ital. d. biol. 36, 75, 1901.

## Photoaktivitätsstudien.

IV. Mitteilung:

**Eigentümliche Farbreaktion einiger photoaktiver Substanzen.**

Von

**Hermann Vollmer.**

(Aus dem Kaiserin-Auguste-Victoria-Haus in Berlin-Charlottenburg.)

(Eingegangen am 6. Mai 1926.)

Wir berichteten bereits, daß wässriger Lebertranextrakt aus seiner wasserklaren Beschaffenheit in ein mehr oder weniger intensives Gelb umschlägt, sobald ihm Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion zugesetzt wird. Die Farbintensität nimmt mit steigender Alkalinität zu, die ihrerseits die Photoaktivität des Extrakts vollkommen vernichtet. Eine ähnliche Farbreaktion fanden wir bei einer ganzen Reihe von Substanzen, die ihrer Herkunft nach heterogen sind, in ihrer photochemischen und hyperglykämischen Wirksamkeit aber einige gemeinsame Züge aufweisen. Und zwar reagieren in dieser Weise fast alle diejenigen Stoffe, deren zuckermobilisierende Wirkung wir vor kurzem im Tierexperiment feststellen konnten. Unter den Substanzen, deren hyperglykämische Wirkung bekannt bzw. von uns nachgewiesen worden ist, zeigen folgende *nach Alkalisierung einen Farbumschlag in Gelb*: *Suprarenin, Citronensaft, Apfelsinensaft, Tomatensaft, Lebertran, wässriger Lebertranextrakt, Nelkenöl, Lavendelöl, Cedernöl, Terpentinöl, und in geringem Grade auch Olivenöl*, nicht dagegen — wie apriorisch zu erwarten war — Wasserstoffsperoxyd und Äther. Die Reaktion war negativ bei Spinatsaft, Karottensaft, Kuhmilch, Kuhmilchmolke, Sahne, ätherischem Butterextrakt und bei Insulin. Ätherische Cholesterinlösung gibt nach NaOH-Zusatz eine schwache, aber deutlich gelbe Ringprobe.

Wir untersuchten zunächst, ob ebenso wie wässriger Lebertranextrakt auch die *wässrigen Extrakte anderer Öle* den Farbumschlag im alkalischen Milieu geben. Öl und destilliertes Wasser wurden zu gleichen Teilen im Schüttelapparat eine halbe Stunde geschüttelt, die nach

einiger Zeit sich am Boden absetzenden wässerigen Extrakte filtriert und mit Natronlauge versetzt. Ihre Farbreaktion verhielt sich folgendermaßen:

Wässeriger Extrakt aus	{	Terpentinöl . . . . .	+
		Cedernöl . . . . .	±
		Lavendelöl . . . . .	±
		Eucalyptusöl . . . . .	±
		Nelkenöl . . . . .	±
		Olivenöl . . . . .	—
		Leinöl . . . . .	—
		Erdbnußöl . . . . .	—
Paraffinöl . . . . .	—		

Diese Extrakte sind — Terpentinölextrakt ausgenommen — nicht photoaktiv. Die Intensität ihrer Gelbfärbung im alkalischen Bereich ist durchweg gering und geht mit der Photoaktivität der als Ausgangsmaterial verwendeten Öle einigermaßen parallel. Die Öle selbst geben, mit Natronlauge direkt geschüttelt, einen weitaus intensiveren Umschlag in Gelb.

Um zu sehen, ob Bestrahlung der Öle ihre Farbreaktion beeinflusst, haben wir sie in 40 cm Abstand in flachen Schalen und dünner Schicht 2 Stunden mit der Quarzlampe bestrahlt. Dabei zeigte sich, daß schon dadurch der an sich gelbliche Ton der meisten Pflanzenöle eine geringe Verstärkung erfährt, am meisten beim Nelkenöl, nicht bei Erdnußöl; der gelbliche Ton des Olivenöls dagegen wird durch Bestrahlung aufgehellt. Zu je 1 ccm der bestrahlten und unbestrahlten Öle wird je 1 ccm 15proz. NaOH zugefügt. Die untersinkende Lauge nimmt bei bestrahltem Terpentin- und Lavendelöl, sowie bei bestrahltem und unbestrahltem Nelkenöl sofort einen gelblichen Ton an. Schüttelt man nun die Öle mit der Lauge im Reagenzglas kurz und kräftig durch, so zeigt die aus der Emulsion sich klar absetzende Lauge eine Gelbfärbung in folgender Intensitätsskala:

	Bestrahlt	Unbestrahlt
Nelkenöl . . . . .	++++ (braun)	+++
Terpentinöl . . . . .	++++	+
Lavendelöl . . . . .	+++	+
Cedernöl . . . . .	++	+
Eucalyptusöl . . . . .	++	+
Leinöl . . . . .	±	—
Olivenöl . . . . .	—	±
Erdbnußöl . . . . .	—	—
Paraffinöl . . . . .	—	—

Olivenöl ausgenommen, gaben also *alle bestrahlten Öle eine intensivere Reaktion als die unbestrahlten*; nur Erdnuß- und Paraffinöl ergaben überhaupt keine Gelbfärbung. Auch wässeriger Lebertranextrakt und

ätherische Cholesterinlösung gaben in einigen Versuchen nach der Bestrahlung einen etwas stärkeren Farbumschlag nach Zusatz gleicher NaOH-Mengen als die unbestrahlten Ausgangssubstanzen.

Die Frage, ob die hier beschriebene Farbreaktion mit der „Photoaktivität“ der Substanzen in einem Zusammenhang steht, müssen wir verneinen, obwohl das Verhalten der wässrigen Ölextrakte und die Reaktionsverstärkung nach Bestrahlung der Öle daran denken ließe. Aber „Photoaktivität“ und Farbreaktion sind keineswegs regelmäßig vergesellschaftet (Fruchtsäfte, Wasserstoffsuperoxyd, Äther). Gegen einen Zusammenhang zwischen beiden Phänomenen spricht schließlich, daß physiologische Kochsalzlösung, in der Lebertran durch Schütteln emulgiert war, trotz fehlender Photoaktivität die gleiche Farbreaktion zeigt, wie der photoaktive, wässrige Lebertranextrakt. *Der chemische Körper, der den Effekt auf der photographischen Platte erzeugt, ist also nicht identisch mit demjenigen, auf dem die Farbreaktion beruht.*

Wahrscheinlich handelt es sich bei den Fruchtsäften, Pflanzenölen und beim Lebertran um *Farbstoffe*, die bei alkalischer Reaktion nach Art eines Indikators in Gelb umschlagen. Der Versuch, diese Stoffe *an Tierkohle zu adsorbieren*, gelang. Schüttelt man Citronen-, Apfelsinen- und Tomatensaft, wässrigen Lebertranextrakt, die wässrigen Extrakte der Pflanzenöle und Suprarenin mit Tierkohle, so bleiben alle Filtrate nach NaOH-Zusatz wasserklar. Nur Suprarenin gibt auch jetzt noch eine unveränderte Farbreaktion; sie ist also offenbar anderer Natur als die Reaktion der übrigen Substanzen.

Schließlich blieb zu ermitteln, ob der Umschlag der verschiedenen Substanzen in Gelb bei der gleichen Wasserstoffionenkonzentration erfolgt. Er fällt ungefähr mit dem Umschlagspunkt des Phenolphthaleins in Rot zusammen, liegt aber teils vor, teils nach diesem. Auch die elektrometrische Messung einiger Substanzen, die bis zum beginnenden Farbumschlag mit NaOH versetzt wurden, ergab Differenzen, die eine *Einheitlichkeit des die Reaktion bedingenden chemischen Körpers ausschließen.*

# Über den Einfluß von Saponinen auf den Eisenstoffwechsel und auf die Milz.

Von  
Tomio Fukui.

(Aus der Abteilung für physiologische Chemie im Wiener physiologischen Institut.)

(Eingegangen am 7. Mai 1926.)

Der Eisenstoffwechsel wird, wenn man vom Eisengehalt der Nahrung absieht, sicherlich in erster Linie durch den Zerfall der roten Blutkörperchen beeinflusst. Es haben daher beim Studium des Eisenstoffwechsels stets hämolytische Substanzen eine große Rolle gespielt.

Unter den durch ihr hämolytisches Vermögen ausgezeichneten Substanzen nehmen die *Saponine* ein besonderes Interesse für sich in Anspruch.

Während die hämolytische Wirkung der Saponine *in vitro* völlig außer Zweifel steht, gehen die Meinungen über die Wirkungsweise dieser Stoffe auf den *lebenden Organismus* noch weit auseinander.

So haben *Isaak* und *Moeckel*<sup>1)</sup> bei intravenöser Injektion von Saponinen in nicht letaler Menge bei Kaninchen die Zahl der Erythrocyten und den Hämoglobingehalt erheblich (bis auf 1,5 Millionen im Kubikmillimeter bzw. 25 bis 30 Proz. des normalen Hämoglobins) herabgesetzt gefunden. Diese Autoren konnten auch bei allen ihren Versuchen eine zum Teil außerordentlich hochgradige Vergrößerung der Milz feststellen. Sie verwendeten das aus der Quillajarinde stammende Sapotoxin (*Merck*), stellten aber fest, daß zwischen diesem und den übrigen im Handel erhältlichen Saponinen bezüglich dieser Wirkung kein wesentlicher Unterschied bestehe. Sie verwendeten pro Kilogramm Kaninchengewicht 0,3 bis 1,0 mg Sapotoxin aus Quillajarinde und behaupteten, daß diese Menge im lebenden Körper nicht ausreiche, um eine *Hämolyse* zu erzielen, sondern daß dazu eine 100 mal größere Menge nötig sei. Auch fanden sie bei den oben genannten kleinen Dosen weder in der Milz, noch in der Leber Anzeichen, die auf vermehrten Blutzerfall hätten schließen lassen. Sie erklärten daher die

---

<sup>1)</sup> *Isaak* und *Moeckel*, Zeitschr. f. klin. Med. 72, 231, 1911.



geringe Zahl der Erythrocyten nicht durch eine erhöhte *Zerstörung* der roten Blutkörperchen, sondern durch die Reizwirkung der Saponine auf den *blutbildenden Apparat*.

Auch *Pappenheim* und *Szecsí*<sup>1)</sup> nahmen an, daß der Angriffspunkt der Saponine nicht im Blute, sondern im *Knochenmark* zu suchen ist. *A. W. van d. Haar*<sup>2)</sup> untersuchte ebenfalls die Beziehungen zwischen Saponin-giftigkeit und hämolytischer Wirkung und kam auch zu dem Schluß, daß die Saponine nicht *nur* ein *Blutgift* sind. *Firket*<sup>3)</sup> beobachtete nach intravenöser Saponininjektion bei Kaninchen fast regelmäßig *Hämoglobinurie*. Die Tiere werden anämisch, erholen sich aber nach einigen Tagen unter Zunahme der Erythrocytenzahl trotz weiterer Verabreichung von Saponin.

Im Gegensatz dazu beobachtete *Kobert*<sup>4)</sup>, daß bei intravenöser Injektion letaler Mengen von Saponinsubstanzen (Sapotoxin der Quillajarinde, der Kornrade, der Seifenwurzel, Quillajasäure usw.) *keine Hämoglobinurie* oder *Methämoglobinurie* auftritt; er hebt auch ausdrücklich hervor, daß der Tod der mit Saponinen vergifteten Tiere nicht durch Blutveränderungen, sondern durch Schädigung des *Zentralnervensystems* bedingt ist. Er<sup>5)</sup> hat ferner behauptet, daß das Wesen der *chronischen* intravenösen Saponinvergiftung in einer Wucherung der zelligen Elemente der *Blutbildungsstätten* besteht. Doch dürfte bei der *akuten* Vergiftung die Wirkung auf den hämopoetischen Apparat keine Rolle spielen; dabei bleibt fraglich, ob bei der intravenösen Injektion nicht letaler Dosen giftiger Saponine Hämolyse auftritt.

Denkt man nun, daß die Saponine nicht an den Blutzellen, sondern an einem anderen Organe, das im Bluthaushalt eine Rolle spielt, angreifen, so muß man sich zunächst fragen, *welches Organ* hierfür in Betracht kommt. Es ist naheliegend, da zunächst an die Milz zu denken, da ja die Bedeutung der Milz für die Bildung bzw. Zerstörung der Erythrocyten und für den Eisenstoffwechsel außer Zweifel steht<sup>6)</sup>. *Die Milz als Organ für die Regelung des Eisenstoffwechsels* wurde vor allem von *L. Asher*<sup>7)</sup> studiert. Das Ergebnis dieser Untersuchungen, die an Hunden gemacht wurden, war, daß die tägliche Eisenausscheidung an Tieren, denen die Milz extirpiert worden war, wesentlich größer sei, als bei normalen Tieren. Diese vermehrte Ausscheidung konnte noch 5 Monate nach der Exstirpation, wenn auch in geringem Maße, festgestellt werden. Bei eiweißarmer Nahrung oder bei Verabreichung eines Mittels, das Blutkörperchen zerstört, war die Eisenausscheidung bei milzlosen Tieren besonders groß. Die letztere Beobachtung stimmt

1) *Pappenheim* und *Szecsí*, Fol. hämatolog. 13, 25, 1921.

2) *A. W. van d. Haar*, diese Zeitschr. 76, 350, 1916.

3) *Firket*, C. r. Soc. Biol. 85, 727, 1921.

4) *Kobert*, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904.

5) *Derselbe*, Heffters Handb. d. exper. Pharm. 1925, S. 1513.

6) Literatur bei *Fürth*, Probleme I, 1912, S. 495.

7) *L. Asher* und *Grossenbacher*, diese Zeitschr. 17, 79, 1909; *L. Asher* und *Zimmermann*, ebendasselbst 17, 297, 1909.

mit den Ergebnissen der Untersuchung von *Asher* und *K. Nakayama*<sup>1)</sup> überein, welche gefunden hatten, daß die tägliche Eisenausscheidung bei eisenarmer Kost am Hunde minimale Werte erreicht, während im Hungerzustand, wo Körpersubstanz zerfällt, die Eisenausscheidung bedeutend größer ist. Bei milzlosen Tieren ist sie aber in beiden Fällen vermehrt. In neuester Zeit hat *Asher* und *Tominaga*<sup>2)</sup> festgestellt, daß der Eisengehalt der Milz größer ist als der aller anderen Organe, und daß nach Entfernung der Milz der Eisengehalt in der Leber und Niere ansteige. *Asher*<sup>3)</sup> war der Ansicht, daß die *Milz das Eisen, das im Organismus frei wird, aufstaple, um es im Bedarfsfalle wieder an den Organismus zurückzugeben*, daß aber nach Milzexstirpation, also nach Entfernung des Speicherorgans, die Eisenausscheidung im Kote ansteige. In jüngster Zeit hat aber *J. Irger*<sup>4)</sup> den Eisenstoffwechsel an Hunden nach Milzexstirpation untersucht und im Gegensatz zu *Asher* gefunden, daß weder im Kote, noch im Harn, Galle oder Blut der Eisengehalt verändert sei.

Von klinischer Seite wurde vielfach bei splenektomierten und normalen Menschen der Eisenstoffwechsel untersucht und meistens gefunden, daß der Splenektomierte relativ mehr Eisen ausscheidet als der Normale. Beim normalen Menschen und beim leukämischen Kranken konnte auch eine Steigerung der Eisenausscheidung durch Röntgenbestrahlung erzielt werden. Auch die bei Leukämie, perniziöser Anämie, vielfach beobachtete Erhöhung der Eisenausscheidung wurde nicht nur auf einen vermehrten Zellzerfall, sondern auch auf eine Insuffizienz der Milz als Speicherorgan bezogen.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es nun, den Einfluß verschiedener Saponine auf die roten Blutkörperchen in vivo festzustellen. Es war dies insofern verlockend, als nach den Beobachtungen von *Isaak* und *Moeckel* die systematische Darreichung von Saponin-substanzen an Kaninchen eine in ihrer Art einzig dastehende Methode an die Hand zu geben schien, um einen experimentellen Milztumor hohen Grades beim Tiere künstlich zu erzeugen. Insbesondere sollte das Schicksal des aus dem Hämoglobin frei werdenden Eisens im Tierkörper verfolgt werden. Zu diesem Zwecke wurde einerseits die Eisenausscheidung im Harn und Kot, andererseits das Verhalten von Milz und Leber der Versuchstiere untersucht.

#### Methodik.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet, die in einer großen Glasglocke gehalten wurden, welche nach unten durch ein Messingnetz

<sup>1)</sup> *L. Asher* und *K. Nakayama*, diese Zeitschr. 151, 119, 1924.

<sup>2)</sup> *Asher* und *Y. Tominaga*, diese Zeitschr. 156, 418, 1925.

<sup>3)</sup> *L. Asher*, Med. Wochenschr. 1925, Nr. 51, 21. Jahrg., S. 1905.

<sup>4)</sup> *J. Irger*, diese Zeitschr. 169, 417, 1926.

abgeschlossen war. Der Harn wurde durch einen Trichter, in dem ebenfalls ein Messingnetz angebracht war, gesammelt. Auf diese Weise wurde ein Harn erhalten, der nicht mit Eisenteilen in Berührung gekommen war. Als Futter wurde immer 500 bis 600 g grüner Kohl verwendet. Es wurde die tägliche Eisenausscheidung und am Ende des Versuchs der Eisengehalt der Milz und der Leber, in einigen Versuchen auch der der Darmwand mit einer Mikromethode, welche Y. Tominaga<sup>1)</sup> in seinen Versuchen verwendet hatte, bestimmt. Die Methode, welche, wie ich mich wiederholt überzeugte, mit der Methode Willstätters<sup>2)</sup> durchaus übereinstimmende Resultate gibt, gestaltet sich im Prinzip folgendermaßen: Zunächst wird verascht, dann Eisenrhodanat in Isoamylalkohol gebildet und schließlich durch Vergleich mit einer Standardlösung das Eisen kolorimetrisch bestimmt. Die *Vorbehandlung* der einzelnen Produkte bis zur Veraschung war natürlich verschieden.

1. *Harn*. An jedem Morgen um 8 Uhr wurde das Sammelgefäß gewechselt, die Harnmenge gemessen, dann filtriert. 50 bis 100 ccm dieses Filtrats wurden in eine Abdampfschale gebracht und am Wasserbad bis zu einer sirupösen Konsistenz eingeeengt. Der zurückgebliebene Sirup wurde nun in einen Porzellantiegel gegossen, mit wenig Wasser nachgewaschen und die Abdampfschale mit einem kleinen Stück Filtrierpapier ausgewischt. Das Filtrierpapier wurde ebenfalls in den Porzellantiegel gebracht. In diesem wurde nun die überspülte Masse bis zur Trockne eingedampft und dann verascht.

2. *Kot*. Der Kot wurde ebenfalls täglich gesammelt, nach je 2 Tagen durch etwa 5 Stunden im Trockenschranke bei 110° getrocknet. Nach dem Abkühlen wurde er gewogen, fein gepulvert und ein kleiner aliquoter Teil dieses Pulvers verascht.

3. *Organe*. Nachdem die Organe aus dem Körper herausgenommen waren, wurden sie mit Wasser gewaschen, das Wasser mit Filtrierpapier entfernt und dann gewogen. Die gewogenen Organe bzw. ein aliquoter Teil derselben wurden in einer gut getrockneten und gewogenen Reibschale zerrieben und durch 3 Stunden bei 110° getrocknet. Nach dem Auskühlen wurde wieder gewogen, die getrocknete Masse gepulvert und ein Teil zur Veraschung verwendet.

4. *Magen- und Darminhalt* wurde ganz wie 3 behandelt.

Von den getrockneten Pulvern wurde gewöhnlich 0,1 bis 0,3 g verwendet. Bei der Veraschung des Harnrückstandes mußte besondere Vorsicht geübt werden, weil der Tiegel beim Abkühlen des geschmolzenen Inhalts leicht sprang. Es war von Vorteil, den Harnrückstand nach der Veraschung mit wenig Wasser zu versetzen und dann nochmals auf dem Wasserbad zu trocknen, um ihn aufzulockern, da er sich sonst nicht völlig löste.

Nach der Veraschung wurde 1 ccm konzentrierter Salzsäure und 1 ccm Perhydrol zugesetzt. Dabei trat starke Schaumbildung auf, weshalb der Tiegel, um ein Überfließen zu vermeiden, mit einem Uhrglas bedeckt war. Dann wurde durch einige Minuten auf dem Wasserbade erhitzt, abgekühlt, genau 10 ccm Isoamylalkohol und 5 ccm Rhodan ammoniumlösung zugefügt und mit einem Glasstäbchen vorsichtig umgerührt. Nach 5 Minuten Warte-

<sup>1)</sup> Y. Tominaga, diese Zeitschr. 156, 418, 1925.

<sup>2)</sup> Willstätter, Hoppe-Seyler Tierfelder physiol., pathol. chem. Analyse, 9. Aufl., S. 663.

zeit wurde die rotgefärbte Amylalkoholschicht mit einer frisch bereiteten Standardlösung, die aus 1 ccm Eisenstammlösung, 10,0 ccm Isoamylalkohol und 5 ccm Rhodanammoniumlösung hergestellt war, im Dubosq-kolorimeter verglichen.

Die zur Bestimmung nötigen Reagenzien sind demnach:

1. Konzentrierte Salzsäure und Perhydrol.

2. Isoamylalkohol.

3. Rhodanammoniumlösung, die durch Auflösen von 380 g in 1 Liter destillierten Wassers hergestellt wird. Um sie vollkommen eisenfrei zu machen, werden einige Milligramm Alaun zugesetzt und die Lösung alkalisch gemacht. Das gebildete Aluminiumhydroxyd fällt aus, wobei das Eisen mitgerissen wird. Der Niederschlag wird durch Filtrieren entfernt.

4. Eisenstammlösung. 0,863 g Eisenammoniakalaun und 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure werden mit destilliertem Wasser versetzt und auf 1 Liter aufgefüllt. 1 ccm dieser Lösung enthält 0,1 mg Eisen.

Zur Hämoglobinbestimmung wurde das Hämometer von *Sahli* verwendet.

Die Saponinpräparate wurden zu 0,2 Proz. in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und intravenös injiziert.

In den Versuchen, in denen intravenöse Injektionen von Saponinen vorgenommen werden mußten, entstanden an der Injektionsstelle (gewöhnlich am Ohr) entzündliche Schwellungen. Es konnte daher aus der betreffenden Ohrvene kein zur Hämoglobinbestimmung brauchbares Blut entnommen werden. Es wurden deshalb immer die Venen eines Ohres zur Injektion und die des anderen zur Blutentnahme verwendet.

### Vorversuche.

#### I. Bestimmung des Eisengehalts im Kohl.

100 g des Kohls, den die Versuchstiere erhielten, wurden im Trockenschranke getrocknet, dann in der Reibschale und mit Hilfe der Kugelmühle pulverisiert. Die Menge der Trockensubstanz ist ungemein schwankend, ebenso der prozentuale Eisengehalt. Die gefundenen Werte zeigt die Tabelle I.

Tabelle I.

In 100 g Kohl enthaltene Trockensubstanz g	In 100 g Trockensubstanz enthaltenes Eisen mg
a) 18,42	28,11
14,27	26,78
13,25	26,44
15,62	25,93
16,40	In 100 g frischen Kohls demnach 4,1 mg Fe
14,98	
13,95	
16,30	
b) 12,69	45,13
13,41	43,82
14,17	47,20
	44,37
	In 100 g Kohl demnach 6,06 mg Fe

Wir ersehen aus Tabelle I, daß der Eisengehalt im Kohl großen Schwankungen unterworfen ist. Es ist nun naheliegend, daran zu denken, daß diese Differenz auf verschiedene Zusammensetzung des Kohls an grünen Blattanteilen einerseits, Stengeln und Rippen andererseits zurückzuführen ist. Normalerweise ist das Gewichtsverhältnis der grünen Blätteranteile zu den Rippen und Stengeln, wie aus der Tabelle II hervorgeht, 3 : 7.

Tabelle II. Gewichtsverhältnis zwischen den grünen Blattanteilen sowie Rippen und Stengel.

Grüne Blattanteile Proz.	Rippen und Stengel Proz.
32,60	67,40
40,00	60,00
18,75	81,25
28,00	72,16
} 29,84	} 70,96

Nun wurde auch für die beiden obigen Bestandteile des Kohls der Eisengehalt getrennt bestimmt.

Tabelle III.

Trockensubstanz von 100 g Grünblätter g	Eisengehalt von 100 g Grünblätter mg	Trockensubstanz in 100 g Rippen und Stengel g	Eisen in 100 g Rippen und Stengel mg
16,60	11,76	14,75	3,64
17,30	12,65	14,72	3,47
15,80		13,60	
} 16,57	} 12,2	} 14,36	} 3,5

Unter Zugrundelegung der obigen Verhältniszahl (3 : 7) errechnet sich der durchschnittliche Eisengehalt im Kohl mit 6 mg-Proz.

II. Normale Größe und normaler Eisengehalt von Milz, Leber und Darmwand des Kaninchens.

Tabelle IV.

Nr.	Körpergewicht kg	Geschlecht	Milz					Leber			Dünn- darm	Dick- darm	
			Gewicht g	Länge cm	Breite cm	Höhe cm	Trocken- substanz g	Prozentgehalt der Trocken- substanz an Fe	Gewicht g	Trocken- substanz g	Prozentgehalt der Trocken- substanz an Fe	Prozentgehalt der Trocken- substanz an Fe	Prozentgehalt der Trocken- substanz an Fe
I	2,54	♀	1,08	4,5	0,5-0,8	0,4	0,23	0,184	90,1	22,17	0,046	—	—
II	3,00	♀	2,89	7,8	1,0-1,2	0,5	0,61	0,247	116,6	32,75	0,056	—	—
III	2,66	♀	4,73	6,5	1,6-2,0	0,4-0,8	0,94	0,247	165,4	41,00	0,048	—	—
IV	2,50	♀	2,09	6,0	0,7-1,1	0,2-0,4	0,48	0,278	99,6	24,35	0,059	—	—
V	2,30	♀	1,48	5,0	0,2-1,2	0,1-0,4	0,31	0,188	103,4	26,14	0,054	—	—
VI	2,73	♀	2,55	6,2	0,6-1,1	0,2-0,4	0,58	0,259	112,0	26,25	0,054	—	—
VII	2,27	♀	1,39	5,5	0,4-1,2	0,2-0,4	0,30	0,170	78,2	21,99	0,068	—	—
VIII	2,35	♀	1,92	5,7	0,5-1,0	0,2-0,4	—	—	126,2	—	—	0,038	0,019

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Länge der Milz eines Kaninchens von ungefähr 2,5 kg Körpergewicht ungefähr 6 cm, die Breite 0,7 bis 1,2 cm beträgt. Die Schwankungen des Gewichts der

Milz sind auch normalerweise nicht entsprechend dem Körpergewicht. Von den untersuchten Organen zeigt die Milz den größten Eisengehalt, nämlich im Mittel 0,225 Proz.<sup>1)</sup> der Trockensubstanz, während die Leber nur 0,055 Proz., der Dünndarm 0,038 Proz. und der Dickdarm 0,019 Proz. aufweist. Man kann aus der obigen Tabelle auch den Wassergehalt der Organe berechnen; es ergibt sich ein mittlerer Wassergehalt der Milz von 77,5 Proz. und der Leber von 74,5 Proz., so daß der Eisengehalt der nicht getrockneten Milz 0,051 Proz. und der der Leber 0,014 Proz. beträgt.

#### Versuche.

Die folgenden drei Versuche wurden angestellt, um die Wirkung intravenöser Saponininjektionen auf die Eisenausscheidung zu erproben.

Im ersten Versuch wurde Saponin puriss. alb. (*Merck*), im zweiten und dritten Versuch Sapotoxin (*Merck*) verwendet.

Die Tiere wurden mit etwa 500 g Kohl, in welchem im Mittel in 100 g etwa 6 mg Fe enthalten waren, gefüttert. Am Ende des Versuchs wurde der Eisengehalt von Milz und Leber, ferner die Größe der Milz bestimmt. Das Ergebnis der Versuche zeigen die folgenden Tabellen.

#### 1. Versuch (Saponin puriss. alb., *Merck*).

Tabelle V. Körpergewicht 2,87 kg, weiblich.

Datum	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tagesharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Hämoglobingehalt im Blut nach Sahlt	
20. X.					
21.	340	0,27	0,79	—	
22.	530	0,30	0,56	81	
23.	560	0,35	0,63	—	
24.	290	0,14	0,50	—	
25.	350	0,14	0,41	85	
26.	300	0,24	0,80	—	
27.	190*)	—	0,74	86	← 2 mg. intravenöse Injektion
28.	575	0,37	0,64	—	← 2 " " "
29.	490	0,39	0,81	82	← 2 " " "
30.	450	0,31	0,69	—	← 2 " " "
31.	415	0,46	1,11	76	← 3 " " "
1. XI.	475	0,51	1,07	—	← 3 " " "
2.	360	0,75	2,09	71	← 3 " " "
3.	450	0,51	1,14	—	← 3 " " "
4.	500**)	—	—	69	← 3 " " "
5.	690**)	—	—	—	← 3 " " "

\*) Wegen Verstopfung des Trichters ging der Harn verloren. \*\*) Hämaturie. Am 5. XI. Abortus.

<sup>1)</sup> Zum Vergleich seien einige von anderen Autoren in der Milztrockensubstanz gefundene Werte hier angeführt:

Mensch . . . . . 0,228 bis 0,289 Proz. (*Magnus-Levy, Rotenstein*)  
Hund . . . . . 0,186 Proz. (*S. Kartakowsky*)  
Meerschweinchen . . . 0,204 „ (*Y. Tominaga*).

	Gewicht g	Länge cm	Breite cm	Fe-Gehalt in Trockensubstanz Proz.
Milz . . . . .	1,7	5,6	1,0	0,222
Leber . . . . .	94,5	—	—	0,066

Wir ersehen aus dieser Tabelle, daß der Hämoglobingehalt des Blutes durch die ständige Injektion von Saponin stark vermindert worden ist. Die Eisenausscheidung im Harn ist bedeutend vermehrt. Der Eisengehalt von Milz und Leber ist völlig normal geblieben.

2. Versuch.

Tabelle VI. Sapotoxin (Merck). Körpergewicht 2,32 kg, weiblich.

Datum	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tagesharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Hämoglobingehalt im Blut nach Sahli	Sapotoxin
6. XI.	340	0,32	0,95	94	
7.	300	—	—	—	
8.	370	0,42	1,13	—	
9.	300	0,30	1,00	95	
10.	500	0,49	0,98	—	
11.	370	0,82	2,22	91	← 3 mg. intravenöse Injektion
12.	575	0,77	1,33	—	← 3 " " "
13.	350	0,43	1,23	81	← 3 " " "
14.	470	0,46	0,97	—	← 3 " " "
15.	310	0,38	1,23	69	← 3 " " "
16.	380	0,46	1,21	—	← 3 " " "
17.	475	0,42	0,89	63	← 3 " " "
18.	420	0,41	0,97	—	
19.	410	0,30	0,72	63	
20.	580	0,18	0,31	—	← Milzexstirpation
21.	195	0,23	1,19	64	
22.	550	0,63	1,80	—	
23.	250	0,41	1,63	68	
24.	350	0,34	0,98	—	
25.	510	0,27	0,53	72	
26.	400	0,36	0,89	—	
27.	360	0,36	0,99	72	Körpergewicht 2,75 kg
28.	380	0,38	0,99	—	
29.	340	0,27	0,78	—	
30.	315	0,30	0,95	74	
1. XII.	570	0,54	0,95	—	← 3 mg. intravenöse Injektion
2.	295	0,84	2,86	64	← 3 " " "
3.	210	0,53	2,50	—	← 3 " " "
4.	210	0,61	2,91	63	← 3 " " "
5.	210	—	—	—	← 3 " " "
6.	235	1,01	4,28	55	← 3 " " "
7.	250	0,56	2,23	—	← 3 " " "
8.	190	0,42	2,22	52	
9.	320	0,86	2,70	—	
10.	220	0,49	2,22	52	
11.	220	0,61	2,78	—	
12.	260	0,47	1,79	52	
13.	250	0,52	2,08	—	
14.	250	0,40	1,60	54	Körpergewicht 3 kg

	Gewicht g	Länge cm	Breite cm	Höhe cm	Trocken- substanz g	Fe-Gehalt der Trockensubstanz Proz.
Milz . . .	1,82	7,1	0,5—1,3	0,2—0,5	0,355	0,541
Leber . . .	172,4				41,96	0,385

Dieser Versuch unterscheidet sich von dem vorausgehenden vor allem durch die nach 14 Tagen vorgenommene Milzexstirpation. Durch diese Milzexstirpation wurde die Hämoglobinabnahme im Blute und die Eisenausscheidung im Harn nicht wesentlich beeinflusst. Dagegen sehen wir, daß der Eisengehalt der Leber ungemein vermehrt ist, es dürfte die Leber die Funktion der Milz als eisenspeicherndes Organ übernommen haben. Sonst zeigt der Versuch, ebenso wie der Versuch 1, eine starke Hämoglobinabnahme im Blute und vermehrte Fe-Ausscheidung im Harn als Folgen der Sapotoxininjektionen. Es wäre noch darauf hinzuweisen, daß auch der Eisengehalt der exstirpierten Milz bedeutend höher war als der einer normalen Milz.

## 3. Versuch.

Tabelle VII.

Körpergewicht 2,12 kg, weiblich.

Datum	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tagesharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Hämo- globin- gehalt im Blute nach Sahli	Sapotoxin
5. XI.	—				
6.	220	0,22	1,02	93	
7.	340	0,50	1,48	—	
8.	395	0,47	1,19	—	
9.	250	0,37	1,48	94	
10.	540	0,49	0,91	—	
11.	325	0,42	1,39	87	← 3 mg. intravenöse Injektion
12.	390	0,41	1,05	—	← 3 " " "
13.	300	0,45	1,51	77	← 3 " " "
14.	350	0,41	1,17	—	← 3 " " "
15.	230	0,19	0,83	64	← 3 " " "
16.	300	0,28	0,93	—	← 3 " " "
17.	410	0,30	0,74	60	← 3 " " "
18.	380	0,34	0,89	—	
19.	390	0,22	0,57	61	
20.	540	0,24	0,44	—	
21.	—	—	—	59	
22.	310	0,21	0,68	—	
23.	300	0,18	0,61	51	
24.	550	0,24	0,44	—	
25.	500	0,37	0,73	68	
26.	420	0,25	0,61	—	
27.	275	0,37	1,33	73	Körpergewicht 2,14 kg





	Gewicht	Länge	Breite	Höhe	Trocken- substanz	Fe-Gehalt in Trocken- substanz Proz.
	g	cm	cm	cm	g	
Milz . . . . .	1,9	5,5	0,4—1,0	0,2—0,7	0,46	0,422
Leber . . . . .	88,3				19,64	0,083

Auch in diesem Versuch wurde — nach 17 Tagen — die Milz exstirpiert. Der Hämoglobingehalt ist herabgesetzt. Die Fe-Ausscheidung im Harn unverändert. Dagegen war die Fe-Ausscheidung im Kote stark vermehrt. Nach der Milzexstirpation fraß dieses Kaninchen sehr wenig und ging am sechsten Tage nach der Operation ein. Der Eisengehalt der exstirpierten Milz ist wieder erhöht, der der Leber ist etwas erhöht, wahrscheinlich als Ausdruck der Übernahme der Funktion der Milz. Der Ausschlag dürfte deshalb so gering sein, weil die Versuchsdauer nach der Milzexstirpation sehr kurz war.

## 5. Versuch.

Tabelle IX. Kaninchen. Körpergewicht 2,2 kg, weiblich.

Datum	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tageharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Kot als Trocken- substanz	Fe-Gehalt im Kote mg	Prozentsgehalt an Fe in Trocken- substanz	Hb-Gehalt im Blute nach Schnitt	
15. XII.								
16.	270	0,39	1,45	24,42	21,49	0,088	90	← 2,5 mg Sapotoxin, in- travenöse Injektion
17.	225	0,42	1,85					
18.	235	0,43	1,82	17,70	29,06	0,215	—	← Dasselbe
19.	320	0,53	1,67					
20.	265	0,46	1,72	19,20	49,73	0,259	—	← .
21.	200	0,44	2,22					
22.	290	0,47	1,62				—	← .
23.	245	0,52	2,14				60	← .

	Gewicht	Länge	Breite	Höhe	Trocken- substanz	Fe-Gehalt in Trocken- substanz Proz.
	g	cm	cm	cm	g	
Milz . . . . .	3,30	7,5	0,6—1,2	0,3—0,7	0,71	0,371
Leber . . . . .	113,4				29,34	0,052

Der Versuch entspricht dem Versuch 4, doch wurde eine Milzexstirpation nicht vorgenommen. Der Hämoglobingehalt ist geringer als normal, die Eisenausscheidung im Harn ist ein wenig, die im Kote bedeutend vermehrt. Der Eisengehalt der Milz ist etwas erhöht, der der Leber normal. Die Größe der Milz war auch in diesen Versuchen normal.

## Darstellung von Quillajatoxin.

Da in der vorliegenden Untersuchung unter anderem festgestellt werden sollte, ob der Eisenstoffwechsel durch eine Milzvergrößerung verändert wird oder nicht, mußte von den bisher gebrauchten Saponinpräparaten abgegangen werden, da durch diese ein Milztumor nicht erzielt werden konnte. *Isaak* und *Moeckel*<sup>1)</sup> hatten Quillajatoxin verwendet; es wurde nun nach der Methode von *Kobert*<sup>2)</sup> aus Quillajarinde das Quillajatoxin dargestellt. Die Methodik sei hier kurz beschrieben.

1 kg Cortex Quillajae wurde mit etwa 6 Litern destillierten Wassers eine halbe Stunde lang gekocht, die Abkochung auf etwa 1 Liter auf dem Wasserbad eingengt und durch 8 Tage in der Kälte stehengelassen, wobei ein reichlicher Niederschlag ausfiel. Die überstehende klare Flüssigkeit wurde mit 10proz. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung genau neutralisiert, mit neutralem Bleiacetat im Überschuß versetzt und wieder einige Tage in der Kälte stehengelassen. Dann wurde filtriert, das Filtrat mit basischem Bleiacetat im Überschuß versetzt. Dabei bildete sich ein reichlicher Niederschlag, der sich absetzte. Die überstehende Flüssigkeit wurde entfernt, der Niederschlag auf einem Filter gesammelt und zuerst mit basischer Bleiacetatlösung, dann mit 96proz. Alkohol gewaschen, bis der abtropfende Alkohol beim Verdunsten keinen Rückstand mehr aufwies. Der auf dem Filter verbliebene Rückstand wurde nun in etwa 1 Liter Wasser aufgeschwemmt und durch die Suspension Schwefelwasserstoff geleitet. Der Bleisulfidniederschlag wurde abfiltriert und viermal mit 96proz. Alkohol unter Rückflußkühlung auf dem Wasserbade ausgekocht. Die heiß filtrierte Abkochung wurde mit dem Filtrat vereinigt, das Ganze nochmals filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde nun mit  $\frac{1}{3}$  Liter absoluten Alkohols unter Rückflußkühlung etwa 10 Minuten auf dem Wasserbad gekocht, dann wurde filtriert. Nach dem Abkühlen wurde Äther im Überschuß zugesetzt; es bildete sich ein weißer Niederschlag — das *Quillajatoxin* —, der auf einem Filter gesammelt, im Exsikkator getrocknet und schließlich pulverisiert wurde.

Durch dieses Verfahren wurden 8,8 g weißes Quillajatoxin erhalten, das sich im Wasser in kleinen Mengen leicht löst, dabei stark schäumt und neutral reagiert. Ammonsulfat oder neutrales Bleiacetat fällt aus einer solchen Lösung nichts aus, wohl aber gibt sie mit Bleiessig einen starken Niederschlag. Diese Eigenschaften stimmen mit denen des Quillajatoxins, das *Kobert* dargestellt hatte, überein.

## Bestimmung der hämolytischen Kraft verschiedener Saponine in vitro.

Zur Bestimmung des hämolytischen Index<sup>3)</sup> verschiedener Saponine wurde zunächst aus der Karotis eines Kaninchens von 2,5 g Gewicht Blut entnommen, dieses rasch defibriniert und zentrifugiert. Nach Entfernung des Plasmas wurden die Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Es wurde mit den gewaschenen Blutkörperchen eine etwa 2proz. Suspension in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt und zu dieser

1) l. c.

2) *Kobert*, Arch. f. exper. Pathol. u. Physiol. 23, 240, 1887; vgl. *Abderhaldens Biochem. Handlexikon* 7, 164.

3) *Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod.*, Abt. I, Teil 10, S. 561.

Mischung Saponin albiss., Sapotoxin (*Merck*) und Sapotoxin aus *Radix saponaria* in verschiedenen Verdünnungen zugesetzt. Alle Eprouvetten wurden nun bei Zimmertemperatur 1 Stunde lang stehengelassen. Das Quillajatoxin wurde in ganz ähnlicher Weise zu Pferdeblutkörperchen-suspension zugesetzt. Das Ergebnis der Versuche war das folgende:

	Präparat	Hämolyt. Index
Kaninchenblut .	Saponin puriss. albiss. ( <i>Merck</i> )	1 : 40 000
	Sapotoxin	1 : 50 000
	" aus <i>Radix saponar.</i>	1 : 50 000
Pferdeblut . . .	" " Quillajarinde	1 : 25 000
	" " Quillajarinde	1 : 70 000

Die Untersuchungen von *Rywosch*<sup>1)</sup> und *H. Bäck*<sup>2)</sup> hatten ergeben, daß die Resistenz verschiedener Blutarten gegen Saponine verschieden groß ist. So fanden diese Autoren das Kaninchenblut gegen Saponine viel empfindlicher als Pferdeblut; dasselbe geht aus obiger Tabelle hervor, aus welcher auch ohne weiteres ersichtlich ist, daß das Quillajatoxin in vitro wesentlich stärker hämolytisch wirkte als andere Saponine.

Tabelle

	Körpergewicht	Injektion	Zahl der Injektionen	Lebensdauer	Gewicht
	kg				g
Nr.	I	2,70	pro kg 0,2 mg täglich Quillajatoxin	24	getötet 2,70
"	II	2,35	" " 0,4 " " "	15	16 2,22
"	III	2,55	" " 0,6 " " "	7	7 2,68
"	IV	2,45	" " 0,8 " " "	6	6 1,88
"	V	2,45	" " 1,0 " je 2 Tage "	5	9 2,92
"	VI	2,55	" " 1,2 " je 2 " "	3	5 1,17
"	VII	2,61	" " 1,0 " täglich "	6	6 6,16
"	VIII	2,56	" " 1,0 " " "	5	5 4,80
					Quillaja
Vers.	I	2,87	Saponin pur. albiss., I pro kg 0,7 mg, II pro kg 0,1 mg		1,70
"	II	2,32	Sapotoxin ( <i>Merck</i> ), pro kg 1,3 mg		1,82
"	III	2,12	pro kg 1,5 mg		0,88
"	IV	2,46	Sapot. aus Rad. Sapon., pro kg 1,2 mg		1,90
"	V	2,20	pro kg 1,1 mg Quillajatoxin		3,30
"	VII	2,57	" " 0,8 "		2,25
"	VIII	1,80	" " 0,5 "		3,47
					Verschiedene

\*) Milzlose Tiere.

1) *D. Rywosch*, Arch. f. ges. Physiol. 176, 229, 1907.

2) *H. Bäck*, diese Zeitschr. 86, 226, 1918.

## 6. Versuch.

Um nun auch die Wirkung des Quillajatoxins auf das lebende Tier zu sehen, wurde es in verschiedener Menge intravenös injiziert. Die Wirkung kann aus der Tabelle X ersehen werden.

Eine tägliche Dosis von 1 mg Toxin pro Kilogramm Körpergewicht führte nach 5 bis 6 Tagen zum Tode des Kaninchens. Auch 0,6 mg pro Kilogramm Körpergewicht sind noch sehr giftig. Eine Vergrößerung der Milz auf das Fünffache, wie *Isaak* angegeben hatte, konnte nicht erzielt werden. Nur bei Injektion von täglich 1 mg pro Kilogramm Körpergewicht konnte in dem Versuch eine Vergrößerung der Milz auf das Doppelte beobachtet werden; doch konnten die Tiere, da sie zu rasch zugrunde gingen, zu Stoffwechselversuchen nicht verwendet werden. Die Eisenmenge in Milz und Leber war fast immer vermehrt, nicht aber die der Darmwand. In den letzten zwei Fällen war der prozentuale Eisengehalt der Milz nicht vermehrt, wohl aber der absolute.

Zum Vergleich sind auch Versuche mit anderen Saponinen mit geringerer hämolytischer Kraft ausgeführt worden. Man ersieht aus der

Milz					Leber			Fe-Gehalt in Trocken-substanz des Dünndarmes	Fe-Gehalt in Trocken-substanz des Dickdarmes
änge	Breite	Höhe	Trocken-substanz	Fe-Gehalt in Trocken-substanz	Gewicht	Trocken-substanz	Fe-Gehalt in Trocken-substanz		
cm	cm	cm	g	Proz.	g	g	Proz.	Proz.	Proz.
xin									
7,7	1,2-1,3	0,2-0,4	0,65	0,392	71,98	18,72	0,086	0,032	0,019
6,8	0,6-1,3	0,2-0,4	0,45	0,245	59,16	11,93	0,078	—	—
7,0	0,9-1,0	0,3-0,5	0,55	0,187	101,80	21,86	0,080	—	—
6,5	0,6-1,1	0,2-0,4	0,35	0,275	91,60	20,89	0,061	—	—
7,0	0,7-1,2	0,2-0,5	0,62	0,365	84,67	20,08	0,071	0,037	0,027
6,0	0,6-0,7	0,1-0,3	0,36	0,322	118,43	28,43	0,073	0,026	0,027
8,0	1,0-1,7	0,4-0,7	1,29	0,159	140,50	30,40	0,057	—	—
8,0	1,0-1,6	0,3-0,8	0,88	0,150	102,83	24,37	0,049	—	—
sponine									
5,6	1,0			0,222	94,50		0,066	—	—
7,1	0,5-1,3	0,2-0,5	0,36	0,541	172,40	41,96	0,385*)	—	—
6,3	0,4-0,8	0,3	0,20	0,365	78,07	48,29	0,054	—	—
6,5	0,4-1,0	0,2-0,7	0,46	0,422	88,30	19,64	0,083*)	—	—
7,0	0,6-1,2	0,3-0,7	0,71	0,371	113,40	29,34	0,052	—	—
6,5	0,6-1,1	0,2-0,4	0,43	0,525	56,55	12,23	0,093	0,034	0,018
7,0	0,9-1,4	0,3-0,5	0,68	0,365	98,20	23,73	0,071	0,031	0,013

Tabelle, daß diese Saponine eine stärkere Eisenspeicherung in der Milz bzw. nach Milzexstirpation in der Leber bewirken.

Zur Erklärung dieser Tatsache muß man annehmen, daß geringe Mengen bzw. schwach wirksame Saponine auf die blutzerstörenden Organe reizend einwirken; deshalb nimmt durch ihre Einwirkung der Hämoglobingehalt des Blutes ab, der Eisengehalt von Milz bzw. Leber zu. Bei der starken Vergiftung, wie bei den letzten zwei Kaninchen, aber wird die Milz so schwer geschädigt, daß auch ihre Funktion als blutzerstörendes Organ leidet. Daher sehen wir, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, keine wesentliche Abnahme des Hämoglobins im Blute und keine prozentuale Zunahme des Eisengehalts in der Milz.

Tabelle XI.

VII Hb-Gehalt	VIII Hb-Gehalt
94	92
— ← Injektion	— ← Injektion
84 ← "	86 ← "
— ← "	— ← "
83 ← "	85 ← "
— ← "	85 ← "
86 ← "	

Die Werte dieser Tabelle stammen von Kaninchen VII und VIII der Tabelle X.

Der Milztumor ist wohl nicht auf Eisenspeicherung zu beziehen, sondern als Ausdruck einer pathologischen Veränderung der Milz anzusehen. Nach *Kobert*<sup>1)</sup> und *Isaak* und *Moekkel* wird durch das Quillajatoxin die Stützsubstanz der Milz zum Quellen gebracht. Durch diese Quellung sei der Milztumor hervorgerufen.

#### 7. Versuch.

Bei den folgenden zwei Versuchen wurde die Futtermenge bzw. ihr Eisengehalt genau in Rechnung gezogen, ferner die Eisenausscheidung im Harn und Kote und schließlich der Eisengehalt im Darne nach dem Tode des Tieres bestimmt. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der Hämoglobingehalt des Blutes erheblich herabgesetzt wurde.

*In der Nachperiode war die Eisenausscheidung im Kote stark vermehrt, die im Harn dagegen unverändert.*

<sup>1)</sup> Siehe *Aberhalden*, Biochem. Handlexikon 7, 167.

Tabelle XII.  
Quillajatoxin.

Körpergewicht 2,57 kg, männlich.

Datum	Im Futter enthaltene Eisennmenge mg	Menge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tagesharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Kot als Trockensubstanz g	Fe-Gehalt in Trockensubstanz mg	Prozentgehalt an Fe in Kot-Trockensubstanz	Hb-Gehalt im Blute	
5. II.	28,06	310	0,69	2,22	—	—	—	—	Carmin 0,3 g mit Schlundsonde gegeben
6.	34,16	315	0,49						
7.	25,01	405	0,63	3,20	4,92	0,154	—		
8.	18,30	175	0,27					1,54	
9.	28,06	320	—	27,00	79,28	0,294	74		
10.	27,45	235	—					16,20	
11.	26,84	245	—	2,46	5,20	19,08	0,367		
12.	33,55	255	—					2,00	
13.	30,50	470	1,16	1,47	3,22	4,25	9,94		
14.	26,23	300	0,74					3,64	
15.	27,45	355	0,71	—	11,25	32,74	0,291		50
16.	25,62	335	0,49					1,69	
17.	28,67	310	1,00	2,98	6,70	24,18	0,361		53
18.	28,06	315	1,15					2,33	
19.	15,86	0	—	3,92	39,85	125,52	0,315		55
20.	19,52	0	—					2,22	
21.	21,96	410	0,70	2,44	—	—	—		—
22.	18,30	200	0,60					—	
23.	21,96	290	0,68	—	—	—	—		—
24.	16,47	205	0,48					—	
25.	8,24	100	0,39	—	—	—	—		—
26.	1,83	140	0,16					—	
27.	0,75	90	0,22	—	—	—	—		—
28.	verendet							—	
Im Darmkanal enthalten . .					26,81	57,37	0,214		—

← Körpergewicht 2,76 kg pro kg 0,8 mg  
← Dasselbe  
← .  
← .  
← .  
← .  
← pro kg 0,8 mg  
Körpergew. 1,82 kg

	Gewicht g	Länge cm	Breite cm	Höhe cm	Trockensubstanz g	Proz. an Fe in Trockensubstanz
Milz . . . . .	2,25	6,5	0,6—1,1	0,2—0,4	0,43	0,525
Leber . . . . .	50,55	—	—	—	12,23	0,093
Dünndarm . . . .	—	—	—	—	—	0,034
Dickdarm . . . .	—	—	—	—	—	0,018

Das Verhältnis zwischen aufgenommenem und ausgeschiedenem Eisen zeigt die folgende Aufstellung.

Tabelle XIII.

	Aufgenommenes bzw. aus Hämoglobin frei gewordenen Fe mg	Ausgeschiedenes Fe mg	Bilanz mg
Vorperiode (5. bis 13. II.) . Versuchsperiode*) (14. bis 27. II.) . . . . .	251,93	149,29	- 102,64
Nach dem Tode im Darm- inhalt gefundenes Fe . .	—	57,37	—
	526,55	514,10	- 12,45

\*) Berechnung s. Versuch VIII.

Trotz der starken Hämoglobinabnahme erscheint die ausgeschiedene Eisenmenge geringer als die aufgenommene, ein Umstand, der darauf zurückzuführen sein dürfte, daß das im Mageninhalt vorhandene Eisen in diesem Versuche nicht mitbestimmt worden ist.

## 8. Versuch.

Dieser Versuch ist dem siebenten Versuch ganz ähnlich. Nur wurde in zwei Perioden Quillajatoxin injiziert. Außerdem wurde der Eisengehalt des Magen- und Darminhalts bestimmt. Die gefundenen Werte zeigt die Tabelle XIV.

Tabelle XIV.

Quillajatoxin. Körpergewicht 1,8 kg, männlich.

Datum	Im Futter enthaltene Fe-Menge mg	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tages- harn mg	Fe-Gehalt in 1000.ccm Harn mg	Kot als Trocken- substanz g	Trockener Kot Fe-Gehalt mg	Prozentgehalt an Eisen in der Kot-Trocken- substanz mg	Hb im Blute nach Sahli	
27. I.	36,60	210	0,83	3,97	—	—	—	—	Carmin 0,2 g mit Schlundsonde gegeben
28.	36,60	390	—	—	36,75	38,22	0,104	72	
29.	42,09	390	0,53	1,36					
30.	42,70	345	0,63	1,82	31,95	30,98	0,097	73	
31.	42,70	450	0,82						
1. II.	38,42	370	0,70	1,88	16,20	20,88	0,129	62	← pro kg 0,5 mg. intr. Inj. Dasselbe " " " " " " " "
2.	28,61	230	0,33	1,43					
3.	29,28	220	0,32	1,44	9,50	17,76	0,187	53	
4.	30,50	280	0,41	1,45					
5.	28,61	275	0,65	2,38	18,20	29,12	0,160	45	
6.	29,89	345	1,03	2,98					
7.	29,28	350	1,04		1,04	15,91	37,38	0,272	
8.	22,57	275	0,59	2,13					
9.	30,50	330	0,85	2,58	37,30	158,90	0,426	55	
10.	30,50	405	1,07	2,63					
11.	33,24	380	1,54	4,05	22,35	132,76	0,594	64	
12.	39,61	395	1,37	3,47					
13.	34,77	430	1,23	2,86	19,75	103,30	0,523	—	
14.	25,01	340	0,97						



Tabelle XIV (Fortsetzung).

Datum	Im Futter enthaltene Fe-Menge mg	Tagesmenge des Harns ccm	Fe-Gehalt im Tagesharn mg	Fe-Gehalt in 1000 ccm Harn mg	Kot als Trockensubstanz g	Trockener Kot Fe-Gehalt mg	Prozentgehalt an Eisen in der Kot-Trockensubstanz	Hb im Blute nach <i>SgMH</i>			
15. II.	33,55	350	0,84	2,41	29,40	103,48	0,352	75			
16.	24,40	375	0,59	1,56				17,47	56,60	0,324	—
17.	33,55	330	0,93	2,82	20,27	58,38	0,288				73
18.	41,17	430	1,40	3,22							21,21
19.	34,16	340	1,15	3,39	21,85	70,36	0,322	72			
20.	25,62	330	0,80	2,41				19,46	56,04	0,288	—
21.	30,50	310	0,75	3,77	17,10	49,94	0,292				72
22.	33,55	320	1,21	3,45				15,65	44,92	0,287	73
23.	28,97	305	0,55	1,80	12,19	33,04	0,271				—
24.	31,72	315	1,09	3,45				15,65	44,92	0,287	68
25.	32,02	350	1,12	3,22	15,65	44,92	0,287				—
26.	33,55	370	1,04	2,82				15,65	44,92	0,287	72
27.	34,77	400	1,13	2,82	15,65	44,92	0,287				—
28.	33,55	335	0,94	2,47				15,65	44,92	0,287	73
1. III.	12,20	180	0,45	2,47	15,65	44,92	0,287				← Körpergewicht 2,17 kg ← pro kg 0,6 mg. intr. Inj.
2.	26,23	200	0,70	3,51				15,65	44,92	0,287	← Dasselbe
3.	26,23	240	0,70	2,90	15,65	44,92	0,287				← " "
4.	17,08	135	0,48	3,52				15,65	44,92	0,287	← Körpergewicht 2,1 kg
Eisengehalt des Mageninhalts . . .						10,38	0,12				—
" " Darminhalts . . .						39,50	0,158	—			

	Gewicht g	Länge cm	Breite cm	Höhe cm	Trockensubstanz g	Prozentgehalt an Fe in Trockensubstanz
Milz . . . . .	3,47	7,0	0,9—1,4	0,2—0,5	0,68	0,365
Leber . . . . .	98,9	—	—	—	23,73	0,071
Dünndarm . . .	—	—	—	—	—	0,031
Dickdarm . . .	—	—	—	—	—	0,012

Der Hämoglobingehalt des Blutes nimmt, wie aus obiger Tabelle ersichtlich, auf die erste Serie von Injektionen hin rasch ab, um aber nach dem Aussetzen der Saponinverabreichung wieder auf seinen Ausgangswert zurückzukehren. Nach Beginn der zweiten Serie von Injektionen nimmt der Hämoglobingehalt wieder rasch ab. Die Eisenausscheidung durch den Darm steigt erst nach dem Aussetzen der Injektionen rapid an. Ungefähr gleichzeitig nimmt auch die Eisenausscheidung durch den Harn etwas zu.

Im folgenden wurde versucht, eine Bilanz der Eisenaufnahme bzw. -abgabe während des ganzen Versuchs aufzustellen. Dabei wurde nun auch der Eisengehalt von Magen- und Darminhalt mit berücksichtigt.

Tabelle XV.

	Aufgenommenes bzw. aus Hämoglobin frei gewordenes Fe*) mg	Aus- geschiedenes Fe mg	Bilanz mg
Vorperiode (27. bis 31. I.) .	200,69	72,70	- 127,99
I. Injektionsperiode (1. bis 8. II.) . . . . .	237,16	110,21	- 126,99
Intervall (9. bis 28. II.) .	644,72	929,05	+ 284,33
II. Injektionsperiode . . .	96,77	80,29	- 16,48
Im Mageninhalt . . . . .	—	10,38	—
Im Darminhalt . . . . .	—	39,50	—
	1179,34	1242,13	+ 62,79

\*) Die aus dem Hämoglobin freiwerdende Eisenmenge wurde unter folgenden Annahmen berechnet: 1. Die Blutmenge des Kaninchens beträgt etwa  $\frac{1}{20}$  des Körpergewichts (Rosemann, Physiologie, 14. Aufl., S. 96, 1916). 2. 1000 g Blut enthalten 0,43 g Eisen (Winterstein, Handbuch 2, Heft I, S. 1126, 1925). Das Körpergewicht des Kaninchens im 6. Versuch betrug z. B. 2,57 kg, es besaß demnach etwa 129 g Blut, d. i. 55 mg Eisen im Blute. Während des Versuchs wurde der Hämoglobingehalt um 18 Proz. (73 — 55 Proz.), d. i. etwa 14 mg vermindert.

Wir sehen demnach, daß die Eisenausscheidung während des ganzen Versuchs nur um 62 mg größer war als die Eisenaufnahme. Diese Eisenmenge ist bedeutend größer als die durch Zerstörung der Erythrocyten entstandene (etwa 14 mg), wir müssen daher annehmen, daß als Folge der Injektionen von Quillajatoxin auch eine *Zerstörung anderer Körperzellen* stattfindet, wobei es zur Ausscheidung ihres Eisenbestandes kommt.

Zusammenfassend läßt sich über das Verhalten der Milz folgendes sagen. Bei Injektion nicht letaler Dosen von Saponinen konnte eine Milzvergrößerung nie beobachtet werden. Nur in zwei Fällen von starker Vergiftung mit Quillajatoxin, die nach einigen Tagen zum Tode führten, war die Milz vergrößert. Es erscheint nun interessant, daß im letzteren Falle der Hämoglobingehalt des Blutes nur am Anfang abgenommen hatte, dann aber stehen blieb, während Injektionen von kleinen Dosen oder in vitro schwächer hämolytisch wirksamer Saponine viel stärkere Hämoglobinabnahme und eine stärkere prozentuale Eisenanreicherung in der Milz zur Folge hatten, ohne daß die Milz vergrößert gewesen wäre.

Dieser Umstand ist durch die Annahme zu erklären, daß die Saponine offenbar nicht *direkt an den roten Blutkörperchen* angreifen, sondern *reizend auf die Organe wirken, die die Fähigkeit haben, Blutkörperchen zu zerstören*. Eine Überdosierung wirkt aber auf diese Organe selbst toxisch. Als Ausdruck dieser Vergiftung sehen wir einerseits den Milztumor, andererseits die geringere Blutkörperchenzerstörung.

Wir sahen in allen Versuchen, daß die Saponininjektionen eine Zerstörung von roten Blutkörperchen zur Folge hatten. Dementsprechend fanden wir immer eine Abnahme des Hämoglobingehalts im

Blute, ferner eine Zunahme des Eisengehalts in der Milz. Die Eisenausscheidung durch den Harn erwies sich von der Saponinwirkung ziemlich unabhängig<sup>1)</sup>, dagegen war die Eisenausscheidung im Kote immer vermehrt. Nach den Angaben von *G. Wendt*<sup>2)</sup> werden die aus Hämoglobin in Milz und Knochenmark entstandenen Eisenverbindungen — wenn sie im Überschuß vorhanden sind — nach der Leber abtransportiert, ein weiterer Überschuß wird vom Darm aufgefangen und von hier in den Kot ausgeschieden.

Unsere Versuche stehen damit in einem gewissen Widerspruch. Denn wir sahen, daß selbst bei stärkster Eisenspeicherung in der Milz eine Zunahme des Eisengehalts der Leber nicht festzustellen war. Nur nach Extirpation der Milz wurde die Leber zum Eisenspeicher. Die Leber scheint dabei die Milz vollständig ersetzen zu können, so daß die Eisenausscheidung durch die Milzextirpation gar nicht verändert wird. Auf diese Weise werden auch die einleitend angeführten Ergebnisse der Untersuchungen von *Iryer* verständlich. Dabei kann auch ohne Milzextirpation Eisen in den Darm übergehen. Es kann demnach auch Eisen in den Darm gelangen, ohne daß ein Eisenüberschuß in der Leber vorhanden ist.

Diese starke Eisenausscheidung im Kote ist nicht nur auf die Zerstörung der roten Blutkörperchen, sondern auf den Abbau anderer Körperzellen zu beziehen, denn wir sahen, daß die ausgeschiedene Eisenmenge bedeutend größer ist als die aus den zerstörten roten Blutkörperchen frei gewordene. Damit steht im Einklang, daß durch die Saponininjektionen das Körpergewicht immer um ein beträchtliches sank.

Ebenso wie die Leber ist auch die Darmwand nicht als Eisenspeicher aufzufassen.

#### Zusammenfassung.

1. Injektionen nicht letaler Dosen verschiedener Saponine hatten immer eine Zerstörung von Erythrocyten zur Folge. Diese Wirkung war bei kleinen Dosen und bei Saponinen, die in vitro schwächere hämolytische Fähigkeiten hatten, größer als bei dem stark wirksamen Quillajatoxin.

2. Die Saponine in nicht toxischen Dosen lösten unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen in vivo die roten Blutkörperchen nicht direkt auf, sondern wirkten anscheinend auf die hämoklastischen Organe, vor allem die Milz, reizend. Bei Schädigung der Milz durch Überdosierung des Giftes war die Zerstörung der Erythrocyten geringer.

---

<sup>1)</sup> Vgl. *F. Kisch*, Wien. Arch. f. inn. Med. 3, Heft 1/2, S. 283, 1921.

<sup>2)</sup> *G. v. Wendt*, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 7, 241.

3. Bei einer Saponineinwirkung, die starke Zerstörung der Erythrocyten zur Folge hatte, wurde nie ein Milztumor beobachtet. Nur bei Überdosierung wurde in zwei Fällen eine mäßige Milzvergrößerung festgestellt, die vielleicht auf Quellung der Stützsubstanz der Milz zurückzuführen sein könnte.

4. Als Eisenspeicher für die aus den Erythrocyten gebildeten Verbindungen fungiert die Milz. Nur nach Milzexstirpation tritt anscheinend die Leber an ihre Stelle. Eine Eisenspeicherung in der Darmwand wurde nicht beobachtet. Dagegen wurde stets die Hauptmenge des verfügbar gewordenen Eisens ins Darmlumen hinein ausgeschieden.

5. Die Saponininjektionen waren auf die Eisenausscheidung durch den Harn ohne wesentlichen Einfluß, dagegen steigerten sie die Eisenausscheidung im Kote bedeutend.

6. Die vermehrte Eisenausscheidung durch den Darm war nicht nur durch den erhöhten Blutzerfall, sondern auch durch den Abbau anderer Körpergewebe bedingt.

---

**Die Verwendbarkeit der Methoden  
zur quantitativen Katalase- und Peroxydasebestimmung  
für Untersuchungen an Bakterien.**

Von

**Otto Kirchner und Hermann Nagell.**

(Aus dem hygienischen Institut und der dermatologischen Klinik der  
Universität Rostock.)

(Eingegangen am 8. Mai 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die heutige Anschauung sieht in der lebenden Zelle nicht mehr ein Riesenmolekül, sondern ein hochzusammengesetztes, heterogenes, chemisches System, aus einer großen Menge chemischer Individuen bestehend, unter denen die Enzyme eine bedeutende Rolle spielen (*Thunberg*). Spezifisch eingestellte Enzyme sind die Mittel, mit denen die Zelle die ihr zugeführten Stoffe abbaut und umbaut, Enzyme, zu deren Aufsuchung *Thunberg* die Methylenblaureduktionsmethode ausgearbeitet hat, die von englischen Forschern (*Quastel* u. a.) in ausgedehntem Maße zum Studium des Stoffwechsels von Bakterien herangezogen ist. Mit weniger subtiler Methodik nachweisbar, daher als Zellfermente länger und besser bekannt sind die Katalase, die Peroxydasen und die Oxydasen.

Die Katalase, das Wasserstoffsperoxyd in Wasser und molekularen Sauerstoff spaltende Ferment, ist quantitativer Bestimmung zugänglich und genau studiert. Für die Peroxydasen, dadurch charakterisiert, daß sie den Sauerstoff des Wasserstoffsperoxyds nicht molekular frei machen, sondern ihn nur auf phenolartige Substanzen zu übertragen vermögen, sowie für die Oxydasen, die den Sauerstoff der Luft durch Vermittlung von peroxydierbaren, als „Oxygenasen“ bezeichneten Verbindungen auf die gleichen Substanzen übertragen, sind ebenfalls Methoden zur quantitativen Bestimmung vorhanden, die das Pyrogallol als zu oxydierendes Phenol verwenden.

Auf bakteriologischem Gebiet liegen nun eine Reihe von Arbeiten über den Katalasegehalt von Bakterien vor, hinsichtlich deren auf die jüngste dieser Arbeiten verwiesen sei, die von *Virtanen* und *Karström*, welche die katalatische Fähigkeit einer ganzen Reihe von Bakterien quantitativ be-

stimmen, den Katalasegehalt pro Zelle durch den „Quotienten Kat.f. =  $\frac{\text{Reaktionskonstante}}{\text{Zellzahl}}$ “ ausdrücken und so vergleichbare Zahlen erhalten.

Besonders hervorgehoben seien die älteren systematischen Untersuchungen von *Jorns* über die Bakterienkatalase, der die auch von uns befolgte Methodik im Prinzip ausgebildet hat. Über Bakterienperoxydase sind die Angaben dagegen nur spärlich; quantitative Bestimmungen sind uns nicht bekannt.

Es war Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die katalatischen und peroxydatischen Fähigkeiten einiger Bakterienarten quantitativ zu bestimmen, vor allem im Hinblick darauf, ob das Verhältnis zwischen Katalase- und Peroxydasegehalt bei den verschiedenen Bakterien ein konstantes oder ein wechselndes sei, d. h. ob verschiedene Bakterien Unterschiede in der Art, wie sie das Zellgift  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu beseitigen vermögen, aufweisen oder nicht. Eine solche Feststellung schien in verschiedener Beziehung von Interesse, einmal in biologischer Hinsicht insofern, als das  $\text{H}_2\text{O}_2$  nach der *Wieland'schen* Theorie der Atmung als Hydrierungsprodukt des Sauerstoffs physiologischerweise in erheblichem Umfang entsteht und im selben Maße, sei es durch Katalase oder andere Enzyme wieder beseitigt werden muß; andererseits konnte bei unterschiedlichem Verhalten verschiedener Bakterien gegenüber dem  $\text{H}_2\text{O}_2$  ein Licht auf die Wirkungsweise des  $\text{H}_2\text{O}_2$  als Desinfektionsmittel fallen. Ein gleicher Ausblick böte sich auch hinsichtlich der peroxydatischen bzw. oxydatischen Fähigkeiten, da die Gruppe der Phenole, auf welche die Peroxydase den O des  $\text{H}_2\text{O}_2$  übertragen, Desinfektionsmittel wie die Kresole umfaßt, deren Oxydierbarkeit durch pflanzliche Enzyme nachgewiesen ist (*Onslow* und *Robinson*). Abgesehen davon, würden Methoden zur quantitativen Enzymbestimmung, an die besonderen Verhältnisse angepaßt, vielleicht für manche mikrobiologischen Probleme, z. B. für die Frage nach der Natur des *d'Herelleschen* Phänomens, mit Nutzen herangezogen werden können.

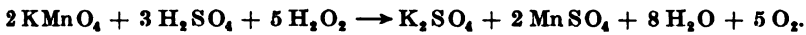
Die für die Katalase- wie für die Peroxydasebestimmungen verwendeten Bakterienarten waren der *Diplococcus gonorrhoeae*, der *Staphylococcus aureus*, für welche quantitative Bestimmungen noch nicht vorliegen, sowie zum Vergleich das *B. coli*, das sich unter den von *Virtanen* und *Karström* untersuchten Arten befindet, und zwar wurden Abschwemmungen von 48stündigen Agar- (bzw. für Gonokokken Ascitesagar-) Kulturen benutzt.

*Virtanen* und *Karström* verwenden zur Charakterisierung des Katalasegehalts der Bakterien den Quotienten Kat.f. =  $\frac{\text{Reaktionskonstante } k}{\text{Zellzahl}}$ , berechnen also die Katalasewirksamkeit pro Zelle. Die Reaktionskonstante  $k$  wird unter der Voraussetzung, daß die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Spaltung eine monomolekulare Reaktion darstellt, durch die Formel

$$k = 0,4545 \cdot \frac{1}{t} \log \frac{a}{(a-x)}$$

ermittelt, eine Voraussetzung, die innerhalb gewisser Bedingungen zutrifft; hinsichtlich der zahlreichen physiologisch-chemischen Arbeiten hierüber sei auf *Virtanen* und *Karström* verwiesen.

Zur *Katalasebestimmung* befolgten wir im Prinzip die *Virtanen*- und *Karströmsche* Versuchsanordnung, deren Bedingungen weiterhin zum Vergleich mit den Peroxydaseversuchen hinsichtlich der Temperatur, der  $p_H$  usw. variiert wurden. Diese Versuchsanordnung bedient sich eines  $m/150$  Phosphatgemischs der  $p_H$  6,5 in einer solchen Menge, daß sich zusammen mit der Bakterienaufschwemmung und der  $H_2O_2$ -Lösung die Gesamtmenge 50 ccm ergibt. Die Versuchstemperatur ist  $0^\circ$ . Die Bestimmung des nach gewissen Zeiten noch vorhandenen  $H_2O_2$  erfolgt so, daß jeweils 5 ccm aus dem Versuchskolben entnommen und in ein Becherglas gegeben werden, welches 25 ccm mit Schwefelsäure (zur sofortigen Unterbrechung der Katalasewirkung) angesäuerten Wassers enthält; die Titration geschieht mit  $n/40$  Kaliumpermanganatlösung nach der Formel:



Es wird also die verschwundene  $H_2O_2$ -Menge bestimmt, in der Annahme, daß eine andersartige, etwa peroxydatische  $H_2O_2$ -Zersetzung neben der katalatischen vollkommen verschwindet, was berechtigt ist, da ja oxydierbare Phenole, wenn überhaupt, so nur in Spuren vorhanden sind. Im Verlauf unserer Versuche erwies es sich uns als zweckmäßig, an Stelle des Kolbens eine Saugflasche zu verwenden und jeweils 2 Minuten vor der alle 5 Minuten erfolgenden Entnahme unter Schütteln zu evakuieren: einmal wird ein gleichmäßiger Gang erzielt, d. h. die Reaktionsgeschwindigkeiten in den aufeinander folgenden Zeiträumen von 5 Minuten bleiben konstanter, was nach *Waentig* und *Steche* seinen Grund darin hat, daß der Sauerstoffübersättigung der Versuchsfüssigkeit entgegengewirkt wird; vor allem aber wird vermieden, daß sich bei der Entnahme in der Pipette je nach dem Grad der  $O_2$ -Übersättigung mehr oder weniger große und zahlreiche Sauerstoffbläschen bilden und entsprechende Pipettierfehler bedingen. Es sei auch noch auf die Notwendigkeit sorgsamer Reinigung der Gefäße hingewiesen; die Versuchsgefäße wurden vor dem Gebrauch stets nochmals mit Aqua dest. ausgekocht. Andernfalls treten leicht Unregelmäßigkeiten auf, für die *Waentig* und *Steche* katalytisch wirkende Verunreinigungen der Gefäßwände verantwortlich machen.

Die Bakterienzahl bestimmten wir mittels der *Thoma-Zeisschen* Zählkammer, und zwar wurde zunächst die Bakterienabschwemmung gezählt und so verdünnt, daß sie z. B. bei *B. coli*  $5 \cdot 10^9$  Keime in 1 ccm enthielt; zur Kontrolle wurde dann eine zweite Auszählung der im eigentlichen Versuch verwendeten Verdünnung vorgenommen. Dieser Art der Keimzählung haftet eine ziemliche Unsicherheit an, die wahrscheinlich größer ist als diejenige der von *Virtanen* und *Karström* benutzten Methode der Keimzählung; immerhin wird man die für den Quotienten *Kat.f.*

$$= \frac{k}{\text{Zellzahl}}$$
 gefundenen Werte, wenn sie in einer Anzahl von Versuchen einigermäßen übereinstimmen, als annähernd richtig gelten lassen können.

Als erste wurden nun eine Reihe Versuche unternommen, um festzustellen, wie sich die *Proportionalität zwischen Zellzahl und Reaktionskonstante* gestaltet. Als Beispiel sei der folgende Versuch angeführt.

Tabelle I.

B. coli I, 48 Stunden auf Agar, mit physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt.

a) 5,0 ccm B. coli-Abschwemmung + 44,7 ccm m/150 Phosphat ( $p_H$  6,4) + 0,28 ccm Perhydrol *Merck*; Temperatur 0°.

Min.	n/40 K Mn O <sub>4</sub> ccm	$0,4545 k = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \log \frac{c_1}{c_2}$ *)
0	23,0	
5	13,0	0,021 29
10	14,2	0,020 59
15	10,9	0,023 97
20	7,9	0,027 96
25	6,0	0,023 89
30	4,3	0,028 93

Mittelwert von  $0,4545 k = 0,02444$ ;  $k = 0,054$ .  
Zellzahl  $1 \cdot 10^9$ ; Kat.f. =  $0,054 \cdot 10^{-9}$ .

\*)  $t_1$  und  $t_2$  sind Zeitpunkte der Entnahme,  $c_1$  und  $c_2$  die zugehörigen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Werte, ausgedrückt in ccm n/40 K Mn O<sub>4</sub>. Die Reaktionskonstanten wurden nicht wie bei Virtanen und Karström für die ersten 5, die ersten 10, die ersten 15 Minuten usw. berechnet, sondern für die aufeinander folgenden Zeiträume von je 5 Minuten; es kommt so die Tendenz zum Ansteigen oder Fallen scharfer zum Ausdruck, die Reihen erscheinen allerdings unregelmäßiger.

b) 2,5 ccm B. coli-Abschwemmung + 47,2 ccm m/150 Phosphat ( $p_H$  6,4) + 0,28 ccm Perhydrol *Merck*; Temperatur 0°.

Min.	n/40 K Mn O <sub>4</sub> ccm	0,4545 k	Min.	n/40 K Mn O <sub>4</sub> ccm	0,4545 k
0	20,3		15	13,9	0,010 58
5	17,6	0,012 39	20	12,5	0,009 22
10	15,7	0,009 92	25	11,0	0,009 25

Mittel von  $0,4545 k = 0,01027$ ;  $k = 0,023$ .  
Zellzahl  $0,5 \cdot 10^9$ ; Kat.f. =  $0,046 \cdot 10^{-9}$ .

c) 1,25 ccm B. coli-Abschwemmung.

Min.	n/40 K Mn O <sub>4</sub> ccm	0,4545 k	Min.	n/40 K Mn O <sub>4</sub> ccm	0,4545 k
0	21,9		20	17,4	0,004 38
5	20,4	0,006 16	25	16,5	0,004 61
10	19,1	0,005 72	30	15,7	0,004 32
15	18,3	0,003 72			

Mittel  $0,00481$ ;  $k = 0,0105$ .  
Zellzahl  $0,25 \cdot 10^9$ ; Kat.f. =  $0,042 \cdot 10^{-9}$ .

Die Werte für die Reaktionskonstante  $k$  zeigen im Versuch a ansteigenden Gang, d. h. die Werte werden in den späteren Zeiträumen höher, während in den Versuchen b und c, bei Verwendung von  $\frac{1}{2}$  bzw.  $\frac{1}{4}$  der Bakterienmenge, die  $k$ -Werte ziemlich konstant sind bzw. abfallen. Das hat vielleicht seine Ursache darin, daß in a die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration, die anfangs n/10



beträgt, rasch auf eine nicht mehr schädigende Konzentration abfällt. In Versuch a würde also die nach *Waentig* und *Steche* normalerweise zu erwartende Steigerung der *k*-Werte (da die Reaktionsgeschwindigkeit durch adsorptive Vorgänge beeinflusst wird und die Adsorption in verdünnten Lösungen eine relativ stärkere ist) zum Ausdruck kommen im Gegensatz zu b und c, deren konstante bzw. fallende Werte für *k*, sei es durch eine schädigende Wirkung der länger bestehenden hohen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration, sei es durch andere schädigende Einflüsse zu deuten wären. Immerhin zeigt der Versuch, und das ist für die Brauchbarkeit wesentlich, daß man praktisch Proportionalität zwischen Zellzahl und Reaktionskonstante auch bei recht verschiedener Bakterienmenge annehmen kann; man wird aber zweckmäßig die zu verwendende Bakterienmenge so wählen, daß der Verbrauch an KMnO<sub>4</sub>, also die Abnahme der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration stets annähernd die gleiche und nicht zu klein ist (siehe unten). Tabelle II gibt eine Übersicht über einige weitere derartige Versuche, aus denen die praktische Proportionalität zwischen Bakterienzahl und Reaktionskonstante deutlich hervorgeht.

Tabelle II.

Stamm	Reaktionskonstante <i>k</i> (Mittelwert) bei Anwendung der		
	vierfachen Bakterienmenge	zweifachen Bakterienmenge	einfachen Bakterienmenge
Coli II . . . . .	0,066	0,029	0,015
Coli III . . . . .	0,055	0,027	—
Go I . . . . .	0,111	0,050	0,026
Go II . . . . .	0,093	0,048	0,023

Der Einfluß der *Temperatur* auf die Geschwindigkeit der katalatischen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Spaltung ist gering; nach *Waentig* und *Steche* ist sie für Blutkatalase bei 30° kaum doppelt so groß als bei 0°. Die Resultate einiger unserer Versuche an Bakterien sind der Raumersparnis halber in der Tabelle III zusammengestellt:

Tabelle III.

Stamm	Bakterienzahl pro ccm	Temp. °C	Kat.f = $\frac{k}{\text{Zellzahl}}$	Gang der Reaktionskonstante <i>k</i>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Menge in ccm KMnO <sub>4</sub>	
					zu Beginn	zu Versuchsende n. 30 Min.
Coli VII a	1,0 · 10 <sup>9</sup>	0	0,033 · 10 <sup>-9</sup>	konstant bis steigend	22,3	8,0
		20	0,070 · 10 <sup>-9</sup>	leicht fallend	21,3	2,2
		37	0,083 · 10 <sup>-9</sup>	konstant		
		0	0,028 · 10 <sup>-9</sup>	konstant	23,2	15,0
e	0,5 · 10 <sup>9</sup>	20	0,057 · 10 <sup>-9</sup>	leicht fallend	23,3	9,3
		37	0,046 · 10 <sup>-9</sup>	stark fallend		
Staph. I a	50 · 10 <sup>6</sup>	0	0,98 · 10 <sup>-9</sup>	konstant	20,9	4,0
		20	1,54 · 10 <sup>-9</sup>	ziemlich konstant	20,3	1,7
		37	1,95 · 10 <sup>-9</sup>	kräftig fallend		

Zu Tabelle III ist zu bemerken: Der Gang der Reaktionskonstanten — Konstanz, Tendenz zur Zunahme oder Abnahme der Werte — ist an-

geführt, weil er für die Bewertung des Versuchs wesentlich ist; die Angabe der Titrationswerte zu Anfang und Ende des Versuchs erfolgt zur praktischen Orientierung, weil danach die zu verwendende Bakterienmenge einzustellen ist. In den Kolliversuchen a bis c hat also, nach dem Gang der Reaktionskonstante zu urteilen, eine Schädigung nicht stattgefunden, wohl aber in den Versuchen d bis f, in welchen nur die halbe Bakterienmenge verwendet wurde. In f kommt diese Schädigung einmal in dem starken Abfallen der Reaktionskonstante, dann auch in dem verhältnismäßig niedrigen Quotienten  $Kat.f.$  zum Ausdruck. Soweit sie nun den Anforderungen an die Konstanz der Reaktionskonstante entsprechen, zeigen die Versuche mit *B. coli* wie mit *Staph. aur.* eine ähnliche geringe Abhängigkeit von der Temperatur wie bei Blutkatalase. Besonders betonen möchten wir nochmals die Abhängigkeit der Konstanz der  $k$ -Werte bei diesen höheren Temperaturen von der verwendeten Bakterienmenge, wofür der Versuch mit *B. coli* recht instruktiv ist.

Die Möglichkeit der Schädigung durch zu hohe  $H_2O_2$ -Konzentration wurde mehrfach erwähnt. Es war deshalb zu untersuchen, wieweit eine solche bei Bakterien als Versuchsobjekten innerhalb der Versuchszeit statthat, insbesondere auch bei den für die Peroxydaseversuche eingehaltenen Temperaturen von 20 und 37°. Zu diesem Zwecke wurde in Parallelversuchen neben der üblichen  $n/10 H_2O_2$ -Konzentration die Konzentration  $n/100$  verwandt. Im letzteren Falle wurde von der für die übrigen Versuche geltenden Anordnung abgegangen: zur Titration wurde eine  $n/100$  statt der gewöhnlichen  $n/40$  Lösung von Kaliumpermanganat verwandt, weiter wurde das Gesamtvolumen mit 200 ccm statt 50 ccm viermal so groß genommen und dementsprechend jeweils 20 ccm statt 5 ccm zur Titration entnommen. Auf diese Weise war es möglich, die Titration bei der  $n/100 H_2O_2$ -Konzentration ebenso genau auszuführen wie bei der  $n/10 H_2O_2$ -Konzentration. Die folgende Tabelle IV zeigt die Ergebnisse. Die verwendete Bakterienmenge wurde absichtlich ziemlich niedrig gewählt, damit die  $H_2O_2$ -Zersetzung nicht zu rasch vor sich gehe und eine durch die verschiedene  $H_2O_2$ -Konzentration bedingte Verschiedenheit im Gang der Reaktionskonstanten deutlich zum Ausdruck komme.

Tabelle IV.

*Staphyloc. aureus*, 48 Stunden auf Agar, mit physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt.

n/10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentration: 1 ccm <i>Staph.</i> -Abschw. + 47,7 ccm $n/150$ Phosphat ( $p_H$ 7,2) + 0,28 ccm Perhydrol; je 5 ccm zur Ti- tration entnommen			n/100 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentration: 4 ccm <i>Staph.</i> -Abschw. + 191,4 ccm Phosphat ( $p_H$ 7,2) + 0,56 ccm 6proz. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; je 20 ccm zur Titration entnommen		
Min.	n/40 KMnO <sub>4</sub> ccm	$\frac{0,4545 k}{t_2 - t_1} \cdot \log \frac{c_1}{c_2}$	Min.	n/100 KMnO <sub>4</sub> ccm	0,4545 k
a) Temperatur 20°			a) Temperatur 20°		
0	21,9		0	22,2	
5	18,3	0,015 59	5	18,4	0,016 31
10	15,8	0,012 76	10	15,4	0,015 46
15	13,5	0,013 67	15	13,0	0,014 72
20	11,9	0,010 96	20	11,2	0,012 94
25	10,5	0,010 87	25	9,7	0,012 49
30	9,2	0,011 48	30	8,5	0,011 47
	Mittel	0,012 56		Mittel	0,013 89

Tabelle IV (Fortsetzung).

n/10 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentration: 1 ccm Staph.-Abschw. + 47,7 ccm m/150 Phosphat (p <sub>H</sub> 7,2) + 0,28 ccm Perhydrol; je 5 ccm zur Ti- tration entnommen			n/100 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentration: 4 ccm Staph.-Abschw. + 191,4 ccm Phosphat (p <sub>H</sub> 7,2) + 0,56 ccm 6proz. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ; je 20 ccm zur Titration entnommen		
Min.	n/40 KMnO <sub>4</sub> ccm	$\frac{0,4545 k}{t_2 - t_1} \cdot \log \frac{c_1}{c_2}$	Min.	n/100 KMnO <sub>4</sub> ccm	0,4545 k
b) Temperatur 37°			b) Temperatur 37°		
0	21,9		0	22,3	
5	18,2	0,018 07	5	18,0	0,018 61
10	16,7	0,007 47	10	16,5	0,007 56
15	16,1	0,003 18	15	14,5	0,008 01
20	15,9	0,001 09	20	14,2	0,003 03
25	15,9	0,000 00	25	14,1	0,000 61

Eigenartigerweise zeigen nun die Reaktionskonstanten bei einer Anfangsgeschwindigkeit von n/100 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaum ein günstigeres Verhalten als bei der zehnfachen Anfangskonzentration. Man sollte annehmen, daß, wenn die Reaktionskonstanten in dem n/10 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Versuche bei 20° z. B. langsam abfallen — nach Annahme infolge einer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Schädigung —, im Parallelversuch bei der zehnfach geringeren Konzentration der Abfall der Reaktionskonstanten zum mindesten erheblich geringer sein würde; das ist aber nicht der Fall. Auch in den Versuchen bei 37° verhalten sich die Reaktionskonstanten recht ähnlich; bei beiden Konzentrationen ist sie nach 25 Minuten auf 0 herabgesunken.

Ohne über die Ursachen des Abfallens der Reaktionskonstanten entscheiden zu können, geht aus diesem Versuch jedenfalls hervor, daß die Verwendung der n/100 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration gegenüber der n/10 kaum einen Vorteil bietet. Der Abfall der Reaktionskonstanten ist selbst in diesem Versuch mit niedriger Bakterienmenge innerhalb der für die Peroxydaseversuche in Frage kommenden Versuchsdauer (5 bis 15 Minuten) bei der Temperatur von 20° ziemlich gering und, wie oben dargestellt, bei Verwendung einer größeren Menge ganz zu vermeiden. Allerdings nicht bei allen Bakterien; für die Gonokokken z. B. scheint das nicht zuzutreffen, wie aus der Gegenüberstellung (Tabelle V) hervorgeht.

Tabelle V.

Staph. aureus I; m/150 Phosphat der p <sub>H</sub> 7,2			Diploc. gon. III; m/150 Phosphat der p <sub>H</sub> 7,2		
Min.	n/40 KMnO <sub>4</sub>	0,4545 k	Min.	n/40 KMnO <sub>4</sub>	0,4545 k
a) Temperatur 20°			a) Temperatur 20°		
0	19,7		0	21,6	
5	14,4	0,027 22	5	15,7	0,027 71
10	10,4	0,028 27	10	12,8	0,017 75
15	7,6	0,027 24	15	10,7	0,015 57
20	5,6	0,026 52	20	9,3	0,012 18
25	4,1	0,027 08	25	8,3	0,009 88
Zellzahl 50 · 10 <sup>6</sup>			Zellzahl 7 · 10 <sup>6</sup>		

Tabelle V (Fortsetzung).

Staph. aureus I; m/150 Phosphat der $p_H$ 7,2			Diploc. gon. III; m/150 Phosphat der $p_H$ 7,2		
Min.	n/40 $KMnO_4$	0,4545 k	Min.	n/40 $KMnO_4$	0,4545 k
b) Temperatur 37°			b) Temperatur 37°		
0	20,7		0	19,5	
5	10,8	0,056 56	5	14,7	0,024 74
10	5,5	0,058 61	10	13,5	0,007 39
15	3,5	0,039 26	15	12,6	0,005 99
20	2,7	0,022 54	20	12,6	0,000 00
Zellzahl $50 \cdot 10^6$			Zellzahl $7 \cdot 10^6$		

Die Bakterienzahl in den Gonokokkenversuchen wurde so gewählt, daß die Größe der  $H_2O_2$ -Zersetzung bei 20° in den ersten 5 Minuten die gleiche war als im Staphylokokkenversuch; dazu war wegen des größeren Katalasegehalts der Gonokokken eine viel geringere Gonokokkenmenge erforderlich. Die ganz erhebliche Schädigung in den Gonokokkenversuchen ist aber nur zum kleinen Teil auf die geringere Zellzahl zurückzuführen, denn bei Verwendung der zehnfach geringeren  $H_2O_2$ -Konzentration, n/100, ist ein gleicher Abfall der Reaktionskonstanten festzustellen. Offenbar sind also die Gonokokken, zumal bei Temperaturen über 0°, empfindlicher als Staph. aureus und B. coli.

Da die Peroxydaseversuche aus später zu besprechenden Gründen bei der  $p_H$  7,2 auszuführen waren, so untersuchten wir in Parallelversuchen, die teils bei 0°, teils bei 20° abliefen, ob die Katalasereaktion bei dieser  $p_H$  anders verläuft als bei der  $p_H$  6,4. Die Versuche, die an allen drei Bakterienarten ausgeführt wurden, ergaben für die verschiedenen Arten ein verschiedenes Bild: B. coli zeigte ziemlich genau die gleichen Werte; Staph. aureus gab im Phosphatgemisch mit wenigen Ausnahmen um etwa 20 bis 30 Proz. höhere Werte als in Phosphatgemisch der  $p_H$  6,4; bei den vier geprüften Gonokokkenstämmen war die Abhängigkeit eine ausgesprochene, die Reaktionskonstanten bei  $p_H$  7,2 waren um 60 bis 100 Proz. größer als bei der  $p_H$  6,4.

Schließlich sei in Tabelle VI eine Übersicht über die von uns gefundenen Werte für den Quotienten Kat.f. der untersuchten Stämme gegeben.

Tabelle VI. Temperatur 0°.

Bakterienart	m/150 Phosphat der $p_H$	Kat.f. = $\frac{k}{\text{Bakterienzahl}}$
B. col. I . . .	6,4	$0,05 \cdot 10^{-9}$
" II . . .	6,4	$0,06 \cdot 10^{-9}$
" IV . . .	7,2	$0,10 \cdot 10^{-9}$
" IV*) . . .	7,2	$0,05 \cdot 10^{-9}$
" IX . . .	7,2	$0,07 \cdot 10^{-9}$
Staph. aur. I . . .	7,2	$1,00 \cdot 10^{-9}$
" " II . . .	7,2	$0,90 \cdot 10^{-9}$
" " IV . . .	7,2	$0,80 \cdot 10^{-9}$
Go I . . . . .	7,2	$2,20 \cdot 10^{-9}$
" II . . . . .	7,2	$2,30 \cdot 10^{-9}$
" IV . . . . .	7,2	$4,00 \cdot 10^{-9}$
" V . . . . .	7,2	$3,60 \cdot 10^{-9}$

\*) Wiederholung des Versuches mit anderer Abschwemmung.

### Peroxydaseuntersuchungen.

Zum qualitativen Peroxydasenachweis sind eine ganze Reihe von Reaktionen angegeben, von denen einige auch zur Grundlage von Methoden zur quantitativen Peroxydasebestimmung gemacht worden sind (s. *Chodat* in *Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod.*, Abt. IV). Unter diesen ist die Pyrogallolmethode die am besten ausgearbeitete und schien für unsere Zwecke am geeignetsten zu sein. Es wird dabei das farblose Purpurogallol durch Peroxydase bei Gegenwart von  $H_2O_2$  in das gefärbte Purpurogallin übergeführt. Die ursprüngliche, von *Bach* und *Chodat* für Pflanzensäfte angegebene Form der Pyrogallolmethode — kleine Gesamtmenge (50 ccm), hohe  $H_2O_2$ -Konzentration, lange Versuchsdauer (12 Stunden), deshalb Thymolzusatz, Bestimmung der gebildeten Purpurogallinniederschläge durch Abfiltrieren und Wägen — war jedoch vor allem der langen Versuchsdauer wegen für unsere Zwecke unbrauchbar; die Modifikation von *Willstätter* und *Stoll* — mit kleiner Versuchsdauer, kleiner  $H_2O_2$ -Konzentration, dafür großer Flüssigkeitsmenge (2 Liter Aqua dest.) und mit kolorimetrischer Bestimmung des mit Äther ausgeschüttelten Purpurogallins — erwies sich als schwer durchführbar aus dem Grunde, weil bei einer Flüssigkeitsmenge von 2 Litern eine zu große Bakterienmenge erforderlich ist, um innerhalb der Versuchszeit eine genügende Purpurogallinmenge zu erhalten.

Nach einigen Versuchen entschlossen wir uns deshalb zu der folgenden Versuchsanordnung als für unsere Zwecke am geeignetsten: die Versuchsdauer war 5 (bzw. 15) Minuten, die Gesamtmenge 50 ccm, die  $H_2O_2$ -Endkonzentration  $n/10$ , die Pyrogallolzusätze 0,13 g. Die Peroxydaseversuche wurden so bis auf das Pyrogallol in genau der gleichen Weise angesetzt wie die Katalaseversuche. Es wurde also bei jeder Bakterienabschwemmung zunächst im Katalaseversuch die zu verwendende Bakterienmenge in oben beschriebener Weise so gewählt, daß die  $H_2O_2$ -Zersetzung in bestimmter Weise fortschritt, mit dieser Bakterienmenge dann ein Katalaseversuch bei 20° mit Phosphatgemisch der  $p_H$  7,2 angesetzt und darauf mit der gleichen Bakterienmenge unter genau denselben Bedingungen die Peroxydaseversuche ausgeführt.

Der Versuchsbeginn rechnete von dem Augenblick des Pyrogallolzusatzes ab; die Unterbrechung geschah durch Zusatz von 3 ccm 25proz. Schwefelsäure, worauf sofort mit Äther ausgeschüttelt und die kolorimetrische Bestimmung vorgenommen wurde. Dazu diente der *Walpole'sche* Komparator. Die Teströhrchen enthielten je 10 ccm ätherischer Purpurogallinlösung mit 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, 0,4, 0,45 und 0,5 mg Purpurogallin, das aus Pyrogallol mit Nitrit und Ameisensäure dargestellt (*Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* 47, 337, 1914) und aus Äther umkristallisiert war. Aus der Menge des zum Ausschütteln gebrauchten Äthers und seinem kolorimetrisch bestimmten Purpurogallinwert wird die gebildete Purpurogallinmenge in Milligrammen berechnet.

Während das katalatische Vermögen durch die Geschwindigkeit der  $H_2O_2$ -Spaltung ausgedrückt wird, dient als Maß der peroxydatischen Fähigkeit, die in einem bestimmten Zeitraum gebildete Purpurogallinmenge. Da Peroxydase- wie Katalaseversuche unter den gleichen Bedingungen ausgeführt werden, so hat man in den Titrationswerten des Katalaseversuchs einen Anhalt für die Abnahme der  $H_2O_2$ -Konzentration auch im Peroxydaseversuch, da hier die  $H_2O_2$ -Zersetzung durch Katalase und Peroxydase bewirkt wird, also höchstens größer sein könnte; ferner ist in dem

Verhalten der Reaktionskonstanten während der ersten 15 Minuten eine Kontrolle für das Vorhandensein und eventuell die Größe einer  $H_2O_2$ -Schädigung gegeben, die, wie oben dargelegt, wenigstens bei *B. coli* und *Staph. aur.* durch zweckmäßige Wahl der Bakterienmenge ganz ausgeschlossen werden kann.

Mit dieser Anordnung wurden nun die Bedingungen der Peroxydase-reaktion in ähnlicher Weise untersucht wie die des katalatischen Vermögens der Bakterien.

Was zunächst die Beziehung zwischen *Zellzahl und Purpurogallinmenge* betrifft, so hat hier ebenso wie in den Katalaseversuchen Proportionalität statt. Die in 5 Minuten bei 20° gebildeten Purpurogallinmengen waren z. B. bei Gonokokken bei der einfachen Bakterienmenge 0,62 mg, bei der doppelten 1,4 mg, bei der vierfachen 2,5 mg, Zahlen, die annähernd der Bakterienzahl proportional sind.

Dagegen ist die Abhängigkeit von der *Temperatur* eine wesentlich andere, und zwar erheblich größere als bei den Katalaseversuchen.

Tabelle VII.

m/150 Phosphat der  $p_H$  7,2.

Stamm	Temp.	Versuchsdauer Min.	Gebildetes Purpurogallin mg	Katalaseparallelversuch	
				k-Wert in den ersten 5 Min.	Gang der Reaktionskonstante
Staph. aur. I	0°	5	0,2	0,02201	konstant
	20	5	4,5	0,03104	
	37	5	11,8	0,05651	leicht fallend
Go IV . .	0	5	0,02	0,01372	kräftig fallend sehr stark fall.
	20	5	0,6	0,02830	
	37	5	3,3	0,02572	

Während, wie die Tabelle VII zeigt, bei *Staph. aur.* wie bei *Diploc. gon.* die Reaktionskonstanten der katalatischen  $H_2O_2$ -Zersetzung bei 0 und 20° sich etwa wie 1 : 2 verhalten, ist das analoge Verhältnis der Purpurogallinbildung wie 1 : 20 bzw. 1 : 30. Die Steigerung der Purpurogallinbildung im Falle der Gonokokken ist um so auffälliger, als, wie der Gang der Reaktionskonstanten im Katalaseversuch zeigt, bei 20 und 37° eine erhebliche Fermentschädigung statthat, die bei 37° so stark ist, daß schon die Reaktionskonstante der ersten 5 Minuten einen geringeren Wert hat als die entsprechende bei 20°. Schon das weist darauf hin, daß die starke Abhängigkeit von der Temperatur nicht etwa eine Eigenschaft der Peroxydase ist, sondern der bloßen chemischen Reaktion der Pyrogalloloxydation zukommt, wie das aus den folgenden Kontrollen hervorgeht:

49,7 ccm Phosphatgemisch der  $p_H$  7,2 + 0,13 g Pyrogallol + 0,28 ccm Perhydrol.

Temperatur	Versuchsdauer Min.	Purpurogallin mg
0°	15	0
20	5	0,17
37	5	0,53

Ebenfalls im Gegensatz zur katalatischen  $H_2O_2$ -Spaltung zeigt die Purpurogallinbildung eine ausgesprochene *Abhängigkeit von der Reaktion*, die wiederum jedenfalls nicht der Peroxydase, sondern der spontan verlaufenden Pyrogalloloxydation zukommt. So ist bei *B. coli*, das bei der  $p_H$  6,4 die gleiche katalatische Wirksamkeit besitzt als bei der  $p_H$  7,2, die Pupurogallinbildung (bei  $20^\circ$  in 15 Minuten) 0,6 mg bei der  $p_H$  6,4, dagegen 2,7 mg bei der  $p_H$  7,2. Die Größe der spontanen Pyrogalloloxydation in ihrer Abhängigkeit von der  $p_H$  ist zum Vergleich in der beigegebenen Abb. 1 dargestellt.

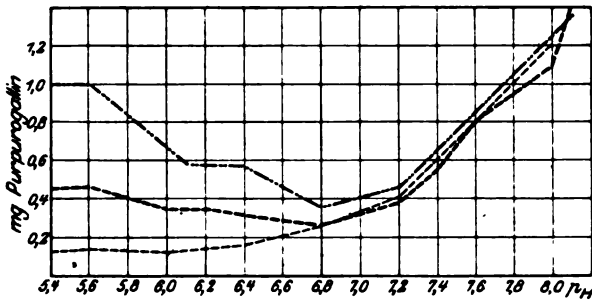


Abb. 1.

Kurve der spontanen Pyrogalloloxydation in Abhängigkeit von der  $p_H$ .

- ..... Phosphatgemisch + Pyrogallol.
- Phosphatgemisch + Pyrogallol +  $H_2O_2$ .
- · - · - Phosphatgemisch + Pyrogallol + Athylhydroperoxyd.

Bei der  $p_H$  7,2 verläuft die *peroxydatische* Purpurogallinbildung glatt, es werden im Koliversuch 2,7 mg gebildet, während unter den gleichen Bedingungen die *spontane* Bildung 0,35 mg beträgt; bei der  $p_H$  6,4 ist das Verhältnis zwischen peroxydatischer und spontaner Purpurogallinbildung mit 0,6 mg : 0,25 sehr viel ungünstiger. Aus diesem Grunde wurde für die Peroxydaseversuche die  $p_H$  7,2 gewählt.

Weiter wurde dann die Beziehung zwischen *Purpurogallinmenge* und *Versuchszeit* geprüft. Für jeden Peroxydaseversuch wurden stets vier Parallelkolben angesetzt, wovon zwei nach 5 Minuten und zwei nach 15 Minuten Versuchsdauer bestimmt wurden. Die zwei zusammengehörigen Kolben stimmten unter sich stets gut überein. Die in 15 Minuten gebildete Purpurogallinmenge war nun durchweg nicht der in 5 Minuten gebildeten proportional, sondern schwankte zwischen dem zwei- und dem vierfachen Wert, und zwar war es bei allen drei Bakterienarten so, daß, wenn die in 5 Minuten gebildete Purpurogallinmenge klein (0,5 bis 1,5 mg) war, die in 15 Minuten gebildete Menge größer war als das Dreifache; war die erstere groß (über 3,0 mg), so war die 15-Minutenmenge kleiner als das Dreifache. Dieser zweite Fall ist ohne weiteres verständlich, denn da die  $H_2O_2$ -Konzentration im Laufe des Versuchs infolge der katalatischen und peroxydatischen Zersetzung erheblich abnimmt, so muß auch die im zweiten und dritten Zeitraum von 5 Minuten gebildete Purpurogallinmenge kleiner sein als die entsprechende Menge der ersten 5 Minuten; eine Erklärung für den ersten Fall können wir nicht geben.

Aus alledem geht jedenfalls hervor, daß die erhaltenen Purpurogallinwerte die Summe des peroxydatischen und des spontan gebildeten Purpurogallins darstellen. Die spontane Bildung ist in ihrer Größe ganz von den

Versuchsbedingungen abhängig, und zwar sind offenbar die verschiedensten Faktoren von Einfluß. Praktisch ergibt sich daraus die Notwendigkeit, streng die gleichen Versuchsbedingungen innezuhalten und nur die Purpurogallinversuche gleicher Zeiten zu vergleichen. Kommt den Purpurogallinzahlen also ein absoluter Wert keinesfalls zu, so konnten wir doch annehmen, in ihnen vergleichbare Werte für das Verhältnis der peroxydatischen zur katalatischen Fähigkeit zu erhalten, wenn wir die bei den verschiedenen Bakterienarten verschiedenen Mengen bestimmten, die im Katalaseversuch das  $H_2O_2$  mit annähernd derselben Geschwindigkeit zersetzten und dann das peroxydatische Vermögen dieser Bakterienmengen feststellten, ausgedrückt durch das in einer bestimmten Zeit gebildete Purpurogallin.

Es stellte sich aber im Laufe der Versuche noch eine weitere Abhängigkeit der spontanen Pyrogalloloxydation heraus, die die Ergebnisse unserer Peroxydaseuntersuchungen an Bakterien äußerst zweifelhaft macht, nämlich diejenige von dem *in der Versuchslüssigkeit gelösten molekularen Sauerstoff*. Die in Abb. 1 gegebenen Kurven der spontanen Pyrogalloloxydation zeigen den gleichen Verlauf, ob  $H_2O_2$  anwesend ist oder nicht. Es ist also für die Pyrogalloloxydation nicht eine spontane  $H_2O_2$ -Zersetzung verantwortlich zu machen — die innerhalb des hier verwendeten Bereichs der  $p_H$  der Temperatur usw. praktisch nicht in Frage kommt, wie durch Titration mit  $KMnO_4$  festgestellt wurde —, sondern der im Phosphatgemisch gelöste Sauerstoff. Der Beweis dafür ist zu erbringen, indem man einmal von zwei Parallelkolben den einen durch Evakuieren sauerstofffrei macht und hält: die in 15 Minuten bei 20° anaerob gebildete Purpurogallinmenge betrug nur noch etwa 0,05 mg gegenüber 0,35 mg im aeroben Versuch. Andererseits ließ sich zeigen, daß die Purpurogallinwerte um so höher wurden, je besser die Flüssigkeit mit Sauerstoff versorgt wurde. Um die Sauerstoffversorgung in den Kontrollen nach Möglichkeit so wie in den Bakterienversuchen zu gestalten, wo die Flüssigkeit während der Versuchsdauer von zahlreichen feinen, durch Katalasewirkung entstandenen Sauerstoffbläschen durchsetzt wird, wurden als Versuchsgefäße schmale, hohe Zylinder verwandt, in die zwecks  $O_2$ -Einleitung ein fast bis zum Boden reichendes, rechtwinklig gebogenes Glasrohr eingeführt wurde; dessen Ende lief in ein geschlossenes Stück Gummischlauch aus, in welchen mit einer ganz feinen Nadelspitze etwa 30 Löcher gestochen waren. Beim Öffnen des Hahnes einer Sauerstoffbombe, mit welcher das Glasrohr verbunden war, trat der Sauerstoff in feinsten Bläschen aus diesen Löchern aus; durch Regulieren des Ventils der Bombe konnte die Flüssigkeit beliebig kräftig durchperlt werden. Es zeigte sich in diesen Versuchen, wie zu erwarten, daß die spontane Purpurogallinbildung um so höher war, je stärker der  $O_2$ -Strom, und daß sie bei sehr kräftiger  $O_2$ -Durchperlung auf fast ebenso hohe Werte gesteigert werden konnte als sie die Bakterienversuche erreichen. Der in den Bakterienversuchen durch die nicht auszuschaltende Katalasewirkung frei werdende molekulare Sauerstoff ist also zweifellos von ganz erheblichem Einfluß auf die Größe der Purpurogallinbildung, so daß die gefundenen Werte nur mit größtem Vorbehalt als Ausdruck des peroxydatischen Vermögens der Bakterien angesehen werden können. Andererseits möchten wir aber auch nicht annehmen, daß die gesteigerte Pyrogalloloxydation in den Bakterienversuchen *lediglich* eine rein chemische, durch die bessere  $O_2$ -Versorgung bedingte sei. In diesem Sinne sprechen auch die in der Tabelle VIII zusammengestellten Resultate.



Tabelle VIII.

m/150 Phosphatgemisch der  $p_H$  7,2; Versuchstemperatur 20°.

Stamm	Bakterienzahl ccm	Peroxydaseversuch			Im Katalaseversuch in den ent- sprechenden 5 Min. zersetztes $H_2O_2$ mg
		Dauer Min.	Purpuro- gallin mg	Purpurogallin Zellzahl	
Staph. aur. I	50 · 10 <sup>6</sup>	5	4,5	90 · 10 <sup>-9</sup>	11,0
" " II	24 · 10 <sup>6</sup>	5	2,2	90 · 10 <sup>-9</sup>	6,1
" " III	32 · 10 <sup>6</sup>	5	2,6	80 · 10 <sup>-9</sup>	8,8
" " IV	18 · 10 <sup>6</sup>	5	1,4	80 · 10 <sup>-9</sup>	6,1
B. coli IV . .	300 · 10 <sup>6</sup>	5	3,3	11 · 10 <sup>-9</sup>	10,3
" " VI . .	200 · 10 <sup>6</sup>	5	3,1	16 · 10 <sup>-9</sup>	10,3
" " VII . .	500 · 10 <sup>6</sup>	5	2,0	4 · 10 <sup>-9</sup>	9,2
" " IX . .	300 · 10 <sup>6</sup>	5	1,9	6,3 · 10 <sup>-9</sup>	8,4
Go I . . . .	12 · 10 <sup>6</sup>	5	0,9	75 · 10 <sup>-9</sup>	15,8
" II . . . .	9,6 · 10 <sup>6</sup>	5	0,7	73 · 10 <sup>-9</sup>	7,8
" III . . . .	7,2 · 10 <sup>6</sup>	5	0,6	83 · 10 <sup>-9</sup>	12,4
" IV . . . .	6,4 · 10 <sup>6</sup>	5	0,6	94 · 10 <sup>-9</sup>	13,0
" V . . . .	25 · 10 <sup>6</sup>	5	2,5	100 · 10 <sup>-9</sup>	23,3

Als Maß des katalatisch entstehenden Sauerstoffs ist die Menge des während der ersten 5 Minuten im Katalaseversuch zersetzten  $H_2O_2$  angegeben; sie wurde berechnet nach einer Angabe von *Jorns*, wonach 1 ccm n/40  $KMnO_4$ , 2,1 mg  $H_2O_2$  entspricht. Wäre nun dieser Sauerstoff allein maßgebend für die entstehende Purpurogallinmenge, so müßte bei allen Bakterienarten Proportionalität zwischen katalatisch zersetztem  $H_2O_2$  und Purpurogallinmenge bestehen. Könnte man das für *Staph. aur.* und *B. coli* vielleicht annähernd gelten lassen, so ist aber bei den Gonokokken das Verhältnis zwischen Purpurogallinmenge und katalatisch zersetztem  $H_2O_2$  ein ganz anderes. Danach würde also eine peroxydatische Purpurogallinbildung neben der spontanen anzunehmen sein. Zu bemerken ist, daß, während *Staph. aureus* und *B. coli* unter den gegebenen Versuchsbedingungen, nach dem Verlauf der Reaktionskonstanten im Katalaseversuch zu urteilen, keine Schädigung erleiden, bei den Gonokokken eine solche Schädigung nicht zu vermeiden ist. Man könnte also vielleicht daran denken, die verhältnismäßig schwache Purpurogallinbildung der Gonokokken darauf zurückzuführen, daß ihr peroxydatisches Ferment empfindlicher wäre und früher geschädigt würde als das katalatische. In der vorletzten Rubrik ist in ähnlicher Weise wie bei den Katalaseversuchen

ein Quotient  $\frac{\text{Purpurogallinmenge}}{\text{Zellzahl}}$  angeführt; das peroxydatische Vermögen der *Staph. aureus*-Zelle ist danach etwa zehnmal so groß als das von *B. coli*, und ungefähr gleich demjenigen des Gonokokkus.

Schließlich wurden noch Versuche unternommen, die Purpurogallinwerte unbeeinflusst von dem katalatisch entstehenden Sauerstoff zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde statt des Wasserstoffsperoxyds das homologe *Äthylhydroperoxyd* verwandt, das u. a. von englischer Seite (*Gallagher*) empfohlen wurde als ein Peroxyd, das durch Katalase nicht zersetzt werde, aber der Peroxydase gegenüber das  $H_2O_2$  vollkommen zu ersetzen vermöge. Das verwendete Äthylhydroperoxyd (*Kahlbaum*), das stark sauer reagiert, wurde vor dem Gebrauch neutralisiert; wie bei allen Versuchen, wurde auch hier die angesetzte Versuchsaufschwemmung vor

dem Pyrogallolzusatz auf ihre  $p_H$  kontrolliert. Um auch den Luftsauerstoff auszuschalten, wurden die Kolben evakuiert. Die Versuche verliefen aber wenig befriedigend, wie das folgende Beispiel zeigen möge.

Tabelle IX.

Staph. aureus;  $p_H$  7,2; Temperatur 20°.

Bakterienmenge	Versuchsdauer Min.	Purpurogallinwerte im		Im Katalaseversuch in den ersten 5 Min. zersetztes $H_2O_2$ mg
		$H_2O_2$ -Versuch mg	Äthylhydroperoxyd- versuch mg	
Einfach . . .	5	4,3	—	23,3
" . . .	15	—	0,17	—
Sechsfach . . .	15	—	0,27	—

Die Purpurogallinmenge im Äthylhydroperoxydversuch ist so klein — in 15 Minuten etwa 0,2 mg —, daß man, zumal die sechsfache Bakterienmenge kaum einen höheren Wert gibt, entweder die verwendeten Bakterien für peroxydasefrei halten oder aber annehmen muß, daß das Äthylhydroperoxyd für die Peroxydase ebensowenig angreifbar ist wie für die Katalase.

#### Zusammenfassung.

Es wurde an einer ganzen Anzahl Stämme von Staph. aur., B. coli und Diploc. gon. der Einfluß der Versuchsbedingungen auf die Größe und den Ablauf der katalatischen  $H_2O_2$ -Spaltung von Bakterien untersucht, speziell im Hinblick auf die praktische Verwertbarkeit der quantitativen Katalasebestimmungsmethode für mikrobiologische Fragestellungen.

Auffällig und von theoretischem Interesse ist die dabei festgestellte Tatsache, daß das katalatische Vermögen der Gonokokken im Gegensatz zu allen Gewebeskatalasen und auch zu anderen Bakterien eine ausgesprochene Abhängigkeit von der Reaktion zeigt.

Während die  $H_2O_2$ -Spaltung durch die Katalase eine wahre katalytische Reaktion ist, die in dem Bereich der geprüften Versuchsbedingungen ohne das Ferment nur unmerklich verläuft, liegen die Verhältnisse bei der zur quantitativen Peroxydasebestimmung von *Bach* und *Chodat* sowie von *Willstätter* und *Stoll* angegebenen Pyrogallolmethode wesentlich anders; die Pyrogalloxydation verläuft spontan in einem Umfange, der von einer Reihe Faktoren abhängig ist, insbesondere von der Reaktion, von der Temperatur, von dem Sauerstoffgehalt der Versuchslüssigkeit. Diese letztere Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt macht die Methode ganz unzuverlässig für die Untersuchung solcher Objekte, die auch katalasehaltig sind, seien es Bakterien, seien es z. B. Weizensamen, wie sie neuerdings von *Bach* und *Oparin* auf das Verhalten ihrer Fermente, darunter auch Katalase und Peroxydase, während der Keimung untersucht worden sind. Die in den Peroxydaseversuchen

an Bakterien erhaltenen Werte sind also mit großem Vorbehalt aufzunehmen. Die unter Ersatz des Wasserstoffsperoxyds durch Äthylhydroperoxyd, das nicht durch Katalase, wohl aber durch Peroxydase zersetzt werden soll, angestellten Versuche verliefen wenig befriedigend.

Die Möglichkeit, daß bei der desinfizierenden Wirkung der Phenole allgemein eine Sauerstoffentziehung eine Rolle spiele, wie das *Schubert* und *Richter* für höher siedende Phenole diskutiert haben, ließe sich bei der starken Abhängigkeit der spontanen Oxydation von Temperatur, Reaktion und in Lösung befindlichem Sauerstoff durch Variierung dieser drei Faktoren prüfen; zumal die Oxydation der Phenole, des Kresols z. B., durch pflanzliche Enzyme nachgewiesen ist (*Onslow* und *Robinson*). Versuche darüber sind im Gange.

Hinsichtlich des katalatischen Vermögens der Bakterien ergaben die Versuche in Übereinstimmung mit *Virtanen* und *Karström* für *B. coli* die geringsten Werte; seine katalatische Wirksamkeit, auf das Einzelbakterium berechnet, war etwa ein Zehntel derjenigen von *Staph. aureus*, dessen katalatische Fähigkeit wiederum ein Drittel derjenigen des Gonokokkus betrug. Die Peroxydasewerte gingen bei *Staph. aureus* und *B. coli* den Katalasewerten parallel, nicht aber bei den Gonokokken; verhielt sich deren katalatische Wirksamkeit pro Zelle zu derjenigen von *Staph. aureus* wie 3 : 1, so war das Verhältnis der unter Verwendung von  $H_2O_2$  und Pyrogallol bestimmten peroxydatischen Fähigkeiten beider Arten wie 1 : 1.

Es sei dem einen von uns (*Otto Kirchner*) gestattet, auch an dieser Stelle der Rockefellerstiftung anlässlich des Ablaufs eines ihm gewährten, überaus großzügigen Stipendiums, das die Durchführung auch dieser Arbeit ermöglichte, seinen aufrichtigen und ergebenen Dank auszusprechen.

#### Literatur.

*Bach* und *Oparin*, diese Zeitschr. 184, 183, 1923. — *Gallagher*, Biochem. Journ. 17, 515, 1923. — *Jorns*, Arch. f. Hyg. 67, 134, 1908. — *Onslow* und *Robinson*, Biochem. Journ. 19, 420, 1925. — *Quastel*, ebendasselbst 1924, 1925. — *Schubert* und *Richter*, Centralbl. f. Bakt. Nr. II, 66, 11, 1926. — *Thunberg*, Skand. Arch. f. Physiol. 35, 163, 1918; 40, 1, 1920. — *Virtanen* und *Karström*, diese Zeitschr. 161, 9, 1925. — *Waentig* und *Steche*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 226, 1911. — *Willstätter* und *Stoll*, Liebigs Ann. 416, 21, 1918.

---

## Zur Biochemie des Strontiums.

Die quantitative Bestimmung des Strontiums in Gegenwart von Calcium.

Von

O. Arnd und E. A. Hafner.

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

(Eingegangen am 8. Mai 1926.)

1. Zur Trennung der Erdalkalien Sr und Ca und zu ihrer quantitativen Bestimmung nebeneinander sind schon viele Methoden empfohlen worden. Es sei hier nur cursorisch das folgende erwähnt: *H. Rose* (1) bemerkt, daß  $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$  in einer Lösung von Äther und Alkohol zu gleichen Teilen sich nur noch im Verhältnis von 1 : 60000 löst, während  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  sich ebenso löst wie in reinem Alkohol. Hierauf gründet sich die bekannte, von *H. Rose* verbesserte Bestimmungsmethode von *Stromeyer* (2). Diese gibt als Makromethode nur dann einigermaßen befriedigende Resultate, wenn die Äther-Alkoholmischung absolut wasserfrei ist. Ein anderes, ebenfalls von *H. Rose* (1) vorgeschlagenes Verfahren beruht auf der verschiedenen Löslichkeit der *Sulfate*.  $\text{SrSO}_4$  soll in 20 bis 25 Proz.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  gänzlich unlöslich sein, während  $\text{CaSO}_4$  sich darin besser löst als in Wasser. Wir haben versucht, diese Methode als *Mikromethode* auszuarbeiten. Wir sind aber hierbei zu demselben Resultat gelangt wie *R. Fresenius* (3): Die Methode liefert ganz unzureichende Resultate. *Sidersky* (4) setzt zu einer warmen, neutralen Lösung von Sr und Ca ein Gemisch von Ammoniumsulfat und Ammoniumoxalat; das entstehende Ca-Oxalat löst sich in  $\text{HCl}$ , nicht aber das  $\text{SrSO}_4$ . Auch diese Methode hat zur Kritik Anlaß gegeben (5). Eine Modifikation hat *Robin* (6) versucht, doch zeigen die Beleganalysen für unsere Zwecke zu große Fehler.

*Coehn* und *Kettenbeil* (7) trennen Ca und Sr auf *elektrolytischem* Wege, indem sie von der Tatsache Gebrauch machen, daß sich die verschiedenen Erdalkalimetalle an der Quecksilberkathode bei verschiedenen Spannungen abscheiden. Auch mit dieser Methode erreichten wir bis heute nicht die gewünschte Genauigkeit.

G. Kirchhoff und R. Bunsen (8) konnten  $\text{SrCl}_2$  in Dampfform bis zu  $6 \cdot 10^{-5}$  mg spektroskopisch nachweisen. I. H. Pollok und A. G. Leonard (9) haben eine quantitative *spektroskopische* Methode zur Bestimmung von Ca und Sr in Lösungen ausgearbeitet, indem sie feststellten, bei welchen Verdünnungen die am längsten persistierenden Linien verschwinden.

Nach den Untersuchungen von I. M. Kolthoff (10) (11) (12) ist eine quantitative Trennung von Sr und Ca durch die Leitfähigkeitstitation noch nicht gelungen.

E. Hodel (13) hat vor etwa 1 Jahr in unserem Institut Ca und Sr nebeneinander bestimmt, indem das *Gesamtoxalat gewogen und titriert* wurde, woraus auf graphischem Wege Ca und Sr ermittelt werden konnten.

O. Lutz (14) sagt in bezug auf das Strontium: „Weder qualitativ noch quantitativ gibt es empfindliche, nur für dieses Element charakteristische Spezialmethoden“. Es konnte sich deshalb für uns zunächst nicht darum handeln, noch nach weiteren Eigenschaften der Erdalkalimetalle zu suchen, die vielleicht eine Trennung der Metalle Sr und Ca aus ihren Lösungen gestatteten. Der Hauptmangel aller Trennungsmethoden von Ca und Sr besteht darin, daß wir über die *Leistungsfähigkeit der angewendeten Methode, über ihre Genauigkeit, ihre Fehlerbreite und ihre Anwendbarkeit ganz unzureichend unterrichtet sind*. Erst die Lösung dieser Frage gibt Anhaltspunkte zur Ausarbeitung einer rationalen Mikromethode.

2. Die vorliegende Arbeit bildet eine Ergänzung zu den Untersuchungen von E. Hodel (13), die er im Sommer 1925 in unserem Institut angestellt hat. Hodel gibt in seiner Arbeit Zahlen sehr verschiedener Fehlerbreite. Er titriert das Oxalat auf 0,001 ccm n/100, was  $44 \cdot 10^{-5}$  mg Sr (= 0,00044 mg Sr!) entspricht, und wiegt die Oxalate auf  $1 \cdot 10^{-1}$  mg (0,1 mg) genau. Den Titrationsfehler selbst schätzt er aber auf 0,04 ccm n/100, was etwa  $2 \cdot 10^{-2}$  mg Sr (0,017 mg Sr) entspricht, und schließt daraus, daß der Fehler für die Strontiumoxalattitration zu 5,8 Proz. anzusetzen sei. Es ist klar, daß hierdurch kein zureichendes Bild von der Genauigkeit und Anwendbarkeit der Methode gegeben wird.

3. E. Hodel bestimmt aus der Titration und der Wägung des Gesamtoxalats auf *graphischem Wege* die Menge Ca- und Sr-Oxalat. Es ist aber bequemer und zugleich sicherer, den Ca- und Sr-Ionengehalt der Lösung, direkt ausgedrückt in Milligrammen, auf *rechnerischem Wege* zu ermitteln.

Es seien in einer Lösung  $x$  mg Ca und  $y$  mg Sr enthalten. Die Titration ergebe einen Gesamtoxalsäurerest von  $p$  mg und die Wägung ergebe  $q$  mg Gesamtoxalat.  $p_z$  entspreche dem Oxalsäurerest, der an

Ca,  $p_y$  demjenigen, der an Sr gebunden ist. Man hat demnach, ausgedrückt in Milligrammen:

$$p_x + p_y = p, \quad (1)$$

$$p + x + y = q. \quad (2)$$

Infolge der chemischen Beziehungen gilt:

$$x : (p_x + x) = \text{Ca} : \text{Ca}(\text{COO})_2 \quad (3)$$

$$y : (p_y + y) = \text{Sr} : \text{Sr}(\text{COO})_2$$

bezeichnet man nun noch das Verhältnis der Molekulargewichte durch (4):

$$\left. \begin{aligned} f_{\text{Ca}} &= \frac{\text{Ca}(\text{COO})_2}{\text{Ca}} = \frac{128,07}{40,07} = 3,15 \\ f_{\text{Sr}} &= \frac{\text{Sr}(\text{COO})_2}{\text{Sr}} = \frac{175,63}{87,63} = 2,07 \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

so erhält man durch Einsetzen von (1) und (3) in (2) auf ganz elementarem Wege

$$y = \frac{f_{\text{Ca}} - 1}{f_{\text{Ca}} - f_{\text{Sr}}} (q - p) - \frac{1}{f_{\text{Ca}} - f_{\text{Sr}}} p \quad (5)$$

und einen analogen Ausdruck für  $x$ . Unter Benutzung von (4) erhält man schließlich den einfachen Ausdruck:

$$\boxed{\text{mg Sr} = 1,99q - 2,91p} \quad (6a)$$

und analog

$$\boxed{\text{mg Ca} = 1,91p - 0,99q} \quad (6b)$$

wobei  $q$  = Gewicht des Gesamtoxalats in Milligrammen ermittelt durch Wägung, und  $p$  = Gewicht des Gesamtoxalsäurerestes in Milligrammen ermittelt durch Oxalattitration. Nebenbei sei bemerkt, daß nach den Formeln 6a und 6b im Oxalatniederschlag kein Strontium und nur Calcium vorhanden ist, wenn  $q/p = 1,45$  ist; andererseits ist kein Ca vorhanden und nur Strontium anwesend, wenn  $q/p = 1,93$  ist.

4. Die Löslichkeit von  $\text{Sr}(\text{COO})_2$  ist merklich größer als diejenige von  $\text{Ca}(\text{COO})_2$ . Nach den Leitfähigkeitsmessungen von *Kohlrausch* lösen sich im Liter 0,046 g  $\text{Sr}(\text{COO})_2$  und 0,0056 g  $\text{Ca}(\text{COO})_2$ . Dieser Unterschied ist für Makromethoden zu vernachlässigen, er kann aber eine Rolle spielen bei minimetrischen Bestimmungen. Um die untere Grenze der Anwendbarkeit der Oxalattitration zur Sr-Bestimmung festzulegen, wurde eine  $\text{SrCl}_2$ -Lösung von genau bekanntem Gehalt (0,856 mg pro 1 ccm) geometrisch verdünnt. Zur Analyse kamen 2 ccm Lösung, gefällt wurde in wässriger Lösung. Es genügte, den Niederschlag

zweimal mit 2 proz.  $\text{NH}_3$  zu waschen. Im übrigen wurde das Verfahren von *Hodel* eingehalten. Tabelle I enthält die Kubikzentimeter n/100  $\text{KMnO}_4$ , die Verdünnungen und die Abweichungen  $\Delta$  vom Mittelwert.

Tabelle I.

$1/1$ Verdünnung		$1/2$ Verdünnung		$1/4$ Verdünnung		$1/8$ Verdünnung	
ccm n/100 $\text{KMnO}_4$	$\Delta$	ccm n/100 $\text{KMnO}_4$	$\Delta$	ccm $\text{KMnO}_4$ n/100	$\Delta$	ccm n/100 $\text{KMnO}_4$	$\Delta$
3,61	-0,33	2,32	+0,34	0,97	0,00	0,20	-0,15
3,92	-0,02	1,98	$\pm$ 0,00	0,99	+0,02	0,25	-0,10
4,42	+0,48	2,09	+0,11	1,02	+0,05	0,46	+0,11
3,76	-0,18	1,98	$\pm$ 0,00	0,91	-0,06	0,36	+0,01
3,96	+0,02	1,52	-0,46	0,96	-0,01	0,46	+0,11
3,96	+0,02	—	—	—	—	—	—

Aus Tabelle I geht deutlich hervor, daß zwei genau übereinstimmende Resultate noch keine Gewähr und natürlich auch kein Maß für die Exaktheit einer minimetrischen Methode liefern. Tabelle II enthält die Mittelwerte, in Kubikzentimeter n/100 Permanganat, in Milligramm Sr, auf 10 ccm umgerechnet, den mittleren Fehler des

Mittels  $F = \pm \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{n(n-1)}}$ , den Fehler ausgedrückt in Prozenten des Mittelwertes, und den erwarteten Wert  $E$ .

Tabelle II.

Verdünnung	ccm	Sr mg in 10 ccm	F mg	F Proz.	E mg in 10 ccm
$1/1$	$3,94 \pm 0,11$	8,66	$\pm 0,24$	2,77	8,56
$1/2$	$1,98 \pm 0,13$	4,36	$\pm 0,29$	6,65	4,28
$1/4$	$0,97 \pm 0,02$	2,14	$\pm 0,04$	0,19	2,14
$1/8$	$0,35 \pm 0,05$	0,77	$\pm 0,11$	14,3	1,07

Tabelle II illustriert sehr deutlich, daß die Methode versagt, sowie die Sr-Menge im Kubikzentimeter geringer als 0,1 mg ist; die Löslichkeit des Sr-Oxalats wird merklich. Dasselbe zeigt auch ein Vergleich der Oxalatfällung mit der Chloridtitration. Die Oxalatfällung liefert geringere Sr-Werte als dem Chlorgehalt entsprechen würde. Die Chloridtitration ergibt in der Lösung 1/1 im Kubikzentimeter  $0,92 \pm 0,01$  mg Sr, mit anderen Worten, die Oxalatfällung gibt einen um 0,05 bis 0,06 mg zu geringen Wert, d. h. in diesem Falle bereits 4 bis 5 Proz. zu wenig. Damit ist der Sr-Oxalatfällungsmethode eine absolute Grenze nach unten gesetzt. Unterscheidet die Sr-Konzentration nicht 0,1 mg im Kubikzentimeter Lösung, so berechnet sich der durchschnittliche mittlere Fehler der Einzeltitration auf 5,5 Proz. des titrierten Wertes, und der durchschnittliche mittlere Fehler des Mittels ist unter den angegebenen Bedingungen 3,3 Proz. des Mittelwertes, d. h. die Methode

ist sehr viel genauer als *Hodel* angibt. Dabei genügt es, mit gewöhnlichen Präzisionsbüretten zu arbeiten, bei denen  $\frac{1}{20}$  ccm noch direkt ablesbar ist und  $\frac{1}{40}$  ccm ohne Willkür geschätzt werden kann.

Die Sr-Bestimmung durch Oxalatfällung wurde noch dadurch geprüft, daß eine bekannte Menge  $\text{SrCl}_2$  zu Kalbsserum zugesetzt und nun untersucht wurde, wieviel Sr aus dem Serum wieder gewonnen werden kann. Es wurden hierbei 2 ccm Serum mit 1 ccm  $\text{SrCl}_2$ -Lösung bekannten Gehalts versetzt, dazu 2 ccm gesättigten Ammoniumoxalats, über Nacht stehengelassen, auf 6 ccm aufgefüllt, zentrifugiert und wie üblich verfahren. Wir begnügen uns mit der Wiedergabe von zwei Analysen (vgl. Tabelle III).

Tabelle III.

Analyse 7			Analyse 8		
ccm n/100 KMnO <sub>4</sub>	$\Delta$		ccm n/100 KMnO <sub>4</sub>	$\Delta$	
3,20	+ 0,01	Mittel $3,19 \pm 0,03$ ccm n/100 KMnO <sub>4</sub>	2,14	+ 0,01	Mittel $2,13 \pm 0,02$ ccm n/100 KMnO <sub>4</sub>
3,26	+ 0,07	entspr. $4,82 \pm 0,04$ mg	2,06	- 0,07	entspr. $2,07 \pm 0,04$ mg
3,17	- 0,02	Sr in 10 ccm	2,14	+ 0,01	Sr in 10 ccm
3,10	- 0,09	Erwarteter Wert	2,14	+ 0,01	Erwarteter Wert
3,25	+ 0,06	4,56 mg	2,16	+ 0,03	2,14 mg Sr

Das Serum der Analysen 7 und 8 enthielt 11,9 mg-Proz. Ca. Aus Tabelle III geht hervor, daß zur Sr-Bestimmung im Serum, neben Ca, eine *Veraschung des Serums nicht notwendig* ist. Die Genauigkeit der Methode wird durch die Anwesenheit der Serumeiweißkörper und der Serumsalze nicht merklich beeinflußt.

Schließlich wurden Lösungen von bekanntem Gehalt, die Sr und Ca nebeneinander enthielten, analysiert, titrimetrisch und gravimetrisch. Zur gravimetrischen Bestimmung wurden Porzellantiegel mit porösem Boden aus Ton verwendet. Die Gewichtskonstanz ist bei 100° nicht immer befriedigend. Besser ist 120°, 150°, zuweilen sind wir bis 170° gegangen. Im übrigen wurde die Methode von *Hodel* angewendet, und aus den gefundenen Zahlen wurde nach den Formeln (6) das Ca und das Sr berechnet. Wir beschränken uns hier auf die Wiedergabe einer Analyse (vgl. Tabelle IV).

Tabelle IV.

Titrimetrisch		Analyse 15 Gravimetrisch	
ccm n/100 KMnO <sub>4</sub>	$\Delta$	g mg	nach Formel 6:
2,08	+ 0,05	Mittel	7,68
1,98	- 0,05	$2,03 \pm 0,03$ ccm	7,62
2,09	+ 0,06	n 100 KMnO <sub>4</sub>	7,65
1,96	- 0,07	$p = 4,45$ mg	
2,03	0,00	in 10 ccm	
			2,27 mg Sr u. 0,93 mg Ca Erwartet wurden 2,15 mg Sr u. 0,94 mg Ca



Der Fehler in bezug auf Sr ist somit wieder von gleicher Größenordnung, etwa 5 Proz. Im allgemeinen ist diese Genauigkeit durch eine gute Analysenwage, mit der man die fünfte Stelle durch die Methode der Schwingungsbeobachtung noch sicher erhält, leicht erreichbar.

#### Zusammenfassung.

1. Die Methode von *E. Hodel* zur Bestimmung von Sr neben Ca durch Wägung und Titration der Gesamtoxalate liefert die genauesten Resultate aller Sr-Bestimmungsmethoden.

2. Die Sr-Oxalattitration ist auf 3,3 Proz. genau. Enthält die Lösung im Kubikzentimeter weniger als 0,1 mg Sr, so liefert diese Methode keine brauchbaren Resultate mehr.

3. Es wird eine bequeme Formel gegeben, aus der direkt die Milligramme Ca und Sr berechnet werden können, wenn das Gewicht des Gesamtoxalats gravimetrisch und des Gesamtoxalsäurerestes durch Titration bestimmt wurde.

4. Zur Bestimmung des Sr neben Ca im Serum genügt die Fällung im verdünnten Serum. Eine Veraschung des Serums ist nicht notwendig.

5. Steht eine gute Analysenwage zur Verfügung, so kann leicht eine Genauigkeit auf 5 Proz. Sr erreicht werden.

6. Ist  $q/p = 1,45$ , so enthält der Oxalatniederschlag nur Ca, ist  $q/p = 1,93$ , so enthält er nur Strontium.

#### Literatur.

1) *H. Rose*, Zur Trennung der Strontianerde von der Kalkerde. *Poggendorfs Ann. d. Phys. u. Chem.* **186**, (d. ganzen Folge) S. 296, 1860; sowie Jahresber. über d. Fortschr. d. Chem. 1860, S. 673/78. — 2) *E. Hintz*, Zur Trennung von Kalk, Baryt und Strontian. *Zeitschr. f. analyt. Chem.* **28**, 698, 1889. — 3) *R. Fresenius*, Über die Trennung des Strontiums von Kalk. Ebendasselbst **32**, 189, 1893. — 4) *D. Sidersky*, Zur Trennung von Strontian und Kalk. Ebendasselbst **22**, 10, 1883. — 5) *E. Hintz*, Zur Trennung des Strontiums vom Kalk. Ebendasselbst **24**, 85, 1885. — 6) *L. Robin*, Séparation et dosage simultanée de la baryte, de la strontiane et de la chaux. *C. r. de l'acad. d. sc.* **137**, 258, 1903. — 7) *A. Coehn* und *W. Kettembeil*, Versuche zur elektrolitischen Trennung der Erdalkalimetalle. *Zeitschr. f. anorg. Chem.* **38**, 198, 1904. — 8) *G. Kirchhoff* und *R. Bunsen*, I. Chemische Analyse durch Spektralbeobachtungen. *Poggendorfs Ann. d. Phys. u. Chem.* **186**, (d. ganzen Folge) S. 161, 1860. — 9) *I. H. Pollok* und *A. G. Leonard*, On the quantitative spectra of Barium, Strontium, Calcium, Magnesium, Potassium and Sodium. *Sc. Proc. of the Royal Dublin Soc.* **11**, 229, 1905. — 10) *I. M. Kolthoff*, Leitfähigkeitstitrierungen mit Lithiumsulfat. *Zeitschr. f. analyt. Chem.* **62**, 1, 1923. — 11) *Derselbe*, Leitfähigkeitstitrierungen mit Natriumchromat. Ebendasselbst **63**, 97, 1923. — 12) *Derselbe*, Leitfähigkeitstitrations mit Lithiumoxalat. Ebendasselbst **63**, 161, 1923. — 13) *E. Hodel*, Zur Biochemie der Erdalkalien. *Chim. Helv.* **8**, 514, 1925. — 14) *O. Lutz*, Über die Empfindlichkeit und Verwendbarkeit der qualitativen Reaktionen. Das Sr-Ion. *Zeitschr. f. analyt. Chem.* **60**, 433, 1921.

**Stickstoff- und Fettansatz  
während der Mast wachsender Schweine bei Ersatz  
des Futtereiweißes durch Glykokoll und Ammonacetat.**

Von  
**Hans Buckenauer.**

(Aus dem agrilkulturehemischen und bakteriologischen Institut der  
Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau.)

(Eingegangen am 10. Mai 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Infolge der durch den Weltkrieg hervorgerufenen Eiweißknappheit, die sich auch noch in der Fütterung der Nachkriegszeit sehr unangenehm fühlbar machte, sind von Wissenschaft und Praxis ausgedehnte Versuche angestellt worden, um nach Möglichkeit dem großen Mangel an Futtereiweiß, der sonst durch Auslandsfuttermittel gedeckt worden war, mit inländischen Stoffen abzuhelpfen.

Es sind zu diesen Versuchen sowohl Wiederkäuer wie omnivore Tiere herangezogen worden.

a) *Versuche mit Eiweißsparmutter oder Scheidemandel-Eiweißersatz.*

Zuntz<sup>1)</sup> stellt bei Hammeln eine Verdaulichkeit der Stickstoffsubstanz von 95 Proz. fest.

Die Versuche von Morgen<sup>2)</sup>, Ahr und Mayr-Weihenstephan<sup>3)</sup>, sowie Ellenberger und Grimmer<sup>4)</sup> können folgendermaßen kurz zusammengefaßt werden:

„Sowohl an Schweine wie an Wiederkäuer kann eine Gabe von ein Drittel bis ein Fünftel der gesamten Stickstoffration mit Erfolg verfüttert werden“.

b) *Versuche mit „Baderschem Fleischmehl“, späterem Leimkraftfutter.*

Richardson<sup>5)</sup> erzielte bei Schweinemast mit Leimkraftfutter wie Eiweißsparmutter gegenüber einer entsprechenden Menge Blutmehl gleiche Wirkungen.

Leimkraftfutter von Gerlach<sup>6)</sup> mit Leinkuchen verglichen, erzeugte eine etwas niedrigere Milchmenge, die jedoch einen entsprechend höheren Fettgehalt hatte.

1) Landwirtsch. Versuchszt. 89, 281, 1917.

2) Ebendasselbst.

3) Landwirtsch. Jahrb. f. Bayern 7, 669, 1917.

4) Biedermanns Centralbl. f. Agr.-Chem. 46, 247, 1917.

5) Landwirtsch. Jahrb. 50, 379 bis 383, 1917.

6) Deutsche Landw. Presse 43, 229, 1916.

c) *Versuche mit Leimleder.*

Mit diesem Ersatzfuttermittel haben *Ellenberger* und *Grimmer*<sup>1)</sup> bei Schweinen recht gute, bei Pferden und Kühen noch gute Erfolge gehabt.

Untersuchungen am Laboratorium der Tierärztlichen Hochschule in Wien<sup>2)</sup> über Fütterung von Milchvieh mit Leimleder hatten als Ergebnis eine erhöhte Milchabsonderung, Steigerung des Fettgehalts und Zunahme des Körpergewichts.

d) *Versuche mit Knochenmehl und entgerbten Lederabfällen.*

Wegen Sinkens der Verdaulichkeit bei zu großen Gaben von Knochenmehl<sup>3)</sup> und wegen des hohen Chromgehalts der entgerbten Lederabfälle<sup>4)</sup> warnt *Morgen* vor zu weitgehendem Gebrauch dieser Ersatzfuttermittel.

Alle Versuche haben eine mehr oder weniger große eiweißsparende bzw. -ersetzende Wirkung der Leimfuttermittel betont.

*Hansen*<sup>5)</sup> faßt auf Grund seiner ausgedehnten Schweinefütterungsversuche die Ergebnisse folgendermaßen zusammen:

1. Eiweißersatzfutter und reiner Leim führen eine leidlich gute Eiweißbildung herbei.
2. Leimledermehl sowie Eiweißspar-Leimgallertefutter können günstig auf den Ansatz einwirken.
3. Zusatz von Horn zu den leimhaltigen Futtermitteln hat die Wirkung des Leims nicht zu steigern vermocht.
4. Die leimhaltigen Futtermittel können bis zu einem gewissen Grade das Futtereiweiß ersetzen.

e) *Versuche mit Glykokoll.*

Glykokoll oder Leimzucker, ein Spaltungsprodukt des Leims, ist bisher an Schweine noch nicht verfüttert worden. Ein Fütterungsversuch bei milchgebenden Wiederkäuern von *Ungerer*<sup>6)</sup> hat gezeigt, daß das Glykokoll weder bezüglich des Stoffwechsels, noch hinsichtlich der Milchbildung imstande war, das Futtereiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit zu ersetzen.

f) *Versuche mit stickstoffhaltigen Substanzen nichteiweißartiger Natur.*

Nach Versuchen, die *Weiske*<sup>7)</sup>, *Kellner*<sup>8)</sup> und *Fingerling*<sup>9)</sup> mit Kaninchen, Lämmern und Kälbern ausgeführt haben, wirkten die stickstoffhaltigen Substanzen nichteiweißartiger Natur einer Verdauungsdepression entgegen.

Bei Versuchen mit jungen Schweinen steigerte nach *Köhler*<sup>10)</sup> das Ammonacetat den Eiweißverbrauch der Tiere.

1) a. a. O.

2) Mitteilungen der Deutsch. Landw. Ges. 37, 14, 1922.

3) Landw. Versuchsst. 88, 274, 1916; 89, 278, 1917.

4) a. a. O.

5) a. a. O.

6) Diese Zeitschr. 147, 275ff., 1924.

7) Zeitschr. f. Biol. 30, 254, 1894.

8) Ebendasselbst 39, 354, 1900.

9) Landw. Versuchsst. 73, 290, 1910.

10) Landw. Versuchsst. 79/80, 623, 1913.

Während bei den Wiederkäuern einzelne stickstoffhaltige Substanzen nichteiweißartiger Natur einen unverkennbar günstigen Einfluß auf den Stickstoffansatz ausgeübt haben, ist bei den karnivoren und omnivoren Tieren bisher im allgemeinen eine so günstige Wirkung nicht festzustellen gewesen.

Was die Frage der Fettbildung aus den leimhaltigen Futtermitteln sowie aus den stickstoffhaltigen Substanzen nichteiweißartiger Natur betrifft, so ist diese für uns noch zu unentschieden, als daß man sich schon auf eine bestimmte klare Auffassung festlegen könnte.

Der im folgenden beschriebene Versuch soll daher der Klärung der Frage dienen, welchen Einfluß Glykokoll und Ammonacetat bei der Mast wachsender Schweine auf Stickstoff- und Fettansatz ausüben.

Dabei benutze ich mit lebhaftem Dank und in schmerzlicher Erinnerung die Gelegenheit, dem im November 1925 verstorbenen Herrn Universitätskurator Dr. jur. *W. von Vietsch*, der durch eine gütige Spende die Durchführung meiner Versuche ermöglichte, mein dankbares Gedenken zu widmen. Ich konnte ihm leider nicht, wie gehofft, diese Arbeit als Zeichen meines Dankes zusenden. Doch hat er noch erfahren, daß sie mit manchem fesselnden Ergebnis zu Ende geführt worden war. Ich werde diesen gütigen Förderer meiner Arbeit nicht vergessen.

## I. Besprechung des Periodenversuchs.

### 1. Die Versuchstiere und ihr Gesundheitszustand.

Der Versuch wurde mit zehn Schweinen in den Stallungen des agrikulturchemischen Instituts der Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau in der Zeit vom 15. Dezember 1924 bis 8. Mai 1925 durchgeführt.

Die Tiere, welche zum Mast- und Ausschlachtungsversuch mit Glykokoll und Ammonacetat aufgestellt wurden, gehörten mit Ausnahme von Schwein 10 (mit Edelschweincharakter) dem Schläge des veredelten Landschweines an. Schweine 1, 4, 5 waren männlichen Geschlechts und kastriert, die übrigen sieben weiblichen Tiere nicht geschnitten. Geboren waren sämtliche Tiere in der zweiten Hälfte des Monats Juli 1924, so daß sie im Alter von etwa  $4\frac{3}{4}$  Monaten in den Versuch eintraten. Das erste Lebendgewicht, welches infolge der großen Unruhe der Tiere erst am vierten Tage mit Sicherheit festgestellt werden konnte, und das daher auch zugrunde gelegt wurde, war folgendes:

Schwein	1	. . . . .	55,2 kg
„	2	. . . . .	55,7 „
„	3	. . . . .	61,4 „
„	4	. . . . .	61,2 „
„	5	. . . . .	60,7 „
„	6	. . . . .	61,4 „
„	7	. . . . .	44,2 „
„	8	. . . . .	43,7 „
„	9	. . . . .	45,3 „
„	10	. . . . .	52,2 „
		<hr/>	
		Im ganzen . . . .	541,0 kg

Das Durchschnittsgewicht je Tier betrug also 54,1 kg.

Um die Einzelunterschiede im Gewicht und Geschlecht nach Möglichkeit auszugleichen und so die Vorbedingung für einwandfreie Ergebnisse zu erfüllen, wurden folgende Maßnahmen getroffen:

1. Beim Schlachten der ersten beiden Tiere 5 und 9, die als Ausgangsmaterial für die Beurteilung der Zusammensetzung des Tierkörpers dienten, wurde ein männliches und ein weibliches Tier genommen, welche zusammen das derzeitige Durchschnittsgewicht sämtlicher zehn Tiere hatten. Das Mittel des Lebendgewichts bei Beginn der Glykokollperiode betrug 70,17 kg. Schwein 5 mit 79,7 kg und Schwein 9 mit 61,0 kg am 14. Januar 1925 erreichten einen Durchschnitt von 70,35 kg.

2. Die übrigen acht Schweine wurden derart zusammengestellt, daß

1 und 3 als Glykokolltiere im Mittel . . . . .	71,5 kg
2 „ 4 „ Grundfüttertiere im Mittel . . . . .	73,35 „
6 „ 7 „ Glykokolltiere im Mittel . . . . .	69,95 „
8 „ 10 „ Grundfüttertiere im Mittel . . . . .	65,7 „ wogen.

Die hierbei auftretenden größeren Abweichungen vom Mittel wurden mit Rücksicht auf andere maßgebende Lebensäußerungen der betreffenden Tiere (Freßlust, Wüchsigkeit) nicht beseitigt. Außerdem wurde mit dieser Zusammenstellung erreicht, daß das Lebendgewicht der Grundfütter- wie der Ersatzfüttertiergruppen eine befriedigende Übereinstimmung hatte.

3. Schließlich sei schon hier erwähnt, daß die Verschiedenheit dadurch ausgeschaltet wurde, daß in den maßgebenden Haupttabellen über die Zunahme an Fleischtrockensubstanz, Gesamtstickstoff und Gesamtätherextrakt das jeweilige Lebendgewicht zugrunde gelegt und die jeweilige Zunahme in ein Verhältnis zu diesem gesetzt wurde.

Der Gesundheitszustand einzelner Tiere ließ zu wünschen übrig.

Schwein 1 hinterließ schon ab 29. Januar geringe Futterreste, die ständig zunahmen, so daß es als Zwangsstalltier ab 14. Februar nicht mehr Verwendung fand. Die von Schwein 7 während seines Aufenthalts im Zwangsstall hinterlassenen geringen Futterrückstände bedingten ebenfalls einen Austausch dieses Tieres gegen sein Paralleltier 6.

Schweine 3 und 6, die ebenfalls Glykokoll erhielten, aber im freien Stall gemästet wurden, blieben gesund. Aus dieser Beobachtung könnte vielleicht geschlossen werden, daß in der Hauptsache der Aufenthalt im unbequemen Zwangsstall mit unelastischer, vielleicht auch zu kalter Unterlage die Ursache der rheumaähnlichen Erkrankung gewesen ist, wobei es allerdings nicht ausgeschlossen erscheint, daß gerade die Glykokollgabe fördernd auf diesen Zustand eingewirkt hat, anderenfalls auch bei den Grundfüttertieren ähnliche Erscheinungen zutage getreten sein müßten.

Um von Schwein 1 aus in der Ammonacetatperiode vor weiteren Störungen bewahrt zu sein, wurde dieses zusammen mit den Schweinen 2, 6 und 10 am Ende der Glykokollperiode geschlachtet. Das Schlachtergebnis dieses erstgenannten Tieres ist daher als nicht unbedingt sicher zu betrachten.

Schon während der Grundfütterzwischenperiode war nach einem siebenwöchigen Aufenthalt im Zwangsstalle in dem Befinden der Schweine 7 und 8 eine Veränderung eingetreten. Am Abend des 27. März — 10 Tage nach Beginn der Fütterung mit Ammonacetat — hatte Schwein 7 einen Anfall mit den Symptomen einer Kochsalzvergiftung, der etwa 25 Minuten dauerte.

*Köhler*<sup>1)</sup> berichtet, daß die Zulage von Ammonacetat zum Futter bei seinen Versuchsschweinen sofortige Freßunlust, nach wenigen Tagen Erbrechen und schließlich gänzliche Verweigerung des Futters bewirkt hat.

Schwein 8 begann ab 19. März zu lahmen; die Knochen der Beine schwellen an und die Gewichtszunahme ließ etwas nach. Infolge dieses Krankheitsbildes wurden die Schweine 7 und 8 vorzeitig geschlachtet.

Wegen Rauschens mußte Schwein 3 die letzten vier Tage der Ammonacetatperiode, die für den Aufenthalt im Zwangsstall vorgesehen waren, außerhalb desselben im freien Stall zubringen. Auf den Verlauf des Versuchs und dessen Ergebnis war dieser Umstand jedoch ohne Einfluß, weil er sonstige störende Begleiterscheinungen nicht im Gefolge hatte.

## 2. Das Futter, seine Zusammensetzung und der Ersatz durch Glykokoll und Ammonacetat.

In den Grundfutterperioden erhielten die zehn Schweine je Kopf und Tag:

1750 g Kartoffelflocken,  
300 g Fischfuttermehl,  
150 g Gerstenschrot,  
50 g Trockenhefe,  
10 g phosphorsauren Kalk als Beigabe.

Den für die Ersatzfütterung bestimmten Tieren wurden für die in Abzug gebrachten 132 g Fischfuttermehl

in der Glykokollperiode . . . . 69 g Glykokoll  
„ „ Ammonacetatperiode . . . 112 g Ammonacetat

gegeben. Diese Mengen sind auf Grund der Stickstoffanalysen berechnet worden. Das geringe Mehr an reinem Stickstoff in dem Ersatzfutter rührt von dem Stickstoffgehalt der Zulage an Kartoffelflocken her, die zum Ausgleich des Stärkewertes gegeben werden mußten.

Die Berechnung der Nährstoffe war auf Grund der Fütterungsnormen vorgenommen worden, die *Kellner* für wachsende Mastschweine im Alter von 3 bis 5 Monaten bei einem Lebendgewicht von 50 kg je Kopf in Ansatz bringt. Das bei Beginn des Versuchs festgesetzte Futter ist während des ganzen Verlaufs der Menge nach unverändert gereicht worden. Die trotzdem sich ergebenden Unterschiede erklären sich aus dem veränderten Wassergehalt der Futtermittel, wie er bei Beginn der Ammonacetatperiode festgestellt werden konnte. Diese veränderten Werte haben in den dafür in Betracht kommenden Tabellen gebührende Berücksichtigung gefunden.

Die Futterrationen waren so gewählt worden, daß die Stärkewerte in den einzelnen Perioden ungefähr gleich waren.

Der Trockensubstanzgehalt der einzelnen Futtermittel geht aus der Tabelle I hervor. Infolge der allmählich steigenden Außentemperatur und der damit verbundenen erhöhten Wasserverdunstung hat sich der Wassergehalt der Futtermittel in den letzten beiden Perioden etwas verringert.

Auf absolute Trockensubstanz umgerechnet war die prozentuale Zusammensetzung der Futtermittel folgende: siehe Tabelle II.

<sup>1)</sup> a. a. O.

Bei sinngemäßer Verwertung der in den Tabellen I bis II angegebenen Zahlen ergibt sich die Zusammensetzung der Futterrationen, die in den Tabellen III A und B zum Ausdruck kommt.

Das Futter wurde zweimal am Tage in Form eines mittelderben Breies gegeben und im allgemeinen bereitwillig aufgenommen.

Die Temperatur des Futters lag etwas unter der des Körpers.

Wasser stand den Tieren nach Belieben zur Verfügung.

Zur Deckung des Bedarfs an Kalk und Phosphorsäure wurde den Tieren täglich eine Zulage von 10 g Dicalciumphosphat gegeben.

Das Futter wurde jedem Schwein je Tag besonders zugewogen.

Glykokoll sowie Ammonacetat wurden in Wasser aufgelöst zur Hälfte des Morgens, zur anderen Hälfte des Abends dem Futterbrei beigemischt.

Die Futtermittel sind nach denselben Methoden auf ihre Zusammensetzung untersucht worden, wie die Durchschnittsproben aus dem Schlachtversuch. Auf die Methodik komme ich später zu sprechen.

Mit Hilfe einer im Stalle befindlichen Zentralheizungsanlage war es möglich, bei ständiger Zufuhr von frischer Luft während des ganzen Tages die Stalltemperatur stets auf gleicher Höhe, 10 bis 11° C, zu erhalten.

### 3. Versuchsanordnung und Besprechung der einzelnen Fütterungsperioden.

Der Versuch kam in der Form des Periodensystems zur Durchführung, und zwar so, daß die beiden Ersatzperioden von je zwei Grundfütterperioden eingeschlossen waren. Dementsprechend zerfiel der Versuch in fünf verschiedene Perioden:

- |   |           |
|---|-----------|
| I. oder Grundfutteranfangsperiode vom 15. Dezember 1924 bis 14. Januar 1925 . . . . . | = 30 Tage |
| II. oder Glykokollperiode vom 27. Januar 1925 bis 9. März 1925 . . . . .              | = 43 „    |
| III. oder Grundfutterzwischenperiode vom 10. März 1925 bis 16. März 1925 . . . . .    | = 7 „     |
| IV. oder Ammonacetatperiode vom 17. März 1925 bis 27. April 1925 . . . . .            | = 42 „    |
| V. oder Grundfutterschlußperiode vom 28. April 1925 bis 8. Mai 1925 . . . . .         | = 11 „    |

In den Ersatzperioden II und IV wurden bei gleichbleibendem Gehalt an Stärkewert

- |   |  |
|---|--|
| 12,51 g Stickstoff des Fischfuttermehls durch | 12,62 g Stickstoff in Form von Glykokoll und |
| 13,29 g Stickstoff des Fischfuttermehls durch | 13,41 g Stickstoff in Form von Ammonacetat,  |

also organischer Stickstoff durch nichteiweißartige synthetische Stickstoffverbindungen ersetzt.

Die zwischen Periode I und II liegenden 13 Tage wurden noch eingeschaltet, um etwaige Rückschläge, die sich aus dem vielleicht bis dahin noch ungewohnten Aufenthalt im Zwangsstalle ergeben konnten, von vornherein nach Möglichkeit auszuschalten. In diesen 13 Tagen wurde für alle Tiere das in der Grundfutteranfangsperiode verabfolgte Grundfutter gereicht.

Die beiden Ersatzperioden mußten durch eine wenigstens siebentägige Grundfutterzwischenperiode getrennt werden, damit der aus der 2. Periode herrührende Kot aus dem Tierkörper restlos entweichen konnte und Nachwirkungen des Glykokolls in der Ammonacetatperiode vermieden wurden.

Zwecks Erlangung einer gleichmäßigen Körperbeschaffenheit wurden sämtliche 10 Schweine 30 Tage lang mit dem gleichen Grundfutter vorgefüttert.

In dieser Grundfutteranfangsperiode wurden je 1000 kg Lebendgewicht gegeben:

3,87 kg verdauliches Rohprotein und  
22,94 kg Stärkewerte.

Am Ende der Grundfutteranfangsperiode wurden die beiden Schweine 5 und 9 geschlachtet und deren Schlachtergebnisse für die nächsten vier Schlachttiere (1, 2, 6 und 10) zugrunde gelegt.

Bei dieser Maßnahme gingen wir von der Voraussetzung aus, daß die anderen acht Tiere durch die gleiche 30tägige Vorfütterung auch eine gleichmäßige Körperbeschaffenheit erlangt haben.

Und in der Tat ähnelten sich die beiden zuerst geschlachteten Tiere 5 und 9 bezüglich ihres Gesamtstickstoff- und Fettgehalts dermaßen, daß man mit guter Berechtigung auf eine ebensolche Zusammensetzung bei den übrigen Tieren rechnen kann.

	Lebendgewicht g	Gesamtstickstoff g	In Proz. des Lebendgewichts	Gesamtätherextrakt g	In Proz. des Lebendgewichts
Schwein 5	67 725	1460,4	1,90	23 883	31,1
Schwein 9	59 900	1049,1	1,75	18 487	30,9

In der Periode II oder Glykokollperiode wurden vier Schweine (1, 3, 6, 7) mit Glykokoll als Eiweißersatz und vier Schweine (2, 4, 8, 10) mit dem bisherigen Grundfutter weiter gemästet, von jeder Gruppe zwei Tiere an bestimmten Tagen im Zwangsstall.

Die Glykokolltiere erhielten statt 300 g Fischfuttermehl mit 28,44 g Gesamtstickstoff

168 g Fischfuttermehl mit	15,93 g Stickstoff und
69 g Glykokoll mit	12,62 g ..
im ganzen 28,55 g Stickstoff.	

Zum Ausgleich des Stärkewertes wurde die tägliche Ration an Kartoffelflocken um 87,5 g erhöht.

Nach 43 Tagen wurden zwei Glykokolltiere (1 als frei lebendes, 6 als Zwangsstalltier) und zwei Grundfüttertiere (2 als Zwangsstalltier und 10 als frei lebendes) geschlachtet und deren durchschnittliche Schlachtergebnisse wiederum für die zur Mast mit Ammonacetat verwendeten vier letzten Schweine (3, 4, 7, 8) zugrunde gelegt.

Nach der zwischen den beiden Ersatzperioden eingeschalteten Grundfutterzwischenperiode, in der alle vier noch lebenden Tiere wieder Grundfutter wie in Periode I erhielten, fanden die schon mit Glykokoll gemästeten Schweine

3 und 7 als Ammonacetattiere

und die in Periode II mit Grundfutter gemästeten Schweine

4 und 8 als Grundfüttertiere Verwendung (3 und 4 im Zwangsstall).

Für die bei den Ammonacetattieren in Abzug gebrachten 132 g Fischfuttermehl mit 13,29 g Stickstoff wurden 112 g Ammonacetat mit 13,41 g Stickstoff zugelegt. Der Stärkewert wurde ausgeglichen durch eine Erhöhung der Kartoffelflockenration um 93,9 g.



Zur besseren Verwertung der Zahlen wurde nach der Ammonacetatperiode noch eine Grundfutterschlußperiode angegliedert, nach deren Verlauf die letzten vier Schweine geschlachtet werden sollten. Inwieweit diese Versuchsanordnung nicht innegehalten werden konnte, ging bereits aus dem Abschnitt über den Gesundheitszustand der Tiere hervor.

#### 4. Der Zwangsstall und die Verfahren zur Untersuchung der Stoffwechselprodukte.

Zwecks Beobachtung der Stoffwechselforgänge und zwecks Aufstellung einer Stickstoffbilanz wurden in der Glykokollperiode vier Schweine



Abb. 1.



Abb. 2.

und nach Ausschaltung zweier Tiere infolge von Krankheitserscheinungen deren Ersatztiere, in der Ammonacetat- und Grundfutterschlußperiode je zwei Schweine in Zwangsställen nach dem Muster der in der Landwirtschaftlichen Versuchsstation Leipzig-Möckern verwendeten gemästet.

Diese Zwangsställe (s. Abb. 1 bis 3), welche zumal für Versuche mit Schafen und Ziegen gedacht waren, der Billigkeit halber aber auch bei vorliegendem Versuche Verwendung finden mußten, eigneten sich für Schweine ganz und gar nicht.

Die folgenden auf dauernder Beobachtung beruhenden Erfahrungen sind vielleicht imstande, den nicht immer einwandfreien Gesundheitszustand einiger Tiere zu erklären.



Abb. 3.

Die Tiere gewöhnten sich nur sehr allmählich an den Aufenthalt in dem engen, dunklen Zwangsstall. Nur selten legten sich die Schweine; den allergrößten Teil der Zeit verbrachten sie in sitzender Stellung. Eine gewisse Scheu vor dem dunklen Kasten sind die Tiere nie los geworden. Es ist mit Bestimmtheit anzunehmen, daß in dem Unbehagen ein Hauptgrund für die unregelmäßige und zuweilen ganz unterlassene Kotausscheidung und für die außerordentlich schwankende Harnausscheidung zu suchen ist.

Bei Beginn des Versuchs waren die Zwangsställe mit klein gelochtem, 2 mm starkem Eisenblech ausgeschlagen. Als sich schon nach 2 Wochen einiger Tiere eine große Unruhe bemächtigte, die sich in dauerndem abwechselnden Hochheben und Niedersetzen der Hinterbeine äußerste, wurden Strohmatten geflochten und aufgedeckt. Abgesehen davon, daß die Tiere fortwährend daran kauten und rissen, war ein quantitatives Auffangen von Kot und Harn ausgeschlossen.

Bessere Erfolge wurden mit einer schwach muldenförmigen Unterlage von etwa 3 cm starkem Kiefernholz erzielt, in deren Mitte sich ein mit engmaschigem Eisenblech überschlagenes, uhrglasgroßes Loch befand, das dem abfließenden Harn, nicht aber dem Kot schnellen Durchtritt gestattete. Auf dieser elastischen und wärmeren Unterlage, die an allen vier Seiten gut in den Zwangsstall eingepaßt war, haben die Schweine ohne weitere Störungen die Zeit im Zwangsstall überstanden.

Trotzdem war bei der Art dieser Ställe und auch infolge der Verwendung von meist weiblichen Tieren, bei denen der Harn oft an die hintere Zwangsstallwand spritzte, ein restloses Auffangen des Harns nicht zu ermöglichen gewesen. Die Stickstoffbilanzen können daher nicht als sicher angesprochen werden. Immerhin haben sie im Vergleich zu den Schlachtergebnissen, die ohne Mühe festgestellt werden konnten, eine gewisse Bedeutung.

Während der Glykokollperiode waren in den Zwangsställen untergebracht die Schweine 3 und 6 als Glykokolltiere, 2 und 8 als Grundfuttier-tiere. 1 und 7 mußten für den Versuch nach 6 bzw. 5 Zwangsstalltagen ausscheiden.

In der Ammonacetatperiode und Grundfutterschlußperiode standen nur noch die Schweine 3 und 4 zur Verfügung, die beide an den in Betracht kommenden Tagen im Zwangsstall blieben. Im allgemeinen wurden die Tiere zweimal in der Woche je 24 Stunden im Zwangsstall gehalten. Nur ausnahmsweise wurde der Aufenthalt verlängert, wenn es sich darum handelte, größere Schwankungen in Harn- und Kotausscheidung auszugleichen.

Der aufgefangene Kot wurde frisch gewogen, der Harn der Menge nach gemessen. Um Stickstoffverluste zu vermeiden, wurde der frisch abfließende Harn mit Schwefelsäure schwach angesäuert.

Frischer Kot und Harn wurden in je zwei gut durchmengten Proben auf Gesamtstickstoff nach dem Kjeldahlverfahren untersucht, sodann stets der vierte Teil des gesamten Tageskots mit 2,5proz. Oxalsäure angefeuchtet, bei 60 bis 70° C im Trockenschrank 24 Stunden lang getrocknet, nach dem Erkalten der Luft ausgesetzt, lufttrocken wieder gewogen und in gut schließenden Glasgefäßen gesondert für jedes Schwein und jede Periode aufbewahrt, um am Schluß des Versuchs zerrieben und vermengt einer vollständigen Analyse unterworfen zu werden.

Den in den betreffenden Tabellen angeführten Untersuchungsergebnissen liegen die Analysen des Trockenkots zugrunde. Die Zahlen beziehen sich

auf absolute Trockenmasse. Die Besprechung dieser Zahlen erfolgt später in dem mit „Stickstoffumsatz“ überschriebenen Abschnitt des zweiten Teiles dieser Arbeit.

### 5. Der Schlachtversuch und die Methodik der Verarbeitung.

Wie bereits angedeutet, wurden die zehn Schweine zu vier verschiedenen Zeitpunkten geschlachtet:

1. Schweine 5 und 9: am Schluß der Grundfutteranfangsperiode bildeten sie die Grundlage für die Beurteilung der Körperbeschaffenheit der nächsten vier Schlachttiere.

2. Schweine 2 und 10 als Grundfuttertiere und Schweine 1 und 6 als Glykokolltiere gaben am Ende der Glykokollperiode ein Bild für die derzeitige Zusammensetzung der letzten vier Tiere, die in der Ammonacetatperiode gemästet wurden.

3. Schwein 7 als Ammonacetattier, Schwein 8 als Grundfuttertier mußten infolge von Krankheitserscheinungen vorzeitig geschlachtet werden. Die hierbei erzielten Ergebnisse werden aber aus dem bereits erwähnten Grunde nur bedingt zur Beurteilung herangezogen werden können.

4. Schwein 3 als Ammonacetattier, Schwein 4 als Grundfuttertier wurden erst am Schluß einer Grundfutterschlußperiode geschlachtet; diese mußte eingeschaltet werden, weil Kontrolltiere nicht zur Verfügung standen. Es wurde dadurch ermöglicht, das Ammonacetattier nicht nur mit dem anderen Grundfuttertier, sondern auch mit sich selbst als Grundfuttertier in gewissem Umfange zu vergleichen. Auf die hierbei gefundenen Ergebnisse komme ich später zu sprechen.

Das Schlachten und die Untersuchung des Tierkörpers wurde bei allen Tieren in der gleichen Weise gehandhabt.

Gefüttert wurden die Schweine letztmalig am Abend vor dem Schlachttag. Daraus erklären sich die geringen Schwankungen zwischen den in der Gewichtstabelle angegebenen Gewichten vom Tage vor dem Schlachten und dem Schlachttag selbst. Für die Berechnungen ist stets das unmittelbar vor dem Schlachten festgestellte Lebendgewicht zugrunde gelegt worden.

Nach dem Auffangen des Blutes wurden die Tiere so zerlegt, daß die zwei Hälften, ferner das Blut, Gedärme und Magen, Gelinge, Gehirn und das sofort peinlich abpräparierte Darmfett gesondert warm gewogen werden konnten. Sämtliche Stücke wurden bis zum nächsten Morgen kühl aufbewahrt und vor dem Präparieren nochmals kalt gewogen. An den Schlachtergebnissen sind die inneren Organe nur insoweit beteiligt, als das Fett dem Körperfett zugefügt wurde. Auf Stickstoff sind die Organe nicht untersucht worden.

Je eine Hälfte jedes Schweines wurde zerteilt und auf Fleisch, Fett, Sehnen, Schwarte und Knochen verarbeitet. Die danach mit der Wage festgestellten Mengen wurden auf die andere Hälfte bezogen, so daß die Summe der beiden Ergebnisreihen die Zusammensetzung des ganzen Schweines ergab.

Die Knochen wurden nur gewogen.

Fleisch, Fett, Sehnen und Schwarte wurden ebenfalls gewogen, die Schwarte in kleine Stücke zerschnitten, Fleisch, Fett und Sehnen mit der Hackmaschine zerkleinert. Die nach zweimaligem Durchdrehen durch die Hackmaschine verbleibenden sehnenreichen Restmengen von Fleisch und Fett wurden gewogen und unter Abrechnung von der betreffenden Substanz zu den Sehnen hinzugenommen.

Nach sorgfältiger Herstellung und Entnahme von Durchschnittsproben wurden diese folgenden Analysen unterworfen:

Von Fleisch, Fett, Sehnen und Schwarte wurden je vier Trockensubstanzbestimmungen immer mit je 10 g Substanz ausgeführt.

Der Fettgehalt dieser vier frischen Substanzen wurde nach dem Verfahren von *Pflüger*<sup>1)</sup> auf folgende Weise bestimmt:

Je drei Proben von 50 g Substanz wurden in einem verschlossenen Erlenmeyerkolben 2 bis 3 Wochen unter täglichem Umschütteln mit reinem Äther ausgelaugt, bis die Substanz gut zerreibbar war, dann das Fett im *Sohletschen* Fettextraktionsapparat von der fettfreien Substanz getrennt. In dem Rückstand wurde dann noch der Gesamtstickstoffgehalt nach dem Verfahren von *Kjeldahl* sowie der Trockensubstanzgehalt bestimmt.

Fleisch und Sehnen wurden in frischem Zustande mit je 5 g Substanz auf Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* und auf Reineiweiß nach *Barnstein* untersucht. Im Fett und in der Schwarte ist das Reineiweiß nicht festgestellt worden, weswegen die Tabellen XVI und XVII sich nur auf Fleisch und Sehnen bzw. auf Fleisch und Blut beziehen.

Das aufgefangene Blut wurde in je sechs Proben von 20 ccm auf vorher tarierten Schalen mit 50 g ausgeglühtem Glassand gewogen, bis zur Trockne eingedampft und nach Feststellung des Trockensubstanzgehalts auf Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* und auf Reineiweiß nach *Barnstein* untersucht. Das Blut wurde mit Sand vermengt, um es getrocknet besser zerreiben zu können.

Mit Hilfe dieser Analysen konnte der Gehalt der für uns maßgebenden Teile des Tierkörpers an Trockensubstanz, Wasser, Gesamtstickstoff, Reineiweiß, nichteiweißartigen Stoffen und Ätherextrakt (Rohfett) ermittelt werden.

Der Gesamtgehalt an Fleischrockensubstanz, Wasser, Stickstoff und Ätherextrakt einer Körperhälfte in Beziehung gesetzt zu der anderen und zu deren Endergebnis addiert, ergibt dann die Zusammensetzung des ganzen Tierkörpers, wie sie die Aufgabenstellung verlangt.

An dieser Stelle möchte ich nicht verfehlen, allen den Damen und Herren, welche mich in so entgegenkommender und tatkräftiger Weise bei der Durchführung meines Schlachtversuchs zu wiederholten Malen unterstützt haben, meinen Dank auszusprechen.

## II. Auswertung der Ergebnisse.

### *Körpergewicht und Zunahme der Versuchstiere.*

Das Körpergewicht der einzelnen Tiere, das werktags stets vor Verabfolgung des Abendfutters festgestellt wurde, ist in Tabelle XXVII zusammengestellt.

Ein Vergleich der zusammengehörenden Paralleltiere (7 und 8, 1 und 2, 6 und 10, 3 und 4) zeigt mit großer Deutlichkeit, daß die tägliche Gewichtszunahme der Grundfuttermiere überall größer war als die der Ersatzfuttermiere, wenn man die Differenzen zwischen Anfangs- und Endgewichten einander gegenüberstellt. Der erhebliche Gewichtsabfall,

<sup>1)</sup> *Pflügers Arch.* 51, 278, 1892.

den Schwein 3 gegenüber Schwein 4 in der Glykokollperiode zu verzeichnen hatte, ist zum Teil in der Ammonacetatperiode wieder ausgeglichen worden. Daraus erklärt sich die höhere tägliche Durchschnittszunahme in dieser vierten Periode gegenüber Schwein 4, auf die auch nach den Zahlen der Stickstoffbilanz gerechnet werden mußte. Trotzdem hat Schwein 3 während des ganzen Versuchs nicht dieselbe Durchschnittszunahme erreicht wie Grundfuttermittel 4.

Wenn man ferner berücksichtigt, daß das Ammonacetattier 3 während der Fütterung mit Ammonacetat täglich 371,9 g, während der nur 12tägigen Grundfutterschlußperiode dagegen 444,4 g je Tag, also mit Grundfutter 72,5 g mehr zugenommen hat, so spricht diese Tatsache nur zu deutlich für die bessere Wirkung des gereichten Grundfutters.

#### *Stoffwechselprodukte.*

Die Gewichte und Untersuchungsergebnisse des während der Perioden II, IV und V aufgefangenen Kotes sind aus den Tabellen IV bis VII ersichtlich.

Die Kotalausscheidung ist sehr großen Schwankungen unterworfen, die am größten bei Schwein 4 in der Ammonacetatperiode sind, wo dieses zum ersten Male im Zwangsstall untergebrachte Tier an den 15 Zwangsstalltagen sechsmal überhaupt keinen Kot abgesetzt hat. Aus dem Verhalten des Tieres ist zu schließen, daß der Kot mit Willen zurückgehalten wurde. *Kellner*<sup>1)</sup> hat bei seinen ausgedehnten Versuchen die Beobachtung bestätigt gefunden, daß die Ausstoßung des Kotes mehr oder weniger von dem Willen des Tieres abhängig ist.

Aus den sich ergebenden Zahlen maßgebliche Schlüsse zu ziehen, wäre bei dieser Unregelmäßigkeit sehr gewagt. Hier macht sich der Mangel an mehr Versuchstieren und der entschieden hemmende Einfluß des Zwangsstalles besonders deutlich bemerkbar. Die prozentuale Stickstoffausscheidung der Grundfüttertiere ist in beiden Ersatzperioden etwas höher als die der Ersatzfüttertiere.

Wie aus Tabelle V, B ersichtlich, konnte von Schwein 4 in der Grundfutterschlußperiode nur an einem Tage wenig Kot aufgefangen werden. Da in der Ammonacetatperiode während 15 Tagen eine bedeutend genauere Durchschnittskotmenge erreicht werden konnte, ist bei den Berechnungen auch in der Grundfutterschlußperiode diese in der Periode IV erreichte durchschnittliche Kotmenge von 84,9 g absolut trockenem Kot eingesetzt worden. (Die für die folgenden Tabellen gültigen Zahlen sind in Tabelle VII in Klammern gesetzt worden.) Im übrigen ist die prozentuale Zusammensetzung auf Grund der Analyseergebnisse des tatsächlich in der Grundfutterschlußperiode ausgeschiedenen Kotes errechnet worden.

<sup>1)</sup> *Kellner*, Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere, S. 36.

Das Eiweiß ist bei den Ersatzfuttermitteln sowohl in der Glykokoll-, wie in der Ammonacetatperiode etwas besser verwertet worden (siehe Tabelle VI und VII). Nicht so unterschiedlich ist der prozentische Stickstoffgehalt des Kotes bei den Tieren. In der Ammonacetatperiode beträgt die Differenz in dem prozentischen Eiweißgehalt desselben bei Schwein 3 und 4 nur 0,49 Proz.

Tabellen VIII und IX geben Aufschluß über die verdauten Nährstoffmengen und die daraus berechneten Verdauungskoeffizienten in den Perioden III, IV und V.

Bei Schwein 3 steigt gegenüber der Glykokollperiode der Verdauungskoeffizient in der Ammonacetatperiode um etwa 3 Proz., um in der kurzen Grundfutterschlußperiode sich wieder etwas zu senken. Diese Depression muß wohl als Folge des am Ende der Periode IV eingetretenen Rauschens bzw. des plötzlichen Futterwechsels angesehen werden.

Der Gesamtstickstoff ist von den Ersatztieren überall besser ausgenutzt worden als von den Grundfuttermitteln. Besonders deutlich wird der Unterschied wieder bei Schwein 3 in den letzten beiden Perioden, wo unter Einrechnung des Ammonacetats folgende Mengen verdauten Gesamtstickstoffs einander gegenüberstehen:

in der Ammonacetatperiode . . . 53,5 g N  
 „ „ Grundfutterschlußperiode . 48,5 g N

Hier hat das Ammonacetat die Verdaulichkeit des Stickstoffs relativ erhöht.

Die stickstofffreien Extraktstoffe stimmen in den diesbezüglichen Zahlen während sämtlicher Perioden gut überein, im Gegensatz zum Ätherextrakt, der hinsichtlich der Verdauung unregelmäßigen Schwankungen unterworfen ist.

Was die Rohfaser betrifft, so scheint diese von den Ersatzfuttermitteln weniger gut verwertet worden zu sein. Bei der geringen Anzahl von Vergleichstieren kann diese Annahme, die bei Schwein 6 und 8 unterbrochen ist, nicht als unbedingt sicher zur Regel erhoben werden.

Die Verdauungskoeffizienten, welche bei allen Tieren eine recht gute Verwertung des Futters zeigen, schwanken zwischen 92,4 und 96,9 Proz.

Verdauungskoeffizienten der Schweine.

	1	3	2	7	6	8	4
Glykokollperiode . . . . .	96,9	93,0	93,7	95,3	95,5	92,4	—
Ammonacetatperiode . . . . .	—	96,9	—	—	—	—	95,9
Grundfutterschlußperiode . . . . .	—	93,3	—	—	—	—	96,0

In den folgenden Tabellen X und XI kommt die Harnproduktion und die Stickstoffausscheidung zum Ausdruck. Bei einer höheren

Durchschnittsmenge fällt bei Schwein 3 in der Ammonacetatperiode der prozentuale Stickstoffgehalt ein wenig ab, um in der Grundfutterschlußperiode bei fast gleichbleibender Menge einen großen Sprung nach unten zu machen.

In der Glykokollperiode ist die Abweichung der Harnmenge vom Mittel nicht so groß, wie in der Ammonacetatperiode. In dieser wiederum treten größere Abweichungen sowohl beim Grundfutter- wie beim Ersatzfuttermittel in eigentümlicher Übereinstimmung auf, so daß man unmöglich hieraus auf eine Sonderwirkung von einer der beiden Rationen schließen kann.

Die im Harn gefundene absolute Stickstoffmenge ist durchweg bei den Ersatzfuttermitteln die größere. Die Ersatzstoffe werden demgemäß nicht entsprechend verwertet, sondern in weiterem Umfange sofort unverändert durch die Nieren wieder ausgeschieden.

Bei Schwein 4 ist der prozentuale Stickstoffgehalt in der Ammonacetat- und Grundfutterschlußperiode fast gleich geblieben, während die Harnmenge und damit auch die absolute Stickstoffmenge beträchtlich gefallen ist. Es ist aber mit Bestimmtheit anzunehmen, daß die durchschnittliche Harnmenge mit der längeren Dauer der Periode V auf dieselbe Höhe wie in der Periode IV gestiegen wäre.

#### *Stickstoffumsatz.*

Zur Feststellung des Stickstoffumsatzes dienen die Stickstoffbilanzen, die in der Tabelle XIIa bis c aufgestellt sind.

Die Krankheitserscheinungen bei Schwein 1 und 7 sowie die dadurch bedingte zu kurze Beobachtungszeit in den Zwangsställen ließen eine völlige Ausschaltung dieser beiden Tiere bei Aufstellung der Stickstoffbilanzen als gerechtfertigt erscheinen. Wenn diese Bilanzen dennoch in den Tabellen aufgeführt sind, so ist dies nur der Vollständigkeit halber geschehen.

Trotz völlig gleichbleibenden Futters und unveränderter äußerer Lebensbedingungen ist bei Schwein 4 Harnmenge und Harnstickstoff während der Grundfutterschlußperiode plötzlich unerklärlicherweise stark abgefallen. Es ist daher folgende Korrektur als notwendig angebracht worden.

Der je Tag im Harn während der Ammonacetatperiode ausgeschiedene Stickstoff ist seiner Menge nach auch in die Grundfutterschlußperiode übernommen worden. Da bei diesem Tiere, wie bereits erwähnt, ein Futterwechsel nicht stattgefunden hat, so konnte diese während der 42tägigen Periode IV ermittelte Durchschnittszahl auch in der Periode V mit Berechtigung verwandt werden.

Wie es bei wachsenden Tieren nicht anders zu erwarten war, fand eine Stickstoffzunahme am Körper statt, die allerdings eine ganz außer-

gewöhnliche Höhe erreicht hat. Die Zahlen gewinnen dadurch an Bedeutung, daß die Übereinstimmung zwischen den Paralleltieren eine recht gleichmäßige ist. *Kellner*<sup>1)</sup> ermittelte an ausgewachsenen Ochsen mit einem Mastfutter bei einem engen Nährstoffverhältnis einen Stickstoffansatz von 21,10 bzw. 22,45 g N.

Die Knochen, inneren Organe sowie die Borsten, deren Stickstoffgehalt nicht festgestellt worden ist, können auch die ermittelten hohen Ansatzzahlen maßgebend nicht beeinflussen. Wenn weiterhin diese Zahlen von dem aus den Schlachtversuchen festgestellten Stickstoffansatz sehr erheblich abweichen, so ist der Grund dafür wohl zu einem Teil in der unsicheren Art des Auffangens von Kot und Harn in den Zwangsställen zu suchen, doch dürfte dies zur Erklärung nicht ausreichen.

Aus einem Vergleich der Stickstoffzahlen mit der durchschnittlichen Körpergewichtszunahme je Tag ist zu ersehen, daß mit Ausnahme von Schwein 1 und 7, die aus erwähnten Gründen nicht zum Vergleich herangezogen werden können, überall dort, wo nach der Bilanz mehr Stickstoff zur Produktion von Körpersubstanz verfügbar war, auch tatsächlich ein höheres Durchschnittsgewicht erreicht worden ist.

*So viel ist jedenfalls aus den Bilanzen mit Sicherheit zu entnehmen, nämlich, daß unter Berücksichtigung des Ersatzes von Fischfuttermehl das Glykokoll keinen höheren Stickstoffansatz bewirkt hat als das betreffende Grundfutter.*

*Ferner, wenn auch das Ammonacetat in der Periode IV einen höheren Stickstoffansatz vermittelt hat als das Grundfutter, so steigt bei dem hierfür in Betracht kommenden Schwein 3 während der Periode V sowohl der zur Produktion verfügbare Stickstoff wie auch die durchschnittliche Gewichtszunahme je Tag so stark an, daß wohl auch hier eine bessere Wirkung des Ammonacetats auf den Stickstoffansatz zum mindesten recht zweifelhaft ist.*

Tabelle XIII bringt eine Gegenüberstellung der verdaulichen Nährstoffe unter A, wie sie nach *Kellner* berechnet, und unter B, wie sie auf Grund eigener Analysen ermittelt worden sind. Die Stärkewerte sind auf die übliche Art errechnet worden.

Glykokoll und Ammonacetat sind in dieser Tabelle nicht berücksichtigt worden, weswegen das Eiweißverhältnis bei dem Ersatzfutter erheblich weiter ist als das bei dem zugehörigen Grundfutter ermittelte. Sowohl in der Glykokoll- wie in der Ammonacetatperiode ist das Eiweißverhältnis weiter als das nach *Kellner* berechnete.

<sup>1)</sup> *Kellner*, Landw. Versuchsst. 58, 41, 1900.



Die bei den Grundfuttertieren ermittelten Werte zeigen gegenüber denen der Ersatzfuttertiere nur unerhebliche Unterschiede. Mit Ausnahme des Ätherextrakts sind sämtliche Nährstoffe in den beiden Ersatzperioden besser ausgenutzt worden, als nach den *Kellnerschen* Zahlen zu erwarten gewesen wäre.

*Fleisch (Stickstoff)- und Fettansatz.*

Die Schlachtergebnisse von den Schweinen 5 und 9 hatten, wie bereits an anderer Stelle erwähnt, in Stickstoff- und Fettansatz eine gute Übereinstimmung gezeigt. Eine ebenfalls sehr befriedigende Gleichmäßigkeit wurde hinsichtlich der Fleischrockensubstanz von Fleisch, Fett, Sehnen und Schwarte erzielt. Es betrug bei Schwein 5 die Fleischrockensubstanz 51,5 Proz. des Lebendgewichts, bei Schwein 9 die Fleischrockensubstanz 51,7 Proz. des Lebendgewichts.

Da es sich bei diesem Versuch vornehmlich um Bildung von Fleischrockensubstanz, Stickstoff- und Fettansatz handelte, so bildeten diese beiden erstgeschlachteten Schweine ein durchaus brauchbares Ausgangsmaterial für die Anfangszusammensetzung des Tierkörpers der übrigen Schweine.

Nach den Zahlen der Stickstoffbilanz wäre eine bedeutend höhere durchschnittliche tägliche Körpergewichtszunahme zu erwarten gewesen, wenn man sowohl den Fleisch- wie den Fettansatz in Rechnung zieht. Selbst mit der Vermutung, daß diese Unstimmigkeiten bis zu einem gewissen Grade in den Verlusten beim Auffangen von Kot und Harn ihren Grund haben, sind die großen Unterschiede bei weitem noch nicht restlos geklärt.

Tabelle XIV gibt ein Bild über die Zusammensetzung des Tierkörpers der einzelnen Schweine in der Reihenfolge der Schlachtungen.

Herz, Leber, Lunge und Nieren zeigen naturgemäß Unterschiede, die dem Lebendgewicht der betreffenden Tiere annähernd entsprechen. Größeren Schwankungen unterworfen sind die Gewichte für Magen und Därme; sie sind aus der unterschiedlichen Menge des Magen- und Darminhalts vollständig zu erklären. Das Gesamtblut weist seiner Menge nach nur geringe Unterschiede auf; im allgemeinen erhöht es sich mit zunehmendem Lebendgewicht. Eine auffallend geringe Blutmenge trotz höchsten Lebendgewichts mußte bei Schwein 4 festgestellt werden.

Das Gewicht für die Borsten war nur schwer anzugeben, da Verluste beim Abbrühen, Abschaben und Abspülen unvermeidlich waren.

Die letzte Spalte dieser Tabelle enthält die Zahlen über die Verluste beim Schlachten und Präparieren. Ihre Höhe bewegt sich innerhalb der auch von anderen Forschern gezogenen Grenzen. Der Wasserverlust steigt mit zunehmendem Körpergewicht, da

1. in diesem Falle mehr Wasser im Tierkörper enthalten ist<sup>1)</sup>,
2. das Verarbeiten der schwereren Tiere längere Zeit in Anspruch nahm als das der leichteren Tiere, mithin der Wasserverdunstung größerer Spielraum gegeben war, und
3. jedes Schlachten schwererer Tiere in eine spätere und in diesem Falle wärmere Jahreszeit fiel als das Schlachten leichter Tiere.

Die Ergebnisse des Präparierens und die Zusammensetzung von Analysenfleisch, Analysenfett, Analysensehnen und Analysenschwarte sind in der folgenden Tabelle XV angegeben.

Was die aus dem Analysenfleisch ermittelte Fleischrockensubstanz betrifft, so stehen die Ersatzfuttermittel den Grundfuttermitteln nicht nach. Ammonacetattier 3 hat bei einem geringeren Lebendgewicht eine größere Menge abpräpariertes Fleisch. Da der Wassergehalt des Fleisches aber bedeutend höher ist als bei dem Grundfutttertier 4, so sind die Zahlen für die ermittelte Fleischrockensubstanz nur sehr wenig verschieden. Prozentual ist von dem Ammonacetattier etwas mehr Fleischrockensubstanz gebildet worden.

Bezüglich des Fettgehalts sind schon in dieser Tabelle zwischen den Grundfuttermitteln und den Ersatzfuttermitteln bemerkenswerte Unterschiede zu beobachten, die am deutlichsten jedoch aus Tabelle XIX ersichtlich sind. Das Ersatzfutter hat bei weitem nicht soviel Fett zu erzeugen vermocht, wie das Grundfutter. Bei den Glykokolltieren hat noch eine bemerkenswerte Fettbildung stattgefunden, während bei der Fütterung mit Ammonacetat der Fettansatz ganz und gar in den Hintergrund tritt. Wenn man berücksichtigt, daß bei den Schweinen 3 und 4 im Lebendgewicht nur ein Unterschied von 3800 g festgestellt ist, das Grundfutttertier aber fast 15000 g Körperfett mehr erzeugt hat als das Ammonacetattier, so bedürfen diese Zahlen keiner weiteren Erläuterung.

Der Wassergehalt steigt naturgemäß mit der Zunahme an frischem Fleisch. Der prozentuale Wassergehalt ist so berechnet, daß er die Differenz bildet zwischen 100 und der innerhalb von 4 Stunden bei 100° C erhaltenen Trockensubstanz.

Die Unterschiede in der Menge der abpräparierten Sehnen erklären sich zum Teil aus dem verschiedenen Gehalt an dieser Substanz, zum Teil vielleicht auch aus einer gewissen Verschiedenheit der Auffassung beim Präparieren selbst. Einen Einfluß auf das Endergebnis hat jedoch dieser Umstand nicht, da quantitativ an Substanz so gut wie nichts verloren gegangen ist und die Teilergebnisse an Stickstoff und Fett zusammengefaßt in der Gesamtmenge zum Ausdruck kommen.

Aus der nächsten Tabelle XVI ist der Gehalt der beiden Hälften an Fleischrockensubstanz, Ätherextrakt, Wasser, Gesamtstickstoff

<sup>1)</sup> Falls nicht Kernmast durchgeführt worden ist.

und Eiweißstickstoff, sowie der prozentuale Gehalt an Eiweißstickstoff zu ersehen.

Größere Unterschiede treten bezüglich des Wassergehalts von Schwein 3 und 4 insofern auf, als der Wassergehalt beim Ersatzfuttermittel bedeutend höher ist als beim Grundfuttermittel 4. Bei höherem Wassergehalt von Schwein 1 und 6 gegenüber 2 und 10 ist die Trockensubstanz prozentual geringer; mithin muß auch, wie es tatsächlich der Fall ist, der Stickstoffgehalt bzw. die durchschnittliche Tageszunahme an Stickstoff eine geringere sein als bei den Grundfuttermitteln.

Weiterhin ist die Menge an Gesamtstickstoff wie Eiweißstickstoff bei Schwein 3 eine höhere als bei dem entsprechenden Grundfuttermittel 4.

Während der Amidstickstoff bei der Fütterung mit Glykokoll gegenüber dem Grundfutter zu sinken scheint, ist er bei dem Ammonacetattier ganz erheblich gestiegen. Es ist daraus zu entnehmen, daß bei der Fütterung mit Ammonacetat eine beträchtliche Menge Stickstoff nichteiweißartiger Natur im Fleisch als nicht dem Körpereiwweiß angeglichener Stickstoff aufgespeichert ist.

Der in Fleisch und Blut festgestellte Gesamtstickstoff und Eiweißstickstoff ist in Tabelle XVII gegenübergestellt. Mit Ausnahme von Schwein 10 und 1, bei denen etwas größere Unterschiede auftreten, ist bei allen anderen Tieren fast der gesamte Stickstoff des Blutes in Form von Eiweißstickstoff festgelegt. Auch hier geht mit großer Deutlichkeit hervor, daß bei dem Ersatzfuttermittel ein auffallend hoher Gehalt an Nichteiwweißstickstoff im Fleisch vorhanden sein muß.

Die Ergebnisse der Stickstoffanalysen, bezogen auf die beiden Hälften jedes Schweines sind in Tabelle XVIII zusammengestellt. Die Zahlen schwanken unter sich, so daß eine Auswertung schwer stattfinden kann. Es ist daher der durchschnittliche Stickstoffgehalt in Beziehung zu dem Lebendgewicht gesetzt worden; bei Betrachtung dieser Zahlen ergibt sich, daß die Ersatzfuttermittel durchweg prozentual ein geringes Plus an Gesamtstickstoff gegenüber den Grundfuttermitteln haben. Der prozentuale Mehrgehalt an Gesamtstickstoff beträgt in beiden Fällen, wenn man Schwein 7 und 8 von dieser Betrachtung ausschließt, zugunsten der Ersatzfuttermittel allerdings nur 0,13 Proz.

Wenn trotzdem, wie noch dargelegt werden soll, die durchschnittliche Tageszunahme an Stickstoff bei der Fütterung mit Glykokoll etwas geringer ist, als beim Grundfutter, so liegt das daran, daß hier die Körperzusammensetzung nicht berücksichtigt ist, die auf Grund des jeweiligen Lebendgewichts und auf Grund der Schlachtergebnisse von Schwein 5 und 9 vorausgesetzt werden mußte. Es sind also bei den Tabellen XVIII und XX bis XXIV zwei ganz verschiedene Vergleichsmomente zur Auswertung herangezogen worden.

Was die reine Fettproduktion anbetrifft, so zeigen die Endzahlen der Tabelle XIX allerdings eine wesentlich bessere Ausnutzung des Grundfutters als des Ersatzfutters, und zwar in allen Versuchsperioden. Mag das Ergebnis von Schwein 1 wegen der Krankheitsstörungen nur zum Teil oder auch ganz ausgeschaltet werden, wodurch sich der Fettansatz bei dem Ersatzfutter bedeutend erhöhen würde, so ist trotzdem einwandfrei zu erkennen, daß das Schwein 6, das schwerste Tier in der Glykokollperiode, bezüglich der Fettbildung weit hinter den leichteren Grundfuttertieren zurückgeblieben ist.

In der Ammonacetatperiode hat das Ersatzfutter noch mehr versagt. Hier tritt bei den beiden Versuchstieren ein Unterschied von fast 15000 g Fett zugunsten des Grundfutters auf. Die absolute Fettmenge von Grundfuttertier und Ersatzfuttertier steht in diesem Falle in einem Verhältnis von

100 : 67,05.

*Wenn auch aus den bisherigen Ausführungen, die sich auf die Stickstoffbilanzen im Zusammenhang mit dem Körpergewicht, sowie auf die Schlachtergebnisse gründen, schon deutlich hervorgeht, daß Glykokoll wie Ammonacetat bezüglich des Stickstoffansatzes dem Grundfutterstickstoff wohl ungefähr gleich stehen, so unterliegt es hinsichtlich des Fettansatzes keinem Zweifel, daß das Grundfutter in diesem Versuch fast ausschließlich an der Bildung von Körperfett beteiligt gewesen ist, die Ersatzmittel dagegen im günstigsten Falle nur eine geringe Wirkung ausgeübt haben.*

An Hand der vorliegenden Tabellen ist versucht worden, die Zusammensetzung des Tierkörpers eingehend zu beschreiben. Es bleibt nun noch übrig, wie es bei allen derartigen Versuchen üblich ist, die Tiere unter Zugrundelegung ihres Körpergewichts miteinander einer Betrachtung zu unterziehen, die uns dann am klarsten Einblick in die Zusammenhänge gewährt, wie sie die Aufgabenstellung verlangt.

Über die Anlagen der Tabellen XX bis XXIV ist folgendes vorauszuschicken:

Da in diesen Tabellen der gesamte Stickstoff und der gesamte Ätherextrakt erfaßt werden sollten, mußte der Begriff der Fleischtrockensubstanz dahin erweitert werden, daß hierunter sowohl die Trockensubstanz des Analysenfleisches wie des Analysenfettes, der Analysensehnen und der Analysenschwarte zu verstehen ist. Es entstehen dadurch in einigen Fällen Verschiebungen, die auf den ersten Blick nicht recht zu verstehen sind, aber sich bei Berücksichtigung dieser notwendigen Zahlenanordnung zwanglos erklären lassen.

Im folgenden ist der Gesamtstickstoff in Prozenten der wasser- und fettfreien Fleischtrockensubstanz ausgedrückt. Es ergeben sich folgende Zahlen:

	Wasser- u. fettfreie Fleischrockensubstanz	Gesamtstickstoff im Fleisch	Proz.
Grundfuttertier 5 . . .	5384,6	658,7	12,2
"    9 . . .	3091,6	420,7	13,6
"    2 . . .	7031,1	1003,8	14,3
"    10 . . .	6387,2	948,7	14,9
Glykokolltier 1 . . . .	5789,4	902,7	15,6
"    6 . . . .	7575,8	1121,6	14,6
Grundfuttertier 8 . . .	5359,9	801,4	15,0
Ammonacetattier 7 . .	4980,4	832,2	16,3
Grundfuttertier 4 . . .	8365,5	1268,6	15,2
Ammonacetattier 3 . .	8137,9	1544,8	19,0

Der prozentuale Stickstoffgehalt der reinen Fleischrockensubstanz ist in der Glykokollperiode etwas angestiegen gegenüber dem Stickstoffgehalt der beiden zuerst geschlachteten Grundfuttertiere 5 und 9. Mit Ausnahme von Schwein 1, dessen Ergebnis als nicht ganz sicher angesprochen werden kann, ist bei allen Tieren dieser zweiten Periode eine gute Übereinstimmung erzielt. Ein wesentlicher Unterschied besteht zwischen den beiden Tiergruppen der Ammonacetatperiode insofern, als die Fleischrockensubstanz der Ammonacetattiere bedeutend stickstoffreicher ist als die der Grundfuttertiere.

Das Ausgangsmaterial bilden Schwein 5 und 9. Die am Ende der Glykokollperiode geschlachteten Schweine 2, 10, 1 und 6 werden mit 5 und 9 in den Tabellen XX und XXI verglichen und der Durchschnitt der Resultate gezogen.

Die Schweine der Ammonacetatperiode 7, 8, 3 und 4 werden mit dem Durchschnitt der als Grundlage für diese Periode dienenden Schweine 2, 10 und 1 und 6 in den Tabellen XXII und XXIII verglichen, ferner 4 und 3 mit den in derselben Periode, aber vorzeitig geschlachteten Schweinen 7 und 8. Die Tabelle XXIV ist nur der Vollständigkeit halber angefertigt, hat aber bei der Unsicherheit der Ergebnisse von Schwein 7 und 8 keine große Bedeutung.

Es war bei dem Vergleich der in der Ammonacetatperiode gemästeten Tiere zu überlegen, ob für die Ersatzfuttertiere nur auch wieder die Ersatzfuttertiere der Glykokollperiode, für die Grundfuttertiere dementsprechend nur die Körperzusammensetzung der in Periode II geschlachteten Grundfuttertiere (2 und 10) als Ausgangsmaterial gewählt werden sollten, oder ob die Tiere 7, 8, 3 und 4 sowohl mit den Grundfuttertieren wie mit den Ersatzfuttertieren bzw. deren Durchschnitt verglichen werden sollten.

Die Tabellen werden insofern beiden Auffassungen gerecht, als die mit „Zunahme a“ bezeichnete Zahlenreihe das Mehr gegenüber dem Durchschnitt der Grundfuttertiere, die mit „Zunahme b“ bezeichnete

Zahlenreihe das Mehr gegenüber den Ersatzfuttermitteln angibt. In der Zusammenstellung der Ergebnisse (Tabelle XXV) ist von mir der Übersichtlichkeit wegen die durchschnittliche Zunahme von a und b verwandt worden.

Bei Schwein 4 ist ein anderer Vergleichsweg besprochen worden, auf den ich im folgenden einzugehen habe.

Schwein 4 ist während des ganzen Versuchs 110 Tage lang mit demselben Grundfutter gemästet worden. Da die Fleischbildung und damit auch der Stickstoffansatz mit zunehmendem Alter und Körpergewicht allmählich abnimmt, so wäre der Stickstoffansatz, nur auf die Dauer der Ammonacetatperiode berechnet, zu niedrig in Ansatz gekommen. Es wäre der Stickstoff, den das Tier bei gleichem Futter schon im Verlauf der Periode II und III angesetzt hat, unberücksichtigt geblieben. Es ist daher das Schwein 4 in der Tabelle XXIII mit den zu Anfang geschlachteten Schweinen 5 und 9 verglichen, und somit ist erreicht worden, daß dadurch der gesamte Stickstoff- und Fettansatz, den das Grundfutter bewirkt hat, eine einwandfreie Unterlage für die in Frage kommenden Tabellen bildet.

Die Berechnung der Zahlen ist nach folgendem Muster ausgeführt worden (vgl. Tabelle XX).

Zugrunde gelegt sind die jeweiligen Schlachtergebnisse der Ausgangstiere, in diesem Falle von Schwein 5 und 9. Das Lebendgewicht von Schwein 2 betrug am Schlachttage 70500 g. Demnach war die Körperzusammensetzung von Schwein 2 an dem Schlachttage von Schwein 5 und 9 mit Hilfe einer einfachen Gleichung zu berechnen.

Lebendgewicht Schwein 5 : Lebendgewicht Schwein 2 = den beiden Hälften Schwein 5 : den beiden Hälften Schwein 2 ( $x$ ) oder

$$76725 : 70500 = 61605 : x$$

$$x = 56606.$$

Auf diese Weise sind sämtliche Zahlen, welche die unbekanntes Anfangszusammensetzung der Tiere angeben, errechnet worden.

Nach der angegebenen Berechnungsmethode erhält man für jedes Tier zwei verschiedene Körperzusammensetzungen. Die absolute Zunahme während der Mast wird nun aus der Differenz des jeweiligen Schlachtergebnisses und der errechneten Körperzusammensetzungen bei Beginn der Mastperiode berechnet. Aus den beiden Zunahmereihen a und b wird dann der Durchschnitt gezogen. Zur Erleichterung der Übersicht sind die durchschnittlichen Ergebnisse der Tabellen XX bis XXIV noch einmal in Tabelle XXV zusammengestellt. In den letzten beiden Spalten ist die tägliche Zunahme an Stickstoff und Ätherextrakt, die aus den Schlachtergebnissen hergeleitet ist, angegeben.

Wie bereits bei Besprechung der Stickstoffbilanz angedeutet, geht auch hier aus diesen Zahlen mit großer Deutlichkeit hervor, daß das Glykokoll sowie das Ammonacetat wohl das Eiweiß des Fischfutturmehls ersetzt haben, daß wir also auch hier von einer eingangs erwähnten eiweißersetzenden oder eiweißsparenden Wirkung der synthetischen Stickstoffsalze bei wachsenden Schweinen sprechen können.

Die tägliche Stickstoffzunahme bei Schwein 1 ist infolge der oben erwähnten Störungen im Gesundheitszustand nicht so hoch, wie sie bei einem gesunden Tiere hätte sein müssen. Trotzdem können meines Erachtens die Ergebnisse dieses Tieres nicht ganz unberücksichtigt bleiben. Es würde sich der tägliche Stickstoffansatz dementsprechend erhöhen. Somit würde auf eine volle Ersatzfähigkeit des Glykokolls hinsichtlich des Stickstoffansatzes zu schließen sein.

Betreffs des Fettansatzes ist das Glykokoll fast ohne Wirkung geblieben. Hier haben die Grundfuttertiere mehr als das Dreifache, und bei völliger Ausschaltung von Schwein 1 noch mehr als das Doppelte an Fett angesetzt. Das Glykokoll hat also hemmend gewirkt, was um so bedeutsamer ist, als der Stärkewert sowohl beim Grundfutter wie beim Ersatzfutter stets der gleiche war.

Die beiden Schweine 7 und 8 sind begreiflicherweise nicht in diese Betrachtung einbezogen worden, trotzdem auch deren Ergebnisse die große Überlegenheit des Grundfutters über das Ersatzfutter zum Ausdruck zu bringen scheinen.

Die Resultate der Schweine 3 und 4 endlich zeigen offensichtlich, daß auch das Ammonacetat imstande war, das fehlende Futtereiweiß des Grundfutters voll und ganz zu ersetzen, daß es aber für die Bildung von Körperfett keineswegs in Betracht kommt. Es ist sogar anzunehmen, daß der geringe Überschuß von 407 g Fett nicht in der Ammonacetatperiode, sondern in der Grundfutterschlußperiode gebildet worden ist. Mag auch immerhin bei den letzten beiden Tieren die individuelle Veranlagung, auf die wegen des Fehlens von Paralleltieren wenigstens hingewiesen werden muß, bis zu einem gewissen Grade eine Rolle spielen, so ist diese ganz ohne Zweifel nicht imstande, einen derartig gewaltigen Unterschied im Fettansatz auch nur annähernd zu erklären. Zur Erhärtung dieser Auffassung ist folgende Tatsache anzuführen:

Während die Zunahme des Grundfuttertieres 4 in den Perioden IV und V ziemlich gleichmäßig geblieben ist, hat Schwein 3 in der Ammonacetatperiode 371,9 g, dagegen in der nur 11tägigen Grundfutterschlußperiode 444,4 g täglich an Gewicht zugenommen. Es sind also bei demselben Tiere im Durchschnitt je Tag mit Grundfutter 72,5 g Mehrzunahme zu verzeichnen gewesen. Diese Zahlen gewinnen noch

an Bedeutung, wenn man berücksichtigt, daß die Ammonacetatperiode 42 Tage, die Grundfutterschlußperiode dagegen, in welche die Umstellung des Tierkörpers auf das veränderte Futter fällt, nur 11 Tage gedauert hat.

In Tabelle XXVI schließlich sind die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen und der Schlachtergebnisse einander gegenübergestellt worden. Hierbei haben sich Unterschiede ergeben, die ohne weiteres aus dem vorliegenden Versuche nicht erklärt werden können.

*Friske*<sup>1)</sup> hat in seinen Studien über den Stickstoffansatz ausgewachsener Hammel Ergebnisse erzielt, die sich prozentual zum Teil in noch weiteren Grenzen bewegen.

Stickstoff verfügbar zur Produktion von Körpersubstanz pro Tag u. Stück.

	Hammel: 3	4	5	6
	g	g	g	g
Nach der Stickstoffbilanz . . . .	3,85	3,52	3,17	3,79
Nach dem Schlachtversuch . . . .	1,19	1,19	1,58	1,65

Wenn auch vielleicht ein kleiner Teil der Differenzen bei vorliegendem Versuch durch Kot- und Harnverluste seine Erklärung finden dürfte, ferner dadurch, daß die Knochen und inneren Organe einer chemischen Analyse auf Stickstoff nicht unterworfen worden sind, also auch nicht berücksichtigt sind, so bleibt doch noch ein sehr großer Unterschied bestehen, den zu klären diesbezüglichen späteren Versuchen überlassen werden muß.

*Scheunert*<sup>2)</sup> kommt auf Grund von Respirationsversuchen mit zweijährigen Hammeln zu folgendem Ergebnis:

Die positiven N-Bilanzen, die bei der Harnstoffütterung regelmäßig auftreten, beruhen nicht auf N-Retentionen, sondern werden dadurch vorgetäuscht, daß der in den Ausscheidungen fehlende N durch die Haut ausgeschieden wird.

Im Hinblick auf dieses vorläufig noch einzig dastehende Ergebnis kann ich mich nicht dazu entschließen, zur Erklärung der Differenzen im vorliegenden Versuch eine Stickstoffausscheidung durch die Haut anzunehmen, zumal nach dem heutigen Stande der ausgedehnten Forschungen auf diesem Gebiet ein Entweichen elementaren Stickstoffs aus dem Tierkörper noch allgemein bestritten werden muß.

Eine Übereinstimmung findet sich bei den Zahlen der Tabelle XXVI nur insofern, als den nach der Stickstoffbilanz errechneten höheren Zahlen auch eine höhere Körpergewichtszunahme je Tag entspricht.

<sup>1)</sup> Landw. Versuchsst. 71, 482, 1909.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 183, 137, 1922.



*Tabelle I.*  
Trockensubstanzgehalt der Futtermittel.

Futtermittel	Grundfütteranfangsperiode für Schweine 1 bis 10		Glykokollperiode		Grundfütterzwischenperiode für Schweine 3, 4, 7, 8		Ammonacetatperiode		Grundfütter-schlußperiode für Schweine 3 und 4			
	Proz.	g	Glykokolltiere 1, 3, 6, 7	Proz.	g	Proz.	g	Ammonacetat-tiere 3 und 7	Proz.	g	Proz.	g
300 g Fischfuttermehl . . .	85,0	254,9	142,7	85,0	254,9	85,0	254,9	149,2	88,8	266,4	88,8	266,4
150 g Gerstensschrot . . .	90,5	135,7	135,7	90,5	135,7	90,5	135,7	138,0	92,0	138,0	92,0	138,0
1750 g Kartoffelflocken . . .	87,5	1530,4	1617,8	87,5	1530,4	87,5	1530,4	1737,9	93,9	1644,0	93,9	1644,0
50 g Trockenhefe . . . . .	89,9	44,9	44,9	89,9	44,9	89,9	44,9	46,3	92,6	46,3	92,6	46,3

*Tabelle II.*  
Prozentuale Zusammensetzung der Futtermittel in der Grundfütteranfangs-, der Glykokoll- und der Grundfütterzwischenperiode.

Futtermittel	Kartoffel-flocken	Fisch-futtermehl	Gersten-schrot	Trocken-hefe	Glykokoll	Rohprotein	Stickstofffreie Extraktstoffe	Ätherextrakt	Rohfaser	Mineralstoffe	Kartoffel-flocken	Fisch-futtermehl	Gersten-schrot	Trocken-hefe	Ammon-acetat
	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.
300 g Fischfuttermehl . . .	7,6	69,7	10,7	46,9	116,0	7,4	70,9	10,4	41,1	63,5	7,4	70,9	10,4	41,1	63,5
150 g Gerstensschrot . . .	83,9	5,8	79,4	40,4	—	84,6	5,7	79,8	46,6	—	84,6	5,7	79,8	46,6	—
1750 g Kartoffelflocken . . .	0,3	1,2	2,5	2,9	—	0,3	1,1	2,5	2,8	—	0,3	1,1	2,5	2,8	—
50 g Trockenhefe . . . . .	3,0	—	4,5	0,2	—	2,8	—	4,5	0,2	—	2,8	—	4,5	0,2	—
	5,2	23,3	2,9	9,6	—	4,9	22,3	2,8	9,3	—	4,9	22,3	2,8	9,3	—
Gesamtstickstoff . . . . .	1,2	11,2	1,7	7,5	18,6	1,2	11,3	1,7	6,6	10,2	1,2	11,3	1,7	6,6	10,2
Eiweiß . . . . .	5,2	60,7	9,6	38,7	—	5,6	52,6	10,4	37,6	—	5,6	52,6	10,4	37,6	—

Tabelle III. Zusammensetzung der Futterrationen.

	Kartoffel- flocken	Fisch- futtermehl	Gersten- schrot	Trocken- hefe	Kartoffel- flocken	Fisch- futtermehl	Gersten- schrot	Trocken- hefe	Glyko- koll
A. 1. in der Grundfutteranfangsperiode für alle Schweine. 2. in der Glykokollperiode für Grundfüttertiere 2 und 10. 3. in der Grundfütterzwischenperiode für alle Schweine.					in der Glykokollperiode für Glykokolltiere 1 und 6.				
Rohprotein . .	115,5	177,8	14,5	21,1	122,1	99,6	14,5	21,1	78,9
Stickstofffreie Extraktstoffe	1283,4	14,7	107,7	18,1	1356,7	8,2	107,7	18,1	—
Ätherextrakt .	5,2	3,0	3,4	1,3	5,5	1,7	3,4	1,3	—
Rohfaser . . .	46,2	—	6,2	0,1	48,9	—	6,2	0,1	—
Mineralstoffe .	80,1	59,3	3,9	4,3	84,6	33,2	3,9	4,3	—
	1530,4	254,8	135,7	44,9	1617,8	142,7	135,7	44,9	—
Gesamtstickst.	18,4	28,4	2,3	3,4	19,4	15,9	2,3	3,4	12,6
Eiweiß . . . .	80,0	154,7	13,0	17,4	84,7	86,6	13,0	17,4	—
B. 4. in der Ammonacetatperiode für Grundfüttertiere 4 und 8. 5. in der Grundfütterabschlussperiode für Grundfüttertiere 3 u. 4.					in der Ammonacetatperiode für Ammonacetattiere 3 und 7.				
Rohprotein . .	121,2	188,9	14,3	19,0	128,1	105,8	14,3	19,0	83,8
Stickstofffreie Extraktstoffe	1391,4	15,2	110,2	21,6	1470,9	8,5	110,2	21,6	—
Ätherextrakt .	5,3	3,0	3,4	1,3	5,6	1,7	3,4	1,3	—
Rohfaser . . .	46,2	—	6,2	0,1	48,8	—	6,2	0,1	—
Mineralstoffe .	79,9	59,3	3,9	4,3	84,5	33,2	3,9	4,3	—
	1644,0	266,4	138,0	46,3	1737,9	149,2	138,0	46,3	—
Gesamtstickst.	19,4	30,2	2,3	3,1	20,5	16,9	2,3	3,1	13,4
Eiweiß . . . .	91,6	140,0	14,3	17,4	96,8	78,4	14,3	17,4	—

Tabelle IV. Kotproduktion in der Glykokollperiode.

Datum	Glykokolltier 1		Glykokolltier 3		Grundfütter- tier 2		Glykokolltier 7		Glykokolltier 6		Grundfütter- tier 8	
	frisch	luft- trocken	frisch	luft- trocken	frisch	luft- trocken	frisch	luft- trocken	frisch	luft- trocken	frisch	luft- trocken
1925	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
27. I.	280,3	64,1			510,2	101,3	422,3	75,7			396,0	96,2
30. I.	330,4	70,0			490,2	118,7	530,4	99,0			540,5	148,2
3. II.	372,1	88,0			460,4	92,1	412,3	72,8			376,2	84,1
6. II.	340,1	72,0			650,6	133,0	750,5	137,2			670,3	172,8
10. II.	160,6	36,4			700,1	125,4	550,4	102,0			750,5	165,6
13. II.	280,9	64,5			700,4	112,3			670,1	126,0	720,4	165,4
17. II.			480,2	132,6	470,2	116,6			250,3	48,4	370,1	92,3
20. II.			710,7	180,2	920,8	176,7			500,8	89,1	490,8	140,4
24. II.			580,6	176,1	470,9	108,2			331,0	69,2	670,2	172,0
25. II.			650,1	188,0	770,5	160,1			800,5	172,2	620,8	155,4
26. II.			480,3	132,2	1170,4	212,1			550,7	112,2	570,9	154,2
3. III.			400,8	152,2	400,7	84,2			370,3	72,1	730,5	192,2
4. III.			600,3	160,3	520,0	104,2			400,2	96,1	740,1	180,2
10. III.			181,0	48,9	870,7	148,3			251,0	64,0	670,5	204,1
Mittel	294,1	65,9	510,5	146,3	650,4	128,1	533,2	97,3	458,3	94,4	594,1	151,6
Absolut trocken	—	63,3	—	141,7	—	124,3	—	95,0	—	91,9	—	149,0

Tabelle V.

A.

Kotproduktion in der Ammonacetatperiode.

Datum 1925	Ammonacetattier 3		Grundfuttertier 4	
	frisch g	lufttrocken g	frisch g	lufttrocken g
26. III.	600,6	152,2	790,3	230,0
27. III.	130,5	34,9	191,0	48,5
31. III.	—	—	160,4	48,0
1. IV.	110,6	38,2	—	—
8. IV.	—	—	—	—
9. IV.	120,6	28,3	90,4	42,1
16. IV.	550,3	114,1	—	—
17. IV.	610,1	144,1	—	—
18. IV.	40,9	17,0	711,0	252,8
21. IV.	630,3	162,2	—	—
22. IV.	310,8	76,6	—	—
23. IV.	—	—	871,0	342,0
24. IV.	—	—	90,9	31,4
25. IV.	—	—	160,5	40,9
26. IV.	—	—	860,7	283,6
Mittel:	282,2	69,8	261,7	88,0
Absolut trocken:	—	67,2	—	84,9

B.

Kotproduktion in der Grundfutterschlußperiode.

Datum 1925	Grundfuttertier 3		Grundfuttertier 4	
	frisch g	lufttrocken g	frisch g	lufttrocken g
1. V.	390,0	126,8	—	—
2. V.	510,1	164,0	341,0	116,0
6. V.	590,9	152,9	—	—
Mittel:	497,0	147,9	113,7	38,7
Absolut trocken:	—	139,5	—	36,9 (84,9)



*Tabelle VIII.*  
Verdaute Nährstoffmengen in der Glykokollperiode.

Verdaut	Glykokolltiter 1		Glykokolltiter 3		Grundfuttertier 2		Glykokolltiter 7		Glykokolltiter 6		Grundfuttertier 8	
	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.
Rohprotein . . . . .	319,0	94,9	297,4	88,5	291,5	88,6	306,5	91,2	310,7	92,4	286,4	87,1
Stickstofffreie Extraktstoffe . . . . .	1470,4	98,6	1448,8	97,2	1389,4	97,6	1460,4	98,0	1462,7	98,1	1386,2	97,4
Ätherextrakt . . . . .	7,3	61,5	1,7	13,9	6,6	50,9	5,6	46,9	4,9	41,0	1,8	13,6
Rohfaser . . . . .	51,4	93,2	39,1	70,9	43,9	83,7	49,8	90,2	47,6	86,3	42,9	81,8
Mineralstoffe . . . . .	108,6	86,1	91,4	72,5	110,1	74,6	102,8	81,6	102,3	81,1	99,6	67,5
Verdaunungskoeffizient	1956,7	—	1878,4	—	1841,5	—	1925,1	—	1928,2	—	1816,9	—
Gesamtstickstoff . . . . .	—	96,9	—	93,0	—	93,7	—	95,3	—	95,5	—	92,4
Eiweiß . . . . .	187,0	92,8	171,0	84,8	234,2	88,3	175,4	87,0	179,8	89,2	228,1	86,1

*Tabelle IX.*

Verdaute Nährstoffmengen in der Ammonacetatperiode in der Grundfutterschlußperiode.

Verdaut	Ammonacetattier 3		Grundfuttertier 4		Grundfuttertier 3		Grundfuttertier 4	
	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.
Rohprotein . . . . .	334,4	95,3	320,8	93,4	303,2	88,3	321,3	93,6
Stickstofffreie Extraktstoffe . . . . .	1592,6	98,9	1517,3	98,6	1502,3	97,7	1516,0	98,6
Ätherextrakt . . . . .	6,7	55,7	6,9	53,2	3,4	26,3	7,2	55,3
Rohfaser . . . . .	45,3	82,2	45,9	87,5	42,0	80,0	46,0	87,7
Mineralstoffe . . . . .	109,0	86,6	118,9	80,6	104,3	70,7	119,3	80,9
Verdaunungskoeffizient	2088,0	—	2009,8	—	1955,2	—	2009,8	—
Gesamtstickstoff . . . . .	—	96,9	—	95,9	—	93,3	—	96,0
Eiweiß . . . . .	193,1	93,3	245,5	93,2	231,0	87,7	244,7	92,9

Tabelle X.  
Harnproduktion und Stickstoffausscheidung in der Glykokollperiode.

Datum 1925	Glykokolltier 1			Glykokolltier 2			Glykokolltier 3			Grundfuttertier 2			Glykokolltier 7			Glykokolltier 6			Grundfuttertier 8		
	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.	Harn ccm	Stick- stoff g	Proz.
27. I.	3420	15,8	0,46	5008	23,2	0,46	4902	24,5	0,50	4610	22,0	0,48	4610	22,0	0,48	4360	21,6	0,50	5512	23,0	0,42
30. I.	5010	22,0	0,44	5550	26,4	0,48	5720	28,4	0,50	5822	24,4	0,36	5822	24,4	0,36	6160	29,3	0,48	4850	20,7	0,43
3. II.	4801	23,8	0,50	5314	22,2	0,42	5807	31,0	0,53	6000	31,1	0,52	6000	31,1	0,52	6160	29,3	0,48	5210	21,8	0,42
6. II.	4830	23,6	0,49	5630	25,0	0,44	5709	27,0	0,47	5460	24,0	0,44	6000	31,1	0,52	4215	18,7	0,44	4850	20,7	0,43
10. II.	3102	15,5	0,50	5809	20,9	0,36	6000	31,1	0,52	4611	20,6	0,45				6822	24,4	0,36	5506	22,4	0,41
13. II.	3500	16,5	0,47	5460	24,0	0,44				3021	12,2	0,40				6160	29,3	0,48	3610	18,8	0,52
17. II.				4611	20,6	0,45				5210	24,2	0,46				4002	19,3	0,48	2890	9,7	0,34
20. II.				3840	15,8	0,41				4040	22,1	0,55				4520	20,2	0,45	3890	16,5	0,43
24. II.				4318	26,6	0,62				5510	29,4	0,53				4002	19,3	0,48	2890	9,7	0,34
25. II.				3590	18,5	0,52				5590	26,3	0,47				4520	20,2	0,45	4500	21,2	0,47
26. II.				5490	21,2	0,39				5030	22,7	0,45				5800	28,9	0,50	4800	22,1	0,46
3. III.				4980	24,5	0,49				5300	31,5	0,60				5270	29,5	0,56	5870	29,4	0,50
4. III.				5810	28,6	0,49				5300	31,5	0,60				6802	33,0	0,49	4910	21,0	0,43
10. III.				5100	24,8	0,49				5100	24,8	0,49				5306	24,7	0,47	4570	21,4	0,47
Mittel	4111	19,5	0,48	4850	24,6	0,50	5036	23,0	0,46	5628	28,4	0,50	5433	25,3	0,47	4649	20,8	0,45			

*Tabelle XI.*  
Harnproduktion und Stickstoffausscheidung in der Ammonacetatperiode.

Datum 1925	Ammonacetattier 3			Grundfuttertier 4		
	Harn ccm	Stickstoff g	Proz.	Harn ccm	Stickstoff g	Proz.
26. III.	8080	36,0	0,45	8060	34,7	0,43
27. III.	5090	26,6	0,52	4370	26,8	0,61
31. III.	6560	30,8	0,47	4890	22,7	0,46
1. IV.	5310	26,3	0,50	5040	23,7	0,47
8. IV.	3650	20,0	0,55	4800	22,9	0,48
9. IV.	8030	46,3	0,58	7080	40,8	0,58
16. IV.	5020	28,8	0,57	2290	12,8	0,56
17. IV.	6540	28,4	0,43	4590	24,7	0,54
18. IV.	4060	16,1	0,40	5040	27,0	0,54
21. IV.	5460	22,7	0,42	2790	13,2	0,47
22. IV.	4580	27,9	0,61	5410	27,8	0,51
23. IV.	—	—	—	8020	45,7	0,57
24. IV.	—	—	—	4980	28,8	0,58
25. IV.	—	—	—	6125	28,8	0,47
26. IV.	—	—	—	5120	22,1	0,43
Mittel	5671	28,2	0,50	5240	26,8	0,51

Harnproduktion u. Stickstoffausscheidung in der Grundfutterschlußperiode.

Datum 1925	Grundfuttertier 3			Grundfuttertier 4		
	Harn ccm	Stickstoff g	Proz.	Harn ccm	Stickstoff g	Proz.
1. V.	6015	27,1	0,45	5025	26,0	0,52
2. V.	7030	25,5	0,36	4095	20,1	0,49
6. V.	3555	13,3	0,37	2595	13,6	0,52
Mittel	5533	22,0	0,39	3905	19,9	0,51

*Tabelle XII.* Stickstoffbilanzen.

a) In der Glykokollperiode.

	Glyko- kolltier 1 Ges.-N in g	Glyko- kolltier 3 Ges.-N in g	Grund- futtertier 2 Ges.-N in g	Glyko- kolltier 7 Ges.-N in g	Glyko- kolltier 6 Ges.-N in g	Grund- futtertier 8 Ges.-N in g
Im Futter . . . . .	53,6	53,6	52,5	53,6	53,6	52,5
Im Kot . . . . .	2,7	6,2	6,0	4,7	4,0	6,8
Verdaut: . . . . .	50,9	47,4	46,5	48,9	49,6	45,7
Zersetzt . . . . .	19,5	24,6	23,0	28,4	25,3	20,8
Zur Produktion verfügbar: . .	31,4	22,8	23,5	20,5	24,3	24,9
Tgl. durchschn. Körpergew.-Zun.	137,2	425,6	544,2	395,3	530,2	541,9

b) In d. Ammonacetatperiode.

c) In d. Grundf.-Schlußperiode.

	Glykokoll- tier 3 Gesamt-N in g	Grundfutter- tier 4 Gesamt-N in g	Grundfutter- tier 3 Gesamt-N in g	Grundfutter- tier 4 Gesamt-N in g
Im Futter . . . . .	56,2	54,9	54,9	54,9
Im Kot . . . . .	2,7	3,6	6,4	3,5
Verdaut: . . . . .	53,5	51,3	48,5	51,4
Zersetzt . . . . .	28,1	26,8	22,0	26,8
Zur Produktion verfügbar: . .	25,4	24,5	26,5	24,6
Tgl. durchschn. Körpergew.-Zun.	371,9	347,6	444,4	333,3

## Zusammensetzung der Futtermittel

A. Nach den *Kellnersche*

- a) Für Grundfuttertiere 2 und 10 in der Glykokollperiode.  
 b) " " 4 und 8 in der Ammonacetatperiode.  
 c) " " 4 in der Grundfutterschlußperiode.  
 d) " " 3 in der Grundfutterschlußperiode.

	Rohprotein g	N-freie Extraktstoffe g	Ather- extrakt g	Rohfaser g	Eiweiß g	Stärke- wert g
1750 g Kartoffelflocken . . . . .	84,0	1225,0	—	5,2	63,0	1289,0
300 g Fischfuttermehl . . . . .	141,9	—	4,8	—	130,8	132,0
150 g Gerstenschrot . . . . .	13,2	85,0	3,2	1,7	12,0	101,8
50 g Trockenhefe . . . . .	23,9	12,0	1,1	—	21,1	34,0
Je Tag und Stück in g . . . . .	263,0	1322,0	9,1	6,9	226,9	1557,4
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg *)	3,9	19,5	0,1	0,1	3,3	22,9

Eiweißverhältnis 1 : 5,946.

## B. Von den

- a) Im Mittel der beiden Grundfuttertiere 2 und 10 in der Glykokollperiode verdaulich  
 Je Tag und Stück in g . . . . . || 288,9 | 1387,8 | 4,2 | 41,0 | 231,1 | 1654,1  
 Je 1000 kg Lebendgewicht in kg || 4,3 | 20,4 | 0,1 | 0,6 | 3,4 | 24,4

Eiweißverhältnis 1 : 6,2.

- b) Im Mittel der beiden Grundfuttertiere 4 u. 8 in der Ammonacetatperiode verdaulich  
 Je Tag und Stück in g . . . . . || 320,8 | 1517,3 | 6,9 | 45,9 | 245,5 | 1807,4  
 Je 1000 kg Lebendgewicht in kg || 4,7 | 22,4 | 0,1 | 0,7 | 3,6 | 26,6

Eiweißverhältnis 1 : 6,4.

- c) Von Grundfuttertier 4 in der Grundfutterschlußperiode verdaulich:

Je Tag und Stück in g . . . . .	321,4	1516,0	7,2	46,0	244,7	1805,9
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg	4,7	22,3	0,1	0,7	3,6	26,6

Eiweißverhältnis 1 : 6,4.

- d) Von Grundfuttertier 3 in der Grundfutterschlußperiode verdaulich:

Je Tag und Stück in g . . . . .	303,2	1502,3	3,4	42,0	231,0	1767,9
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg	4,5	22,1	0,1	0,6	3,4	26,0

Eiweißverhältnis 1 : 6,7.

\*) Nach dem Durchschnittsgewicht der ersten beiden Schlachttiere 5 und 9 (67,9 kg) berechnet.

## Zusammensetzung

	Lebendgewicht vor dem Schlachten g	Herz, Leber, Lunge, Nieren g	Magen, Gedärme g
Grundfuttertier 5 . . . . .	76 725	3195	5310
" 9 . . . . .	58 900	3345	4180
" 2 . . . . .	95 100	3600	7570
" 10 . . . . .	99 000	3660	9360
Glykokolltier 1 . . . . .	80 600	3350	6150
" 6 . . . . .	101 500	3620	7210
Grundfuttertier 8 . . . . .	89 500	3850	7400
Ammonacetattier 7 . . . . .	79 900	3400	4950
Grundfuttertier 4 . . . . .	122 800	4240	7810
Ammonacetattier 3 . . . . .	119 000	4820	8240



## VIII.

## Verdauliche Nährstoffe.

## Mittelzahlen berechnet.

- a) für Glykokolltiere 1 und 6 in der Glykokollperiode.  
b) für Ammonacetattiere 3 und 7 in der Ammonacetatperiode.

	Rohprotein g	N-freie Extrakt- stoffe g	Ather- extrakt g	Rohfaser g	Eiweiß g	Stärke- wert g
1850 g Kartoffelflocken . . . . .	88,8	1295,0	—	5,5	66,0	1363,4
168 g Fischfuttermehl . . . . .	79,5	—	2,7	—	73,3	73,9
150 g Gerstenschrot . . . . .	13,2	85,0	3,1	1,7	12,0	101,9
50 g Trockenhefe . . . . .	23,8	12,0	1,1	—	21,1	34,1
Je Tag und Stück in g . . . . .	205,3	1392,0	6,9	7,2	172,4	1573,3
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg	3,0	20,5	0,1	0,1	2,5	23,2

Eiweißverhältnis 1 : 8,2.

## Nieren verdaut.

- a) Im Mittel der beiden Glykokolltiere 1 und 6 in der Glykokollperiode verdaut:

Je Tag und Stück in g . . . . .	304,1	1455,8	3,3	43,4	175,4	1667,9
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg	4,5	21,4	0,1	0,6	2,6	24,6

Eiweißverhältnis 1 : 8,6.

- b) Im Mittel der beiden Ammonacetattiere 3 u. 7 in d. Ammonacetatperiode verdaut:

Je Tag und Stück in g . . . . .	334,4	1592,7	6,7	45,3	193,1	1832,2
Je 1000 kg Lebendgewicht in kg	4,9	23,5	0,1	0,7	2,8	27,0

Eiweißverhältnis 1 : 8,6.

## IV.

## des Tierkörpers.

Die beiden Hälften (warm) g	Gesamtblut g	Gehirn, Milz, Blase, Nabel bzw. Gebärmutter g	Borsten mit Ober- haut g	Verlust beim Schlachten g
63 560	2340	450	960	910
47 200	2095	315	810	755
77 800	3250	800	1070	1010
79 950	3390	420	1190	1030
66 400	2290	430	1010	970
83 550	3964	950	1180	1026
72 600	2910	510	1100	1130
66 500	2594	290	1060	1106
104 600	2954	750	1300	1146
98 800	4190	640	1200	1110

Tabelle XV.

Ergebnisse des Präparierens und der Zusammensetzung des Analysenfleisches, des Analysenfettes, der Analysensehnen und der Analysenschwarte (bezogen auf die beiden Hälften).

	Die beiden Hälften (kalt)	Abpräpariertes Fleisch	Abpräpariertes Fett	Abpräparierte Sehnen	Abpräparierte Schwarte
	g	g	g	g	g
Grundfutterm tier 5 . . .	61 605	23 391,9	23 931,9	3 620,3	3 930,3
" 9 . . .	45 600	14 583,8	18 332,0	3 697,2	3 717,7
" 2 . . .	75 450	29 996,1	26 164,9	8 061,7	4 629,8
" 10 . . .	78 850	28 963,2	33 959,6	4 135,7	5 220,8
Glykokoll tier 1 . . .	65 400	27 951,9	19 825,8	5 414,2	4 944,2
" 6 . . .	81 900	34 730,6	27 979,6	6 105,0	4 366,5
Grundfutterm tier 8 . . .	71 400	25 737,7	28 859,0	3 400,5	6 013,1
Ammonacetattier 7 . . .	65 300	25 385,3	25 475,5	3 542,4	4 426,9
Grundfutterm tier 4 . . .	104 200	39 169,6	41 197,8	6 205,8	6 993,2
Ammonacetattier 3 . . .	97 800	45 577,5	27 955,2	5 883,1	6 612,7

	Analysenfleisch hat			Analysenfett hat		
	Fleisch-trocken-substanz	Ather-extrakt	Wasser	Fleisch-trocken-substanz	Ather-extrakt	Wasser
	g	g	g	g	g	g
Grundfutterm tier 5 . . .	7 241,9	1 857,3	16 150,0	20 681,2	19 875,7	3 250,7
" 9 . . .	4 231,3	1 139,7	10 352,5	15 708,3	14 604,7	2 623,7
" 2 . . .	8 767,2	1 736,2	21 228,8	23 592,6	22 496,1	2 572,3
" 10 . . .	8 229,0	1 841,8	20 734,2	30 498,4	29 761,8	3 461,2
Glykokoll tier 1 . . .	8 445,4	2 656,0	19 506,5	17 788,7	16 784,3	2 037,1
" 6 . . .	10 197,3	2 621,5	24 533,3	24 953,9	23 924,5	3 025,7
Grundfutterm tier 8 . . .	8 036,6	2 676,7	17 701,1	26 193,9	24 552,9	2 665,1
Ammonacetattier 7 . . .	8 511,2	3 530,8	16 874,1	22 908,1	22 307,4	2 567,4
Grundfutterm tier 4 . . .	12 931,1	4 565,6	26 238,5	37 005,1	36 801,2	4 192,7
Ammonacetattier 3 . . .	13 067,1	4 929,2	32 510,4	24 421,1	21 402,5	3 534,1

	Analysensehnen haben			Analysenschwarte hat		
	Fleisch-trocken-substanz	Ather-extrakt	Wasser	Fleisch-trocken-substanz	Ather-extrakt	Wasser
	g	g	g	g	g	g
Grundfutterm tier 5 . . .	2 047,2	1 385,6	1 573,1	1 767,2	764,6	2 163,1
" 9 . . .	1 742,8	1 680,6	1 954,4	1 912,6	1 062,5	1 805,1
" 2 . . .	5 571,6	4 022,7	2 490,1	2 541,8	1 236,5	2 088,0
" 10 . . .	2 412,6	1 754,9	1 723,1	2 747,8	1 413,9	2 473,0
Glykokoll tier 1 . . .	3 600,1	2 806,3	1 814,1	2 602,8	1 217,3	2 341,4
" 6 . . .	3 434,1	1 927,0	2 670,9	2 529,2	1 060,9	1 837,3
Grundfutterm tier 8 . . .	2 172,2	1 672,3	1 228,3	3 610,9	2 186,3	2 402,2
Ammonacetattier 7 . . .	2 056,5	1 420,3	1 485,9	2 670,3	1 646,0	1 756,6
Grundfutterm tier 4 . . .	3 625,2	2 825,3	2 580,6	3 663,0	1 589,8	3 330,2
Ammonacetattier 3 . . .	3 606,5	2 559,7	2 276,6	3 317,9	1 906,8	3 294,8

Tabelle XVI.

Gesamtgehalt der beiden Hälften an Fleischrockensubstanz, Ätherextrakt, Wasser, Gesamtstickstoff, Eiweißstickstoff (ausschl. Fett und Schwarte).

	Die beiden	Fleisch-	Äther-	Wasser	Gesamt-	Eiweiß-	Eiweißstick-
	Hälften	sub-	extrakt		stickstoff	stickstoff	stoff in Proz.
	g	stanz v.	g	g	g	g	des Gesamt-
		Fleisch und	g				stickstoffs
		Sehnen					g
Grundfuttertier 5 . .	61 605	9 289,1	3242,9	17 723,1	731,9	613,4	83,8
„ 9 . .	45 600	5 974,1	2820,3	12 306,9	496,2	435,6	87,8
„ 2 . .	75 450	14 338,9	5758,9	23 718,9	1156,4	1083,9	93,7
„ 10 . .	78 850	10 641,6	3596,7	22 457,3	1084,7	1020,5	94,1
Glykokolltier 1 . . .	65 400	12 045,5	5462,3	21 320,6	1001,6	963,5	96,2
„ 6 . . .	81 900	13 631,4	4548,5	27 204,2	1272,6	1243,9	97,7
Grundfuttertier 8 . .	71 400	10 208,8	4349,0	18 929,4	862,0	774,6	89,9
Ammonacetattier 7 .	65 300	10 567,7	4951,1	18 360,0	915,3	833,1	91,0
Grundfuttertier 4 . .	104 200	16 550,3	7390,9	28 819,1	1426,7	1340,8	94,0
Ammonacetattier 3 .	97 800	16 673,6	7488,9	34 787,0	1665,6	1430,0	85,9

Tabelle XVII.

Gesamtstickstoff und Eiweißstickstoff in Blut und Fleisch (Fleisch ausschl. Schwarte und Fett).

	Blut		Fleisch		Fleisch u. Blut		Nichteiweiß-N		Nicht-eiweiß-N aus Fleisch und Blut g
	Gesamt-N	E.weiß-N	Gesamt-N	Eiweiß-N	Gesamt-N	Eiweiß-N	im Fleisch	im Blut	
	g	g	g	g	g	g	g	g	
Grundfuttertier 5 . .	67,3	66,6	731,9	613,4	799,2	680,0	118,4	0,7	119,1
„ 9 . .	58,3	57,7	496,2	435,6	554,5	493,4	60,6	0,6	61,2
„ 2 . .	102,8	102,2	1156,4	1083,9	1259,2	1186,1	32,5	0,6	33,1
„ 10 . .	104,1	102,8	1084,7	1020,5	1188,8	1123,4	64,2	1,3	65,5
Glykokolltier 1 . . .	75,5	72,5	1001,6	963,5	1077,1	1036,0	38,1	3,0	41,1
„ 6 . . .	116,0	115,6	1272,6	1243,9	1388,7	1359,5	28,7	0,4	29,1
Grundfuttertier 8 . .	86,7	86,7	862,0	774,6	948,6	861,2	87,4	—	87,4
Ammonacetattier 7 .	86,2	85,5	915,3	833,1	1001,5	918,7	82,2	0,7	82,9
Grundfuttertier 4 . .	94,2	93,9	1426,7	1340,8	1520,9	1434,7	85,9	0,3	86,2
Ammonacetattier 3 .	110,1	109,9	1665,6	1430,0	1775,6	1539,9	235,6	0,2	235,8

Tabelle XVIII.

Stickstoffgehalt im Tierkörper.

Gesamt-N	Grundfuttertier 5	Grundfuttertier 9	Grundfuttertier 2	Grundfuttertier 10	Glykokolltier 1	Glykokolltier 6	Ammonacetattier 7	Grundfuttertier 8	Grundfuttertier 4	Ammonacetattier 3
	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Im Fleisch . . .	658,7	420,7	1003,8	948,7	902,7	1121,6	832,2	801,4	1268,6	1544,8
In den Sehnen . .	73,1	75,5	152,6	136,0	98,9	151,0	83,1	60,6	158,0	120,8
Im Fett . . . . .	445,5	296,0	417,0	429,4	365,6	429,9	365,6	534,9	498,4	315,1
In der Schwarte . .	215,8	198,6	253,9	266,8	294,1	259,6	235,5	308,0	359,1	289,6
Im Blut . . . . .	67,3	58,3	102,8	104,1	75,5	116,0	86,2	86,7	94,2	110,1
Im ganzen . . . .	1460,4	1049,1	1930,1	1885,0	1736,8	2078,1	1602,6	1791,6	2378,3	2380,4
Gesamter Stickstoff in Prozenten des Lebendgewichts.										
	1,9	1,7	2,0	1,9	2,2	2,1	2,0	2,0	1,9	2,0

Tabelle XI.

Fettgehalt	Grundfütter- tier 5 g	Grundfütter- tier 9 g	Grundfütter- tier 2 g	Grundfütter- tier 10 g
Im Fleisch . . . . .	1 857,3	1 139,7	1 736,2	1 841,8
Im Fett . . . . .	19 875,7	14 604,7	22 496,1	29 761,8
In den Sehnen . . . . .	1 385,6	1 680,6	4 022,7	1 754,8
In der Schwarte . . . . .	764,6	1 062,5	1 236,5	1 413,7
	23 883,2	18 487,5	29 491,5	34 772,1

Tabelle

Grundfüttertier 2 verglichen mit den Grundfüttertieren 5 und 9  
auf Grund des Lebendgewichtes.

	Lebend- gewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch- trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g	Gesamt- ätherextrakt g
Schwein 5*) . . . . .	76 725	61 605,0	31 737,5	1460,4	23 883,2
Schwein 2 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	70 500	56 606,0	29 162,0	1341,9	21 945,0
Schwein 9 . . . . .	58 900	45 600,0	23 595,0	1049,1	18 487,5
Schwein 2 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	70 500	54 580,0	28 241,0	1255,7	22 129,0
Schwein 2 beim Schlachten Schwein 2 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	95 100	75 450,0	40 473,3	1930,1	29 491,5
	70 500	56 606,0	29 162,0	1341,9	21 945,0
Zunahme a . . . . .	24 600	18 844,0	11 311,3	588,2	7 546,5
Schwein 2 beim Schlachten Schwein 2 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	95 100	75 450,0	40 473,3	1930,1	29 491,5
	70 500	54 580,0	28 241,0	1255,7	22 129,0
Zunahme b . . . . .	24 600	20 870,0	12 232,3	674,4	7 362,5
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	24 600	19 857,0	11 771,8	631,3	7 454,5

\*) Das nach Beendigung der Grundfütterungsperiode geschlachtete Schwein 5 ergab die in der ersten Zeile der fünf Spalten angegebenen Zahlen. In der zweiten Zeile wurde unter Zugrundelegung des am Schlachttag tatsächlich erreichten Lebendgewichts die Zusammensetzung von Schwein 2, welche den in Zeile 1 angeführten Zahlen entsprach, wie bereits im Texte erwähnt, errechnet: Lebendgewicht Schwein 5 : Lebendgewicht Schwein 2 = die beiden Hälften von Schwein 5 : den beiden Hälften von Schwein 2 oder  $76\,725 : 70\,500 = 61\,605 : x$

$$x = \frac{70\,500 \times 61\,605}{76\,725}, \quad x = 56\,606.$$

Da bei dieser Rechnungsweise stets drei Zahlen bekannt sind, so ist nach der angegebenen Methode die vierte Zahl als Unbekannte leicht zu berechnen. Es enthält also die zweite Zeile der fünf Spalten die Zusammensetzung des Tierkörpers, wie sie hätte sein müssen, wenn das zu vergleichende Tier (in diesem Falle Schwein 2) unter denselben Bedingungen weiter gemästet worden wäre wie das Vergleichstier 5. Die Zeile 3 enthält die Zahlen, welche beim Schlachten von Schwein 9 festgestellt wurden; ferner die Zeile 4 analog der Zeile 2 die vermutliche Zusammensetzung von Schwein 2, hier aber unter Berücksichtigung des Schlachtergebnisses von Schwein 9.

## Mtproduktion.

Glykokolltier 1	Glykokolltier 6	Ammonacetat- tier 7	Grundfütter- tier 8	Grundfütter- tier 4	Ammonacetat- tier 3
g	g	g	g	g	g
2 656,0	2 621,5	3 530,8	2 676,7	4 565,6	4 929,2
16 784,3	23 924,5	22 307,4	24 552,9	36 801,2	21 402,5
2 806,3	1 927,0	1 420,3	1 672,3	2 825,3	2 559,7
1 217,3	1 060,9	1 646,0	2 186,3	1 589,8	1 906,9
23 463,9	29 533,9	28 904,5	31 088,2	45 781,9	30 798,3

## X.

Grundfüttertier 10 verglichen mit den Grundfüttertieren 5 und 9  
auf Grund des Lebendgewichtes.

	Lebend- gewicht	Die beiden Hälften	Fleisch- trocken- substanz	Gesamt- stickstoff	Gesamt- ätherextrakt
	g	g	g	g	g
Schwein 5 . . . . .	76 725	61 605,0	31 737,5	1460,4	23 883,2
Schwein 10 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	72 200	57 971,0	29 865,0	1374,3	22 475,0
Schwein 9 . . . . .	58 900	45 600,0	23 595,0	1049,1	18 487,5
Schwein 10 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	72 200	55 897,0	28 923,0	1286,0	22 662,0
Schwein 10 beim Schlachten	99 000	78 850,0	43 837,8	1885,0	34 772,1
Schwein 10 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	72 200	57 971,0	29 865,0	1374,3	22 475,0
Zunahme a . . . . .	26 800	20 879,0	14 022,8	510,7	12 297,1
Schwein 10 beim Schlachten	99 000	78 850,0	43 887,8	1885,0	34 772,1
Schwein 10 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	72 200	55 897,0	28 923,0	1286,0	22 662,0
Zunahme b . . . . .	26 800	22 953,0	14 964,8	599,0	12 110,1
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	26 800	21 916,0	14 493,8	554,9	12 203,6
Durchschnittszunahme der Schweine 2 und 10 . .	25 700	20 886,5	13 132,8	593,1	9 829,1

Die Zahlen der zweiten und vierten Zeile stellen also mit Ausnahme von Spalte 1 angenommene Werte dar, denen in Zeile 1 und 3 tatsächlich gewonnene gegenüberstehen. Zahlenreihe 5 und 8 geben sodann das wirklich erreichte Schlacht- und Untersuchungsergebnis des Schweines 2 an, von denen nun die in den Zeilen 2 und 4 errechneten Werte abgezogen werden. Die Ergebnisse der Subtraktion dieser beiden Zeilenpaare (Zeile 5 — Zeile 2 und Zeile 5 — Zeile 4) bringen infolgedessen zum Ausdruck, um wieviel das zum Vergleich herangezogene Schwein 2 gegenüber den beiden Tieren, mit denen es verglichen worden ist (5 und 9) zugenommen bzw. abgenommen hat. Von Zunahme a und b ist sodann noch ein Durchschnitt errechnet worden. Auf diese Weise sind die Zahlen entstanden, die als einwandfreies Vergleichsmaterial in den Tabellen XX bis XXIV Verwendung finden konnten. In einzelnen Fällen sind mehrere Zahlen mit einem Minuszeichen (—) versehen. Das bedeutet entsprechend der Erklärung dieser Zahlenanordnung nicht, daß das betreffende Tier (z. B. Tabelle XXII, Schwein 7) 4900 g Lebendgewicht oder 62,2 g Gesamtstickstoff abgenommen hat, sondern daß diese Grammengen an dem Gewicht fehlen, welches unter Zugrundelegung der Körperzusammensetzung der Vergleichstiere hätte erreicht werden müssen. Daraus wäre also zu schließen, daß das Futter eines solchen Tieres einen geringeren Erfolg gehabt hat, als das seines Vergleichstieres.

Tabelle

Glykokolltier 1 verglichen mit den Grundfuttertieren 5 und 9 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht	Die beiden Hälften	Fleisch-trocken-substanz	Gesamtstickstoff	Gesamtätherextrakt
	g	g	g	g	g
Schwein 5 . . . . .	76 725	61 605,0	31 737,5	1460,4	23 883,5
Schwein 1 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	70 500	56 606,0	29 162,0	1341,9	21 945,0
Schwein 9 . . . . .	58 900	45 600,0	23 595,0	1049,1	18 487,5
Schwein 1 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	70 500	54 580,0	28 241,0	1255,7	22 129,0
Schwein 1 beim Schlachten	80 600	65 400,0	32 437,0	1736,8	23 463,0
Schwein 1 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	70 500	56 606,0	29 162,0	1341,9	21 945,0
Zunahme a . . . . .	10 100	8 794,0	3 275,0	394,9	1 518,0
Schwein 1 beim Schlachten	80 600	65 400,0	32 437,0	1736,8	23 463,0
Schwein 1 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	70 500	54 580,0	28 241,0	1255,7	22 129,0
Zunahme b . . . . .	10 100	10 820,0	4 196,0	481,1	1 334,0
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	10 100	9 807,0	3 735,5	438,0	1 426,0

Tabelle

Grundfuttertier 8 verglichen mit dem Durchschnitt der Grundfuttertiere 2 und 10 und dem Durchschnitt der Glykokolltiere 1 und 6 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht	Die beiden Hälften	Fleisch-trocken-substanz	Gesamtstickstoff	Gesamtätherextrakt
	g	g	g	g	g
Durchschnitt der Schweine 2 und 10 . . . . .	97 050	77 150,0	42 180,6	1907,5	32 131,5
Schwein 8 vgl. mit Durchschnitt d. Schweine 2 u. 10	87 000	69 160,0	37 812,0	1710,0	28 804,0
Durchschnitt der Schweine 1 und 6 . . . . .	91 050	73 650,0	36 775,8	1907,5	26 498,0
Schwein 8 vgl. mit Durchschnitt d. Schweine 1 u. 6	87 000	70 373,9	35 139,9	1822,6	25 320,0
Schwein 8 beim Schlachten	89 500	71 400,0	40 013,6	1791,6	31 088,0
Schwein 8 vgl. mit Durchschnitt d. Schweine 2 u. 10	87 000	69 160,0	37 812,0	1710,0	28 804,0
Zunahme a . . . . .	2 500	2 240,0	2 201,6	81,6	2 284,0
Schwein 8 beim Schlachten	89 500	71 400,0	40 013,6	1791,6	31 088,0
Schwein 8 vgl. mit Durchschnitt d. Schweine 1 u. 6	87 000	70 373,9	35 139,9	1822,6	25 320,0
Zunahme b . . . . .	2 500	1 026,1	4 873,7	- 31,0	5 768,0
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	2 500	1 633,1	3 537,7	25,3	4 026,0

## XI.

Glykokolltier 6 verglichen mit den Grundfuttertieren 5 und 9 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch-trocken-substanz g	Gesamtstickstoff g	Gesamt-ätherextrakt g
Schwein 5 . . . . .	76 725	61 605,0	31 737,5	1460,4	23 883,2
Schwein 6 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	78 900	63 351,0	32 637,0	1501,8	24 560,0
Schwein 9 . . . . .	58 900	45 600,0	23 595,0	1049,1	18 487,5
Schwein 6 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	78 900	61 084,0	31 606,8	1405,4	24 765,8
Schwein 6 beim Schlachten Schwein 6 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	101 500	81 900,0	41 114,5	2078,1	29 533,9
Zunahme a . . . . .	22 600	18 549,0	8 477,5	576,3	4 973,9
Schwein 6 beim Schlachten Schwein 6 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	101 500	81 900,0	41 114,5	2078,1	29 533,9
Zunahme b . . . . .	22 600	20 816,0	9 507,7	672,8	4 768,1
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	22 600	19 682,5	8 992,6	620,0	4 871,0
Durchschnittliche Zunahme der Schweine 1 und 6 . .	16 350	14 744,8	6 364,1	529,0	3 148,9

## XII.

Ammonacetattier 7 verglichen mit dem Durchschnitt der Grundfuttertiere 2 und 10 und dem Durchschnitt der Glykokolltiere 1 und 6 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch-trocken-substanz g	Gesamtstickstoff g	Gesamt-ätherextrakt g
Durchschnitt der Schweine 2 und 10 . . . . .	97 050	77 150,0	42 180,6	1907,5	32 131,8
Schwein 7 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 2 u. 10	84 700	67 332,3	36 812,9	1664,8	28 042,8
Durchschnitt der Schweine 1 und 6 . . . . .	91 050	73 650,0	36 775,8	1907,5	26 498,9
Schwein 7 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 1 u. 6	84 700	68 513,5	34 210,9	1774,4	24 650,8
Schwein 7 beim Schlachten Schwein 7 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 2 u. 10	79 900	65 300,0	36 146,1	1602,6	28 904,5
Zunahme a . . . . .	- 4 800	- 2 032,3	- 666,8	- 62,2	861,7
Schwein 7 beim Schlachten Schwein 7 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 1 u. 6	84 700	68 513,5	34 210,9	1774,4	24 650,8
Zunahme b . . . . .	- 4 800	- 3 213,5	1 935,2	- 171,8	4 253,7
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	- 4 800	- 2 622,9	634,2	- 117,0	2 557,7

Tabelle

Grundfuttertier 4 verglichen mit den Grundfuttertieren 5 und 9 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch- trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g	Gesamt- ätherextrakt g
Schwein 5 . . . . .	76 725	61 605,0	31 737,5	1460,4	23 883,2
Schwein 4 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	77 300	62 066,0	31 975,0	1471,4	24 062,2
Schwein 9 . . . . .	58 900	45 600,0	23 595,0	1049,1	18 487,5
Schwein 4 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	77 300	59 845,0	30 965,9	1376,9	24 262,8
Schwein 4 beim Schlachten	122 800	104 200,0	57 224,4	2378,3	45 781,9
Schwein 4 verglichen mit Schwein 5 . . . . .	77 300	62 066,0	31 975,0	1471,4	24 062,2
Zunahme a . . . . .	45 500	42 134,0	25 249,4	906,9	21 719,7
Schwein 4 beim Schlachten	122 800	104 200,0	57 224,4	2378,3	45 781,9
Schwein 4 verglichen mit Schwein 9 . . . . .	77 300	59 845,0	30 965,9	1376,9	24 262,8
Zunahme b . . . . .	45 500	44 355,0	26 258,5	1001,4	21 519,1
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	45 500	43 244,5	25 753,9	954,2	21 619,4

Tabelle

Grundfuttertier 4 verglichen mit Grundfuttertier 8 und Ammonacetattier 7 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebendgewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch- trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g	Gesamt- ätherextrakt g
Schwein 8 . . . . .	89 500	71 400,0	40 013,6	1791,6	31 088,2
Schwein 4 verglichen mit Schwein 8 . . . . .	110 700	88 312,0	49 491,0	2216,0	38 452,9
Schwein 7 . . . . .	79 900	65 300,0	36 146,1	1602,6	28 904,5
Schwein 4 verglichen mit Schwein 7 . . . . .	110 700	90 471,0	50 079,0	2220,3	40 046,6
Schwein 4 beim Schlachten	122 800	104 200,0	57 224,4	2378,3	45 781,9
Schwein 4 verglichen mit Schwein 8 . . . . .	110 700	88 312,0	49 491,0	2216,0	38 452,9
Zunahme a . . . . .	12 100	15 888,0	7 733,4	162,3	7 329,0
Schwein 4 beim Schlachten	122 800	104 200,0	57 224,4	2378,3	45 781,9
Schwein 4 verglichen mit Schwein 7 . . . . .	110 700	90 471,0	50 079,0	2220,3	40 046,6
Zunahme b . . . . .	12 100	13 729,0	7 145,4	158,0	5 735,3
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	12 100	14 808,5	7 439,4	160,2	6 532,2



## LXIII.

Ammonacetattier 3 verglichen mit dem Durchschnitt der Grundfuttertiere 2 u. 10 und dem Durchschnitt der Glykokolltiere 1 u. 6 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebend- gewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch- trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g	Gesamt- ätherextrakt g
Durchschnitt der Schweine 2 und 10 . . . . .	97 050	77 150,0	42 180,6	1907,5	32 131,8
Schwein 3 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 2 u. 10	97 700	77 666,6	42 463,1	1920,3	32 347,0
Durchschnitt der Schweine 1 und 6 . . . . .	91 050	73 650,0	36 775,8	1907,5	26 498,9
Schwein 3 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 1 u. 6	97 700	79 029,0	39 461,7	2046,8	28 434,3
Schwein 3 beim Schlachten . . . . .	119 000	97 800,0	44 412,6	2380,4	30 798,3
Schwein 3 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 2 u. 10	97 700	77 666,6	42 463,1	1920,3	32 347,0
Zunahme a . . . . .	21 300	20 133,4	1 949,5	460,1	— 1 548,7
Schwein 3 beim Schlachten	119 000	97 800,0	44 412,6	2380,4	30 798,3
Schwein 3 vgl. mit Durch- schnitt d. Schweine 1 u. 6	97 700	79 029,0	39 461,7	2046,8	28 434,3
Zunahme b . . . . .	21 300	18 771,0	4 950,9	333,6	2 364,0
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	21 300	19 452,2	3 450,2	396,8	407,7

## LXIV.

Ammonacetattier 3 verglichen mit Grundfuttertier 8 und Ammonacetattier 7 auf Grund des Lebendgewichts.

	Lebend- gewicht g	Die beiden Hälften g	Fleisch- trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g	Gesamt- ätherextrakt g
Schwein 8 . . . . .	89 500	71 400,0	40 013,6	1791,6	31 088,2
Schwein 3 verglichen mit Schwein 8 . . . . .	103 700	82 728,0	46 362,0	2075,9	36 020,6
Schwein 7 . . . . .	79 900	65 300,0	36 146,1	1602,6	28 904,5
Schwein 3 verglichen mit Schwein 7 . . . . .	103 700	84 751,0	46 913,0	2079,9	37 514,3
Schwein 3 beim Schlachten	119 000	97 800,0	44 412,6	2380,4	30 798,3
Schwein 3 verglichen mit Schwein 8 . . . . .	103 700	82 728,0	46 362,0	2075,9	36 020,6
Zunahme a . . . . .	15 300	15 072,0	— 1 949,4	304,5	— 5 222,3
Schwein 3 beim Schlachten	119 000	97 800,0	44 412,6	2380,4	30 798,3
Schwein 3 verglichen mit Schwein 7 . . . . .	103 700	84 751,0	46 913,0	2079,9	37 514,3
Zunahme b . . . . .	15 300	13 049,0	— 2 500,4	300,5	— 6 716,0
Zunahme im Durchschnitt von a und b . . . . .	15 300	14 060,5	— 2 224,9	302,5	— 5 969,2

Tabelle XXV.

Übersicht über die Zunahme während der Mast.  
Glykokollperiode.

	Lebend- gewicht	Die beiden Hälften	Fleisch- trocken- substanz	Gesamt- stickstoff	Gesamt- äther- extrakt	Als Körper- substanz an- gesetzter Stick- stoff je Tag	Als Körper- fett an- gesetzt. Fett je Tag
	g	g	g	g	g	g	g
Grundfuttertier 2 . . .	24 600,0	19 857,0	11 771,8	631,3	7454,5	14,7	173,4
Grundfuttertier 10 . . .	26 800,0	21 916,0	14 493,8	554,9	12203,6	12,9	283,8
Durchschn. Zunahme von 2 und 10 . . . .	25 700,0	20 886,5	13 132,8	593,1	9829,1	13,8	228,6
Glykokolltier 1 . . . .	10 100,0	9 807,0	3 735,5	438,0	1426,8	10,2	33,2
Glykokolltier 6 . . . .	22 600,0	19 682,5	8 992,6	620,0	4871,0	14,4	113,3
Durchschn. Zunahme von 1 und 6 . . . .	16 350,0	14 744,8	6 364,1	529,0	3148,9	12,3	73,2

## Ammonacetatperiode.

Grundfuttertier 8 . . .	2 500,0	1 633,1	3 537,7	25,3	4026,2	1,5	236,8
Ammonacetattier 7 . . .	- 4 800,0	- 2 622,9	634,2	- 117,0	2557,7	- 6,9	150,5
Grundfuttertier 4 . . .	45 500,0	43 244,5	25 753,9	954,2	21619,4	8,7	196,5
Ammonacetattier 3 . . .	21 300,0	19 452,2	3 450,2	396,8	407,7	9,5	9,7

Tabelle XXVI.

Für Körpersubstanz verfügbarer Stickstoff je Tag und Stück  
nach Stickstoffbilanz und Schlachtversuch.

Stickstoff verfügbar zur Bildung von Körpersubstanz je Tag und Stück	Glykokollperiode		Ammonacetatperiode	
	Durchschnitt der Grundfuttertiere	Durchschnitt der Glykokolltiere	Grundfuttertier	Ammonacetattier
	g	g	g	g
Nach der Stickstoffbilanz . . .	24,2	23,5	24,5	25,4
Nach dem Schlachtversuch . . .	13,8	12,3	8,7	9,5

Tabelle XXVII.

Gewichte in Kilogramm.

Nr.	Datum 1924	Schwein									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	19. XII.	55,2	55,7	61,4	61,2	60,7	61,4	44,2	43,7	45,3	52,2
2	20. XII.	55,3	55,7	60,5	60,8	62,7	62,2	44,0	45,2	45,8	53,8
3	22. XII.	57,8	57,5	61,3	64,3	63,8	65,8	45,1	46,0	45,5	54,3
4	23. XII.	60,0	59,0	63,0	64,7	64,7	64,5	47,7	47,7	47,9	56,7
5	27. XII.	61,9	62,2	64,7	68,7	68,7	66,6	50,4	49,7	50,4	61,2
6	29. XII.	62,7	60,7	64,9	68,7	69,2	67,2	51,7	50,2	52,9	60,7
7	30. XII.	63,2	61,5	65,0	69,4	70,0	68,0	50,0	50,7	51,7	62,0

Fortsetzung von Tabelle XXVII.

Nr.	Datum 1925		Schwein									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
8	3.	I.	65,0	64,0	68,3	69,0	71,9	71,0	53,9	50,5	54,0	64,3
9	5.	I.	66,0	66,3	68,6	71,3	73,3	71,8	54,5	53,3	54,5	65,8
10	6.	I.	66,5	65,7	68,6	69,7	72,7	71,5	55,6	53,2	54,6	65,1
11	7.	I.	68,1	68,1	70,1	72,1	75,1	73,8	57,1	53,8	57,1	67,6
12	8.	I.	67,7	67,7	70,4	72,2	76,2	73,5	55,3	55,3	56,7	66,9
13	9.	I.	69,3	68,0	70,3	73,3	75,8	76,2	57,8	56,8	58,3	68,3
14	10.	I.	68,6	68,8	70,9	71,9	76,7	75,7	57,7	56,7	58,2	69,2
15	12.	I.	69,6	68,3	72,6	74,8	77,8	76,6	60,6	57,6	58,6	71,1
16	13.	I.	70,2	69,8	72,7	74,9	78,4	76,4	59,2	57,9	59,2	69,7
17	14.	I.	70,5	70,5	72,5	76,2	79,7	78,9	61,0	59,2	61,0	72,2
18	17.	I.	72,8	72,5	74,5	77,3	—	79,0	62,5	61,5	—	73,1
19	19.	I.	72,8	73,5	73,3	78,8	—	80,0	63,8	63,8	—	73,3
20	20.	I.	72,8	73,4	74,8	79,3	—	81,5	63,8	63,8	—	74,3
21	21.	I.	72,8	74,3	75,8	79,3	—	80,8	65,8	62,8	—	75,8
22	22.	I.	73,1	73,9	77,1	81,5	—	83,0	65,8	63,7	—	77,0
23	23.	I.	73,4	74,0	77,7	80,5	—	83,0	64,5	64,8	—	77,8
24	24.	I.	73,7	74,1	77,7	80,0	—	83,1	64,0	65,5	—	78,7
25	26.	I.	75,4	77,1	79,1	83,3	—	85,8	66,3	66,0	—	78,6
26	27.	I.	75,0	76,0	79,0	82,2	—	81,7	65,0	65,2	—	77,3
27	28.	I.	76,0	76,5	79,6	82,5	—	83,0	67,5	65,5	—	78,5
28	29.	I.	76,1	76,1	79,7	82,0	—	83,2	67,2	66,2	—	79,6
29	30.	I.	74,9	76,3	81,3	82,3	—	85,7	65,8	68,3	—	79,7
30	31.	I.	75,9	77,6	82,4	82,9	—	86,9	67,1	67,4	—	79,4
31	2.	II.	76,5	79,5	83,0	84,0	—	87,5	67,5	68,0	—	81,0
32	3.	II.	78,5	79,5	81,7	84,7	—	87,7	69,0	69,2	—	81,5
33	4.	II.	78,0	80,9	83,4	84,5	—	88,5	70,0	70,5	—	82,0
34	5.	II.	79,0	81,0	83,5	85,0	—	88,5	70,5	70,5	—	82,5
35	6.	II.	79,0	81,5	85,5	85,5	—	90,0	69,5	71,0	—	83,0
36	7.	II.	78,7	83,0	85,0	86,0	—	90,0	71,5	71,0	—	83,5
37	9.	II.	80,0	84,5	84,8	87,3	—	91,0	72,0	72,3	—	84,3
38	10.	II.	79,5	84,5	87,0	87,5	—	91,0	72,5	73,0	—	84,5
39	11.	II.	77,7	84,5	86,0	88,2	—	91,2	71,7	73,0	—	85,4
40	12.	II.	79,5	85,0	86,0	88,8	—	91,5	71,3	74,0	—	85,0
41	13.	II.	81,3	86,5	85,6	89,3	—	94,8	71,3	73,8	—	86,3
42	14.	II.	80,8	86,4	86,6	90,6	—	93,9	72,4	74,4	—	86,9
43	16.	II.	80,4	86,4	87,4	91,9	—	92,4	74,9	75,4	—	89,4
44	17.	II.	79,4	88,4	88,9	91,9	—	93,0	74,9	76,9	—	88,9
45	18.	II.	79,7	88,7	87,8	92,8	—	93,7	75,2	76,2	—	89,7
46	19.	II.	80,1	89,4	89,1	93,1	—	94,1	74,6	76,6	—	89,6
47	20.	II.	80,1	91,1	87,1	93,8	—	95,6	75,6	77,2	—	90,6
48	21.	II.	79,5	91,5	89,5	94,0	—	98,0	76,3	78,5	—	91,5
49	23.	II.	78,7	90,7	89,7	95,0	—	97,5	77,0	79,0	—	93,0
50	24.	II.	81,5	91,5	89,5	96,0	—	98,5	77,7	79,5	—	92,5
51	25.	II.	81,3	92,3	90,3	96,3	—	97,3	77,0	79,5	—	93,3
52	26.	II.	81,1	92,4	90,9	95,9	—	97,9	77,9	80,4	—	92,9
53	27.	II.	81,5	92,5	91,0	96,5	—	98,4	77,5	81,4	—	93,9
54	28.	II.	81,5	94,4	89,9	96,9	—	99,4	78,0	80,9	—	94,0
55	2.	III.	80,5	96,0	90,5	97,6	—	100,6	79,1	82,1	—	97,5
56	3.	III.	80,6	94,6	91,5	98,5	—	100,6	79,6	82,5	—	101,0
57	4.	III.	80,6	94,1	91,5	100,6	—	100,6	79,1	82,1	—	101,5
58	5.	III.	81,0	94,0	92,4	99,9	—	100,9	79,9	84,0	—	98,9
59	6.	III.	80,9	96,4	93,4	100,4	—	100,5	80,9	84,4	—	101,9

## Fortsetzung von Tabelle XXVII.

Nr.	Datum 1925	Schwein									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
60	7. III.	80,7	95,1	93,3	101,6	—	100,1	81,0	84,3	—	98,6
61	9. III.	81,5	95,2	93,6	102,0	—	101,5	82,1	84,3	—	99,0
62	10. III.	80,9	95,9	93,8	102,3	—	101,8	82,0	84,5	—	99,4
63	11. III.	—	—	93,5	101,5	—	—	82,3	84,8	—	—
64	12. III.	—	—	94,0	102,5	—	—	83,5	85,5	—	—
65	13. III.	—	—	95,2	102,0	—	—	81,5	85,1	—	—
66	14. III.	—	—	94,3	102,3	—	—	82,3	85,6	—	—
67	16. III.	—	—	94,6	104,1	—	—	83,1	85,3	—	—
68	17. III.	—	—	97,7	105,2	—	—	84,7	87,0	—	—
69	18. III.	—	—	97,1	105,8	—	—	84,8	87,3	—	—
70	19. III.	—	—	97,9	104,6	—	—	84,4	87,4	—	—
71	20. III.	—	—	98,8	105,8	—	—	85,1	88,3	—	—
72	21. III.	—	—	98,8	105,3	—	—	85,3	88,8	—	—
73	23. III.	—	—	99,7	106,6	—	—	85,5	88,4	—	—
74	24. III.	—	—	100,5	106,8	—	—	86,0	89,0	—	—
75	25. III.	—	—	101,7	107,7	—	—	85,7	88,7	—	—
76	26. III.	—	—	101,7	106,4	—	—	86,2	89,7	—	—
77	27. III.	—	—	103,5	109,5	—	—	85,2	90,0	—	—
78	28. III.	—	—	103,2	109,0	—	—	84,5	89,7	—	—
79	30. III.	—	—	103,4	109,9	—	—	81,9	91,4	—	—
80	31. III.	—	—	104,1	112,6	—	—	79,3	90,3	—	—
81	1. IV.	—	—	106,0	114,7	—	—	79,0	90,0	—	—
82	2. IV.	—	—	104,9	112,2	—	—	79,9	92,0	—	—
83	3. IV.	—	—	103,7	110,7	—	—	—	—	—	—
84	4. IV.	—	—	104,3	111,3	—	—	—	—	—	—
85	6. IV.	—	—	104,3	111,3	—	—	—	—	—	—
86	7. IV.	—	—	104,9	111,9	—	—	—	—	—	—
87	8. IV.	—	—	108,4	114,4	—	—	—	—	—	—
88	9. IV.	—	—	107,5	113,5	—	—	—	—	—	—
89	11. IV.	—	—	107,8	114,0	—	—	—	—	—	—
90	13. IV.	—	—	108,9	115,1	—	—	—	—	—	—
91	14. IV.	—	—	109,6	116,1	—	—	—	—	—	—
92	15. IV.	—	—	110,6	115,6	—	—	—	—	—	—
93	16. IV.	—	—	112,2	119,7	—	—	—	—	—	—
94	17. IV.	—	—	110,6	118,7	—	—	—	—	—	—
95	18. IV.	—	—	114,5	118,0	—	—	—	—	—	—
96	20. IV.	—	—	111,4	117,9	—	—	—	—	—	—
97	21. IV.	—	—	111,0	121,0	—	—	—	—	—	—
98	22. IV.	—	—	112,4	121,9	—	—	—	—	—	—
99	23. IV.	—	—	110,6	118,9	—	—	—	—	—	—
100	24. IV.	—	—	112,1	119,9	—	—	—	—	—	—
101	25. IV.	—	—	112,7	120,2	—	—	—	—	—	—
102	27. IV.	—	—	113,3	119,8	—	—	—	—	—	—
103	28. IV.	—	—	115,0	121,0	—	—	—	—	—	—
104	29. IV.	—	—	114,4	120,2	—	—	—	—	—	—
105	30. IV.	—	—	115,3	120,3	—	—	—	—	—	—
106	1. V.	—	—	116,7	123,7	—	—	—	—	—	—
107	2. V.	—	—	119,8	126,8	—	—	—	—	—	—
108	4. V.	—	—	117,2	122,2	—	—	—	—	—	—
109	5. V.	—	—	117,2	122,7	—	—	—	—	—	—
110	6. V.	—	—	122,0	128,0	—	—	—	—	—	—
111	7. V.	—	—	119,0	124,0	—	—	—	—	—	—

**Zusammenfassung.**

Leider hat der Mangel an Versuchstieren, der durch Krankheitserscheinungen einiger Tiere sich noch fühlbarer gemacht hat, sowie der Aufenthalt der Schweine im Zwangsstall die Ergebnisse des Versuchs zweifellos bis zu einem gewissen Grade beeinflußt. Trotzdem können die Ergebnisse auf Grund der oben gegebenen Ausführungen unter Hinweis auf die Tatsache, daß es sich um bei Verwendung wachsender Schweine erhaltene Werte handelt, folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1. *Der Stickstoff des Glykokolls betrug 23,5 Proz. des gesamten Futterstickstoffs. In dieser Menge hat das Ersatzfuttermittel das Eiweiß des dafür in Abzug gebrachten Fischfuttermehls voll zu ersetzen vermocht.*

2. *Der Fettansatz ist trotz Ersatzes des Stärkewerts durch Kartoffelflocken ganz bedeutend durch die Glykokollgabe beeinträchtigt worden.*

3. *Das Ammonacetat hat mit einem Stickstoffgehalt von 23,9 Proz. des gesamten Futterstickstoffs dieselbe Wirkung bezüglich des Stickstoffansatzes hervorgebracht, wie das betreffende in Vergleich gesetzte Fischfuttermehl.*

4. *Auf den Fettansatz hat das Ammonacetat bei den zur Verfügung stehenden wachsenden Schweinen trotz Ersatz des Stärkewerts durch Kartoffelflocken keinen irgendwie fördernden Einfluß ausgeübt.*

5. *Die aus Schlachtversuch und Stoffwechselversuch sich ergebende Ungleichheit des Ansatzes von Eiweiß bedarf weiterer Prüfung.*

---

**Über die Bedeutung  
des Fettes für die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse.**

[Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Schilddrüsenwirkung<sup>1)</sup>].

Von

**I. Abelin, E. Goldener und B. Kobori.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Ausgeführt mit Unterstützung der *Ella Sachs-Plotz Foundation*, New York.)

(Eingegangen am 10. Mai 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Unter den zahlreichen physiologischen Wirkungen der Schilddrüsensubstanzen nimmt die Wirkung auf den Stoffwechsel eine der ersten Stellen ein. Die Zunahme der  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung und des  $\text{O}_2$ -Verbrauchs nach Schilddrüsenzufuhr oder bei gewissen Schilddrüsenenerkrankungen stellt die klinisch wichtigste Erscheinung dar, und manche Symptome des Basedows finden in der erhöhten Stoffzersetzung eine befriedigende Erklärung. Doch ergibt selbst eine oberflächliche Betrachtung, daß die bloße Steigerung der Stoffzerlegung die häufig schweren Erscheinungen nach Schilddrüsenzufuhr nicht hervorrufen könnte, wenn diese Erhöhung der Stoffzersetzung nicht auch von einer Verminderung des *Stoffansatzes* begleitet wäre. Es sind manche physiologische und pathologische Vorgänge bekannt, wo es für kürzere oder

---

<sup>1)</sup> Vgl. auch die frühere Mitteilung in dieser Zeitschr. 149, 109, 1924.

längere Zeit zu einem erhöhten Stoffumsatz kommt, doch treten dabei keine bedrohlichen Symptome auf. Unter normalen Bedingungen wird ein erhöhter Stoffverbrauch gewöhnlich durch eine bald einsetzende Zurückhaltung von Produkten des Nahrungstoffwechsels ausgeglichen, oftmals sogar überkompensiert. In therapeutischer Hinsicht wird sogar manchmal eine gewisse Erhöhung des Stoffwechsels gewünscht, um auf diese Weise auch die Assimilationskräfte des Körpers zu wecken. Nun findet man nach Schilddrüsenzufuhr nicht selten, selbst bei einer Erhöhung des Umsatzes um 20 bis 30 Proz., schwere allgemeine Störungen und erheblichen Verlust an Körpersubstanz. Es erscheint daher sehr wahrscheinlich, daß durch die Thyroideapräparate nicht nur die Stoffzerlegung, sondern vielleicht noch in erheblicherem Maße der Wiederaufbau der Organsubstanz ungünstig beeinflußt wird. In der Tat ist dem einen von uns vor einigen Jahren der Nachweis gelungen, daß nach Eingabe von Thyroidea die sogenannte spezifisch-dynamische Wirkung der wichtigsten Nahrungsstoffe, wie Eiweiß, Fett, Kohlehydrat, stark zunimmt<sup>1)</sup>. Dieser Befund besagt mit anderen Worten, daß vom zugeführten Nahrungstoff mehr als normal verbrannt und weniger als normal zurückgehalten wird. In ähnlichem Sinne glauben wir die ältern Untersuchungen von *H. Eppinger*<sup>2)</sup> deuten zu dürfen. *Eppinger* hat bekanntlich gefunden, daß bei mit Thyroidea behandelten Hunden nach Wasseraufnahme bedeutend mehr Wasser durch den Harn abgegeben wird, als es normalerweise der Fall ist. Das gleiche Wasserquantum (z. B. 300 ccm), welches gewöhnlich zu etwa 60 Proz. durch die Niere ausgeschieden und zum Teil im Organismus zurückgehalten wird, kommt nach Schilddrüseneingabe total wieder zur Ausscheidung, in gewisser Analogie zu dem, wie etwa bei solchen Tieren ein großer Teil des C der Nahrung schnell wieder in Form von  $\text{CO}_2$  abgegeben wird. Ebenso verhält sich nach *Eppinger* das Kochsalz, dessen Ablagerung im Organismus durch die Schilddrüsenstoffe stark gestört wird. Und wir vermuten, daß sich ein ähnliches Verhalten nicht nur beim Eiweiß, Fett, Kohlehydrat, Wasser, Kochsalz, sondern auch bei vielen anderen Nährstoffen wird auffinden lassen. Es liegt daher Grund zu der Annahme vor, daß die Schädigung des Restitutionsvermögens der Gewebe

---

<sup>1)</sup> Vgl. Sitzungsber. d. Schweiz. Naturforsch. Gesellschaft 1922; Klin. Wochenschrift 1922, S. 2188; 1923, S. 2221; diese Zeitschr. 137, 149, 152, 154.

<sup>2)</sup> *H. Eppinger*, Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems. Berlin, J. Springer, 1916.

den springenden Punkt in der ganzen Stoffwechselwirkung der Schilddrüsensubstanzen darstellt<sup>1)</sup>).

Dieser Schluß führt zu der weiteren Annahme, daß nach Schilddrüsenzufuhr nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Abweichungen vom normalen Verlauf der Stoffwechselprozesse auftreten. Es gibt in der Tat in der Lehre von der Physiologie der Schilddrüse eine wichtige Feststellung, welche für das Auftreten neuer chemischer Reaktionen bei Schilddrüsenfütterung spricht, nämlich die vielfach bestätigte Angabe von *Cramer* und *Krause*<sup>2)</sup>, daß die Leber von mit Thyreoidea gefütterten Tieren fast absolut glykogenfrei ist. Dieser Befund braucht an und für sich noch nicht für einen neuen Verlauf der chemischen Umsetzungen zu sprechen, denn die Glykogenfreiheit der Leber könnte auch so zustande kommen, daß infolge des erhöhten Stoffumsatzes das Glykogen zwar neu gebildet, aber rasch wieder verbraucht wird. Wie im nachfolgenden experimentellen Teile gezeigt werden soll (vgl. Versuche Nr. 9 bis 12, 18 bis 20, 50 bis 54), handelt es sich aber hier nicht um einen raschen Verbrauch, sondern in erster Linie um ein Fehlen der Glykogenneubildung aus zugeführtem Kohlehydrat. Die Leber von mit Thyreoidea vorbehandelten Tieren erinnert in dieser Beziehung an die Leber des Diabetikers, wo ebenfalls die Glykogenfixation geschädigt ist.

Der Versuch lehrt, daß man zwei Reihen von Stoffen unterscheiden muß, welche den Glykogenstoffwechsel beeinflussen: 1. Die einen Stoffe mobilisieren das Glykogen, stören aber dessen Neubildung nicht. 2. Die anderen Stoffe hindern dagegen die Neubildung des Glykogens in der Leber. Ob diese Substanzen daneben noch das bereits vorhandene Glykogen verjagen, ist schwer zu entscheiden. Zu den Stoffen der zweiten Gruppe gehören unzweifelhaft die Thyreoideasubstanzen. Sie erzeugen keine Hyperglykämie und rufen äußerst selten eine Glykosurie hervor. Auch wird nach eigenen früheren Untersuchungen nach Schilddrüsenaufnahme die chemische Natur des Blutzuckers nicht geändert<sup>3)</sup>. Im Vordergrund der Thyreoideawirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel steht die Hemmung des Glykogenansatzes.

Wie aus nachfolgender kurzer Zusammenstellung hervorgeht, verhält sich das Adrenalin gerade entgegengesetzt. Adrenalin erzeugt Hyperglykämie und Glykosurie, es verjagt das Glykogen aus der Leber, hindert aber die Neubildung desselben nicht, ja es scheint sogar im Gegenteil die Glykogenablagerung zu begünstigen. Auch wird nach

<sup>1)</sup> Vgl. diese Zeitschr. 149, 114.

<sup>2)</sup> *Cramer* und *Krause*, Proc. Roy. Soc. 86, 1913.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. 154, 52.



Adrenalininjektion das physikalisch-chemische Verhalten des Blutzuckers deutlich geändert<sup>1)</sup>.

Einfluß von Adrenalin und von Thyreoidea auf den Kohlehydratstoffwechsel.

Nach Zufuhr von	1	2	3	4	5	6
	Hyperglykämie	Glykosurie	Natur des Blutzuckers	Glykogenmobilisation	Glykogenneubildung	Verhalten des R.-Q.
Adrenalin	stark	sehr häufig	geändert	sehr stark	nicht gestört, oftmals begünstigt	meistens erhöht
Thyreoidea	keine	äußerst selten	unverändert	?	fast ganz unterdrückt; bleibt erhalten, wenn neben den Schilddrüsenstoffen auch Fett gegeben wird	unverändert

Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß die dauernd bei der Schilddrüsenbehandlung vorhandene Glykogenfreiheit der Leber und die mangelhafte Glykogenneubildung die größten Folgen für den gesamten Stoffwechsel haben muß. Ebenso ist es klar, daß jeder Faktor, welcher die Glykogenfixation der „Schilddrüsenleber“ hebt, auch den allgemeinen Stoffwechsel beeinflussen muß. In Versuchen, die der eine von uns vor einigen Jahren mit *K. Miyazaki* durchgeführt hat, konnte nachgewiesen werden, daß eine Vorbehandlung der Tiere mit Fett und eine reichliche Fettzufuhr während der Schilddrüsenbehandlung die Wirkung der Schilddrüsenstoffe auf den Gaswechsel abschwächt<sup>2)</sup>. Gestützt auf dieses Ergebnis haben wir die Bedeutung des Fettes für die Glykogenablagerung in der Leber bei Eingabe von Thyreoidea studiert<sup>3)</sup>. Die Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt: Die eine Serie von Tieren erhielt längere Zeit *vor* und auch *während* der Schilddrüsenzufuhr neben dem üblichen Futter eine Fettzulage. Eine andere Reihe von Tieren erhielt bei üblicher Ernährung einige Tage Schilddrüsensubstanz, und erst darauf begann die kombinierte Behandlung mit Fett und mit Thyreoidea. Die Schilddrüsenfütterung dauerte meistens 8 bis 10 Tage. Am letzten Versuchstage wurde den Tieren im nüchternen Zustande Rohrzucker eingegeben. 8 Stunden darauf wurden die Tiere getötet und die Leber auf Glykogen untersucht. Zur Kontrolle wurden Tiere bei gewöhnlicher

<sup>1)</sup> *J. Abelin* und *S. Nakahayashi*, diese Zeitschr. 154, 52.

<sup>2)</sup> Vgl. diese Zeitschr. 149, 121.

<sup>3)</sup> Vgl. die kurze Mitteilung in *Klin. Wochenschr.* 1926, Nr. 9.

Fütterung (Milch und Brot) mit den gleichen Schilddrüsenmengen, aber ohne Fettzulage, behandelt. Nach Zufuhr der gleichen Rohrzuckermenge wurden die Tiere getötet und der Glykogengehalt der Leber ermittelt. Das Ergebnis dieser Versuche ist kurz folgendes. Dauert die Vorbehandlung mit Fett 2 oder 3 Wochen und gibt man auch während der Schilddrüsenfütterungsperiode neben dem üblichen Futter täglich 3 ccm tierisches oder pflanzliches Fett, so bildet die Leber aus zugeführtem Kohlehydrat ebensoviel Glykogen, wie die Leber eines normalen Tieres. Die große Bedeutung des Fettes für die Glykogenbildungsfähigkeit der Leber kommt aber auch dann zur Geltung, wenn die Fettingabe erst während der Schilddrüsenfütterung beginnt. Nach Zufuhr einer bekannten Menge Kohlehydrat findet man bei den so vorbehandelten Tieren den Leberglykogengehalt herabgesetzt, doch enthält die Leber recht erhebliche Glykogenmengen (1,5 bis 2,0 Proz. Glykogen gegenüber 3 bis 4 Proz. bei Normaltieren). Kleinere Fettmengen, etwa 1 ccm pro Tag, vermögen dagegen nicht, die Glykogenbildungsfähigkeit der Leber nach Schilddrüsenzufuhr aufrecht zu erhalten.

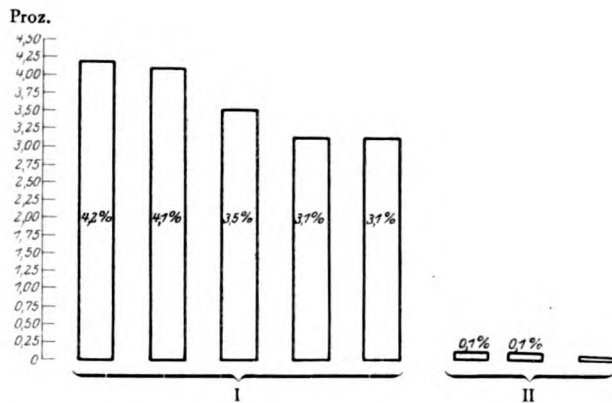


Abb. 1.

- I. Glykogengehalt der Leber von mit Schilddrüse und mit Fett gefütterten Ratten nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker.
- II. Glykogengehalt der Leber von mit den gleichen Schilddrüsenmengen gefütterten Ratten (ohne spezielle Fettzulage) nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vgl. auch Tabelle I und II).

Ebenso wie tierisches und pflanzliches Fett verhielten sich Eigelb, sowie ein Gemisch aus Stearinsäure, Palmitinsäure und Ölsäure. Auch nach Aufnahme von Ölsäure vermochten die Tiere trotz Schilddrüsenzufuhr Rohrzucker in Glykogen umzuwandeln. Verfütterung von

Gehirnsubstanz erwies sich dagegen in dieser Beziehung unwirksam. Unentschieden bleibt die Frage, ob bei Schilddrüsenfütterung der Alkohol das Leberglykogen „schützen kann“. Die richtige Durchführung dieser Versuche bietet gewisse Schwierigkeiten, da viele Tiere den Alkohol schlecht ertragen und oft zugrunde gehen. Doch ist eine gewisse günstige Alkoholwirkung auf die Glykogenbildung aus Kohlehydrat wahrscheinlich.

Man muß sich vorerst fragen, woher das Glykogen in der Leber der mit Fett und mit Schilddrüse behandelten Tiere stammt. Ist es aus dem Fett oder aus dem Kohlehydrat gebildet worden? Diese Frage läßt sich auf Grund der Versuche Nr. 55 bis 57, 61 bis 63 mit genügender Klarheit beantworten. In diesen Versuchen wurden die Tiere bei üblicher Ernährung längere Zeit hindurch mit Schilddrüse und mit Fett behandelt. Am Tötungstage wurde ihnen aber nicht Zucker, sondern Fett gegeben. 8 Stunden nach der Fettzufuhr wurden die Tiere getötet. Die Leber war vollständig glykogenfrei. Die Leber derjenigen „Fetttiere“, welche am Tötungstage Zucker bekamen, enthielt dagegen Glykogen. Also ist auch hier das Glykogen ein Umwandlungsprodukt des Kohlehydrats und nicht des Fettes. Durch Hervorheben dieser Tatsache wollen wir uns nicht auf die Seite der Gegner der Annahme einer Kohlehydratbildung aus Fett stellen. Diese Hypothese, die von sehr vielen Forschern vertreten wird, steht immer noch in Diskussion (*Chauveau, Benedict, Geelmuyden, A. V. Hill, O. Meyerhof, Krogh und Lindhard, G. Lusk* u. a.). Neuerdings lieferte *Calvo-Criado*<sup>1)</sup> einen weiteren Beitrag zu dieser Frage. Er fand an fast kohlehydratfrei gemachten Tieren, daß die Zufuhr von Fett oftmals die Glykosurie verstärkt, und bezieht die vermehrte Zuckerausscheidung auf eine Kohlehydratneubildung aus Fett. Wir wollen nur betonen, daß bei unserer Versuchsanordnung eine Umwandlung von Fett in Leberglykogen nicht festzustellen war. Wie sich die Sache in anderen Fällen verhält, soll später untersucht werden.

Es muß hervorgehoben werden, daß bei Schilddrüsenfütterung die Fähigkeit der Leber zur Glykogensynthese nur dann erhalten bleibt, wenn man der Nahrung *Fett* zusetzt. Reichliche Zugabe von Kohlehydrat oder von Eiweiß ist in dieser Beziehung unwirksam. Es wäre möglich, daß eine Zuckerzulage deshalb zu keiner Glykogenablagerung führt, weil vielleicht bei mit Schilddrüse vorbehandelten Tieren die Kohlehydrate in abnormer Weise abgebaut werden und keine Glykogenvorstufen liefern. Daran muß immer

---

<sup>1)</sup> Beiträge zur Physiologie der Drüsen von *L. Asher*, 83. Mitteilung von *V. Calvo-Criado*, diese Zeitschr. 164, 76, 1925.

gedacht werden. Wir haben zum Vergleich eine Triose herangezogen, welcher beim Zuckerabbau eine große Bedeutung zukommt, das Dioxyaceton. Aber auch dieses Produkt des Kohlehydratabbaus wirkte nicht anders als der Zucker selbst. Ohne Fettzulage ließ sich bei mit Schilddrüse gefütterten Tieren auch mit Dioxyaceton keine Glykogenablagerung in der Leber erzielen. Dagegen ist bei normalen Tieren das Dioxyaceton ein sehr starker Glykogenbildner.

Gestützt auf die Tatsache, daß nach Schilddrüsenzufuhr die Leber kein Glykogen enthält und auch kein Glykogen bildet, könnte man gerade darin die letzte Ursache der gesamten Stoffwechselstörung sehen. Doch nehmen wir an, daß es neben der Veränderung des Kohlehydratstoffwechsels noch eine andere, vielleicht ebenso wichtige Störung gibt, welche den Fettstoffwechsel betrifft. Es ist bekannt, daß Schilddrüsenzufuhr einen Fettverlust verursacht. Dieser Fettschwund kann sehr erheblich sein, und es ist gar nicht schwer, durch Darreichung selbst mittlerer Schilddrüsendosen die Tiere des größten Teiles ihres Fettes zu berauben. Diese bekannten Tatsachen gehen auch aus den histologischen Untersuchungen von *Cameron* und *Carmichael*<sup>1)</sup> hervor. Man ist daher berechtigt anzunehmen, daß nach Schilddrüsenzufuhr der Stoffwechsel im Zeichen eines Fettmangels steht. Das Fett ist der Anker des Stoffwechsels, und eine Störung dieses Teiles muß sich selbst in den entferntesten Gebieten des ganzen Stoffumsatzes zeigen. Daß die relativ geringen Glykogenablagerungen dabei in erster Linie zum Opfer fallen müssen, ist ohne weiteres ersichtlich. Aber auch das Körperweiß muß in erheblichem Maße angegriffen werden, denn rein kalorisch betrachtet, müssen für jedes Gramm Fett, welches im Stoffwechsel fehlt, 2,3 g Eiweiß zerlegt werden. Dabei lassen wir unberücksichtigt, daß es aus vielen Gründen nicht gleichgültig ist, wenn im Körperhaushalt an Stelle von Fett teilweise das Eiweiß eintritt. Ebenso ist es klar, daß ein Verlust von Fett und eine Destruktion von Körpergewebe auch den Wasser- und Salzstoffwechsel in Mitleidenschaft ziehen muß. Der gesamte, sehr verwickelte Mechanismus der Stoffwechselwirkung der Thyreoideasubstanzen wird verständlicher, sobald man den Fettmangel und eine Veränderung des Fettstoffwechsels in Erwägung zieht. Die Befunde der vorliegenden Arbeit unterstützen eine solche Annahme, denn es zeigte sich durchwegs, daß es nur durch reichliche Zufuhr von Fett gelingt, den störenden Einfluß der Schilddrüsenstoffe wirksam zu bekämpfen.

---

<sup>1)</sup> *A. T. Cameron* und *J. Carmichael*, Journ. of biol. Chem. **45**, 69, 1920.

Die hier mitgeteilten Beziehungen zwischen der Glykogenbildung in der Leber und der Fettzufuhr durch die Nahrung sind aber nicht nur für die Theorie der Stoffwechselwirkung der Thyreoidea-substanzen, sondern *auch für die Bedeutung des Fettes beim Diabetes, sowie für die allgemeine Frage des Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels von Interesse*. Es erscheint uns sehr wahrscheinlich, daß auch bei der Ernährung des Diabetikers das Fett nicht nur die Rolle eines energiereichen Stoffes spielt, sondern daß dem *Fett daneben noch wichtige spezifische Einflüsse auf den gestörten Kohlehydratstoffwechsel zukommen*.

### Experimentelles.

#### I.

*Versuchsordnung.* Vorbehandlung der Tiere mit Fett während 3 Wochen. Darauf Zufuhr von Schilddrüse und Fortsetzung der Fetteingabe. Daneben gewöhnliches Futter.

Zu diesen Versuchen dienten acht Ratten, die vom 25. Februar bis 18. März 1925 neben Milch und Brot mit Fett vorbehandelt wurden. Abwechselnd wurde Olivenöl und Schweinefett eingegeben. Nach 18tägiger Fettdarreichung wurde mit der Schilddrüsenfütterung begonnen, dabei wurde auch während der Schilddrüsenperiode Fett eingegeben. Als Schilddrüsenpräparat wurden die sehr gut wirksamen englischen Burroughs-Wellcome-Thyroid-Gland-Tabletten benutzt. Insgesamt wurden während 3 Wochen 24 ccm Olivenöl und 24 ccm Schweinefett verfüttert, davon vor der Schilddrüseneingabe das gesamte Olivenöl und 15 ccm Schweinefett. Während der Schilddrüsenperiode erhielten die Tiere 15 ccm Schweinefett. Insgesamt wurden 275 mg Schilddrüse verfüttert. Am letzten Versuchstage wurden nach einer 16stündigen Hungerperiode 2,5 g Rohrzucker per os eingegeben, 7 Stunden darauf wurden die Tiere getötet und die Leber nach *Pflüger* auf ihren Glykogengehalt untersucht. Die Zuckerbestimmung nach der Hydrolyse des Glykogens erfolgte nach *Bertrand*. Bei sämtlichen Tieren wurde trotz Schilddrüsen- und Fettdarreichung ein hoher Glykogengehalt der Leber gefunden. Derselbe betrug im Maximum 4,2 Proz., im Minimum 1,60 Proz. Als Mittelwert aus allen acht Versuchen ergibt sich ein Glykogengehalt von 3,1 Proz. Diesen Wert findet man auch bei Normaltieren nach Eingabe der gleichen Zuckermengen.

Zur Kontrolle wurde anderen Tieren die gleiche Schilddrüsenmenge, aber ohne Fettzulage eingegeben. Am letzten Versuchstage wurden die Tiere 7 Stunden nach Verfütterung von 2,5 g Rohrzucker getötet. Die Leber dieser Tiere enthielt fast kein Glykogen. Bei den Tieren Nr. 10, 11 und 12 waren nur äußerst geringe Glykogenmengen wie 0,08, 0,03 und 0,04 Proz. festzustellen, das Tier Nr. 9 hatte einen Leberglykogengehalt von 0,29 Proz. Diese Versuche bestätigten also die bekannte Tatsache, daß es selbst durch eine kurzdauernde Behandlung mit Schilddrüse gelingt, den Glykogenansatz in der Leber so gut wie vollständig zu unterdrücken.

Tabelle I.

Einfluß der Vorbehandlung mit Fett und der gleichzeitigen Fett- und Schilddrüseneingabe auf die Glykogenablagerung in der Leber.

Nr.	Datum 1925	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen	
				mg	Proz.
1	25. II.	Vom 25. bis 27. Februar und am 2. März neben der üblichen Nahrung je 3 ccm <i>Olivenöl</i> pro Tag. Vom 3. bis 6. März neben gewöhnlichem Futter je 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Am 7., 9., 10. und 12. März je 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Am 13. März 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Am 14. und 16. März je 3 ccm <i>Schweinefett</i> und je 100 mg Thyroid Gland <i>Wellcome</i> . Am 17. März 3 ccm <i>Schweinefett</i> und 75 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i>			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> per os (vorher 16 Stunden Hunger) . . .	8,8	371	4,2
2	25. II.	Ernährung und Schilddrüseneingabe wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> per os (vorher 16 Stunden Hunger) . . .	7,0	198	2,8
3	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	8,2	223	2,7
4	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	9,7	155	1,6
5	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,7	233	3,5
6	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,8	213	3,1
7	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	7,2	213	2,96
8	25. II.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 1			
	18. III.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	7,3	281	3,80

Tabelle I (Fortsetzung).  
Kontrolle (ohne Fettzufuhr)

Nr.	Datum 1925	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen	
				mg	Proz.
9	20. IV.	Am 17. und 18. April je 100 mg Schilddrüsentabletten, am 19. April 75 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i> . Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . .	5,3	15	0,29
10	20. IV.	Am 17. und 18. April je 100 mg Schilddrüsentabletten, am 19. April 75 mg Schilddrüsentabletten. Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	5,1	4,1	0,08
11	2. V.	Am 28. und 29. April je 100 mg Schilddrüsentabletten, am 30. April und am 1. Mai je 75 mg Schilddrüsentabletten. Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	5,2	1,7	0,03
12	2. V.	Am 28. und 29. April je 100 mg Schilddrüsentabletten, am 30. April und am 1. Mai je 75 mg Schilddrüse. Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	3,9	1,7	0,04

Die Bedeutung des Fettes für die Schilddrüsenwirkung geht auch aus dem Verfolgen der Körpergewichtsverhältnisse hervor. In Tabelle II ist das Körpergewicht der Versuchs- und der Kontrolltiere zu Beginn und am Schluß des Versuchs zusammengestellt. Bei den mit Thyreoidea und Fett behandelten Tieren ist die Körpergewichtsabnahme sehr gering, manchmal fehlt sie vollständig, bei den Kontrolltieren ist sie deutlicher ausgesprochen.

Tabelle II.

Körpergewichtsabnahme nach Schilddrüsenzufuhr bei normalen und bei mit Fett behandelten Tieren.

Nr.	Körpergewicht der mit Fett und Schilddrüse vorbehandelten Tiere		Nr.	Körpergewicht der mit den gleichen Schilddrüsenmengen vorbehandelten Tiere (ohne spezielle Fettzulage)	
	zu Beginn des Versuchs g	am Schluß des Versuchs g		zu Beginn des Versuchs g	am Schluß des Versuchs g
1	200,0	213,0	9	166,5	151,2
2	138,5	143,0	10	151,0	137,5
3	171,8	166,5	11	191,2	196,5
4	152,2	147,0	12	148,0	123,5
5	156,8	168,0			
6	170,0	163,8			
7	174,5	174,8			
8	194,5	183,5			

## II.

*Versuchsordnung.* Vorbehandlung der Tiere mit Fett während zwei Wochen. Darauf Beginn der Schilddrüseneingabe und Fortsetzung der Fettzufuhr. Daneben übliche Fütterung.

Die Versuchsordnung ist fast die gleiche wie bei der soeben besprochenen Serie. Sie unterscheidet sich von der früheren nur dadurch, daß die Vorbehandlung mit Fett hier 2 Wochen dauerte, und ferner wurde hier in den Versuchen Nr. 13 bis 15 als Fettquelle fast ausschließlich Olivenöl benutzt. Von den Schilddrüsentabletten wurde diesmal etwas mehr verfüttert, 350 mg, an Stelle von 275 mg in den früheren Versuchen. Auch bei dieser Versuchsreihe wurden vor der Tötung 2,5 g Rohrzucker gegeben. Der Glykogengehalt der Leber war hoch und betrug im Durchschnitt 3,60 Proz., mit einem Maximum von 4,2 Proz. und mit einem Minimum von 3,1 Proz. Bei den Kontrolltieren, welche die gleichen Schilddrüsenmengen ohne Fettzulage erhielten, war der Leberglykogengehalt 0,128, 0,0 und 0,10 Proz.

Tabelle III.

Einfluß der Vorbehandlung mit Fett und der gleichzeitigen Fett- und Schilddrüseneingabe auf die Glykogenablagerung in der Leber.

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs	am Schluß
	1925		g			g	g
13	29. IV.	Am 29. April, am 1. und 4. Mai neben gewöhnlichem Futter je 3 ccm <i>Olivenöl</i> pro Tag. Vom 5. bis 8. Mai täglich außer dem üblichen Futter 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Vom 9. bis 11. Mai täglich 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Am 12. und 13. Mai je 3 ccm <i>Olivenöl</i> und je 100 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i> . Am 14. und 15. Mai je 3 ccm <i>Olivenöl</i> und je 75 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i>					
	16. V.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,0	252	4,2	148	154
14	29. IV.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 13					
	16. V.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	7,0	242	3,5	147	153,5
15	29. IV.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 13					
	16. V.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,6	270	4,1	154	161,5



Tabelle III (Fortsetzung).

Nr.	Datum 1925	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
16	29. IV.	Vom 29. April bis 1. Mai und am 4. Mai täglich 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Daneben gewöhnliches Futter. Vom 5. bis 8. Mai täglich 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Am 9. und am 11. Mai 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Vom 12. bis 15. Mai täglich 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Am 16. Mai 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Am 18. und 19. Mai je 3 ccm <i>Schweinefett</i> und je 100 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i> . Am 20. und 21. Mai je 3 ccm <i>Schweinefett</i> und je 75 mg Schilddrüsentabletten <i>Wellcome</i> .					
	22. V.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	8,5	261	3,1	174	168,5
17	29. IV.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 16 . . . . .					
	22. V.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,3	193	3,1	144	137,5
<i>Kontrollen (ohne Fettzufuhr).</i>							
18	22. II.	Am 18 und 19. Februar je 100 mg, am 20. und 21. Februar je 75 mg Schilddrüsentabletten. Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	7,8	11	0,128		
19	22. II.	Wie Nr. 18 . . . . .	6,3	0,0	0,0		
20	22. II.	Wie Nr. 18 . . . . .	5,0	5	0,10		

## III.

*Versuchsordnung.* Kurzdauernde Vorbehandlung mit Fett. Darauf Zufuhr von Schilddrüse und Fett. Daneben gewöhnliches Futter.

In dieser Reihe wurde die Dauer der Vorbehandlung mit Fett noch weiter abgekürzt. Die Tiere erhielten bloß 3 Tage vor Beginn der Schilddrüsenbehandlung abwechselnd 2,5 ccm Olivenöl und 2,5 ccm Schweinefett. Auch während der Schilddrüsenperiode wurde Fett und Olivenöl verabreicht. Die Tabelle IV zeigt, daß auch die so vorbehandelten Tiere das Vermögen, Kohlehydrat in Glykogen umzuwandeln, nicht verloren haben. Bei allen Tieren finden wir nach 2,5 g Rohrzucker recht beträchtliche Glykogenablagerungen in der Leber, die beim Tier Nr. 24 sogar auf den

Maximalwert von 5,18 Proz. heraufgeht. Als Mittelwert finden wir einen Glykogengehalt von 3,6 Proz., also ebenso groß wie in den früheren Versuchen mit Fett und Schilddrüse. Die Körpergewichtsabnahme am Schluß der Schilddrüsenbehandlung war gering.

Tabelle IV.

Einfluß einer kurzdauernden Vorbehandlung mit Fett und der Zufuhr von Schilddrüse und Fett auf die Glykogenablagerung in der Leber.

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Lebergewicht g	Glykogen		Körpergewicht	
				mg	Proz.	zu Beginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1925						
21	10. VII.	10. Juli 2,5 ccm Olivenöl; 11. Juli 2,5 ccm Schweinefett; 12. Juli 2,5 ccm Olivenöl; 13. Juli 2,5 ccm Schweinefett + 100 mg Schilddrüsentabletten ( <i>Wellcome</i> ); am 14. Juli 2,5 ccm Olivenöl + 100 mg Schilddrüsentabletten; 15. Juli 2,5 ccm Schweinefett + 100 mg Schilddrüsentabletten; 16. Juli 2,5 ccm Olivenöl + 75 mg Schilddrüsentabletten. Daneben überall gewöhnliches Futter.					
	17. VII.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	5,0	107	2,14	120	114
22	10. VII.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 21					
	17. VII.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	5,0	172	3,42	98	100
23	10. VII.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 21					
	17. VII.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,0	209,5	3,49	120	117
24	10. VII.	Ernährung und Schilddrüsenfütterung wie bei Nr. 21					
	17. VII.	Tötung 7 Stunden nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,3	326,1	5,18	106,5	110

## IV.

*Versuchsordnung.* Keine Vorbehandlung mit Fett. Während der Schilddrüseneingabe wurde bei den einzelnen Versuchsserien *Fett, Lebertran, ein Gemisch aus Stearin-, Palmitin- und Ölsäure* oder *Ölsäure* benutzt. Daneben gewöhnliches Futter.

Bei dieser und bei den nachfolgenden Serien wurde der Versuchsplan etwas abgeändert. Eine Vorbehandlung mit Fett vor der Schilddrüsen-eingabe wurde fallen gelassen. Es wurde zuerst eine Zeitlang nur Schilddrüse gegeben; in den Versuchen Nr. 25, 26, 27 und 28 wurde 4 Tage lang je 100 mg Schilddrüse verfüttert. Dadurch war auf Grund der Ergebnisse der früheren Versuche die Leber mit Sicherheit glykogenfrei, und diese Tiere würden aus zugeführtem Rohrzucker kein Glykogen bilden können. Dann wurde 4 Tage lang wieder jedesmal 100 mg Thyreoidea verfüttert, an denselben Tagen wurde aber bei üblicher sonstiger Ernährung je 3 ccm Schweinefett gegeben. In den Versuchen Nr. 25 und 26 wurden total 800 mg Schilddrüse und 15 ccm Schweinefett gebraucht. Der Glykogengehalt der Leber nach Zufuhr von 2,5 g Rohrzucker war 2,47 und 1,97 Proz. In den Versuchen Nr. 27 und 28 erhielten die Tiere insgesamt 800 mg Schilddrüse und 6 ccm Schweinefett. Die Glykogenbildung aus 2,5 g Rohrzucker betrug 1,08 und 1,41 Proz. Im Versuch Nr. 29 kamen an Stelle von 6 ccm Schweinefett 6 ccm Olivenöl zur Anwendung, der Glykogengehalt war noch niedriger, 0,79 Proz.

Gibt man kleinere Fettmengen, etwa 1 ccm Schweinefett pro Tag, so erweist sich dieses Fettquantum ungenügend, um eine Glykogenablagerung zu ermöglichen. In den Versuchen Nr. 30 und 31 wurde insgesamt 900 mg Schilddrüse und 7 ccm Schweinefett verfüttert. Davon wurde am 18. und 19. Januar je 100 mg Thyreoidea ohne Fettzulage, an den nachfolgenden Tagen dieselbe Thyreoideamenge nebst je 1 ccm Schweinefett eingegeben. Die Leber dieser Tiere vermochte aus zugeführtem Zucker kein Glykogen zu bilden. Nur im Versuch Nr. 32 wurden 0,7 Proz. Glykogen gefunden, eine Zahl, die als gering bezeichnet werden muß.

Als gut wirksam erwies sich *Lebertran* (Versuche Nr. 33 und 34). 3 Tage lang wurde nur Schilddrüse verfüttert, in den nachfolgenden 4 Tagen wurden außer Thyreoidea 3 ccm Lebertran täglich per os eingeführt. Die Glykogenbildung aus Rohrzucker war bei diesen Tieren sehr gut und betrug 2,26 und 3,10 Proz.

Ebenso war eine *Mischung aus Stearin-, Palmitin- und Ölsäure* wirksam. Leider konnte diese Analyse infolge eines Kolbensprunges bei der Hydrolyse des Glykogens nicht zu Ende geführt werden. Bei der Alkoholfällung entstand aber ein reichlicher Niederschlag, und die wässrige Lösung dieses Niederschlags zeigte die charakteristische opaleszierende Farbe der Glykogenauflösung. Die benutzte Fettsäuremischung hatte folgende Zusammensetzung: Stearin-, Palmitin- und Ölsäure wurden in molekularen Verhältnissen gemischt. Da aber die Konsistenz dieses Gemischs zu fest war, wurden 20 ccm dieser Mischung mit 20 ccm Ölsäure zusammengeschmolzen. Die Resorption dieser Mischung war zwar gut, aber nicht vollständig. Aus diesem Grunde wurde später nur Ölsäure verfüttert. Diese wirkte fast ebensogut wie das Fett, indem die Leber aus Rohrzucker Glykogen bildete. Im Versuch Nr. 36 wurden 2,56 Proz. Leberglykogen gefunden.

Tabelle V.

Einfluß kleiner Fettmengen, ferner von Lebertran, Stearin-Palmitin-Ölsäuremischung und von Ölsäure auf die Glykogenbildung in der Leber bei Schilddrüsenfütterung.

Nr.	Datum 1925	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
25	30. XI.	Am 30. November, am 1., 2., 3., 4., 5., 7., 8. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten ( <i>Wellcome</i> ) Am 4., 5., 6., 7. und 8. Dezember je 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 15 ccm <i>Schweinefett</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
	9. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g <i>Rohrzucker</i> per os (vorher 16 Stunden Hunger)	6,0	148,3	2,47	177,0	148,3
26	30. XI.	Wie Nr. 25. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 15 ccm <i>Schweinefett</i>					
	9. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g <i>Rohrzucker</i> per os (vorher 16 Stunden Hunger)	5,4	106,2	1,97	140,0	135,0
27	30. XI.	Am 30. November, am 1., 2., 3., 4., 5., 7. und 8. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 7. und am 8. Dezember je 3 ccm <i>Schweinefett</i> . Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 6 ccm <i>Schweinefett</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
	9. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger)	5,7	61,8	1,08	178,0	157,0
28	30. XI.	Wie Nr. 27. Total 800 mg Schilddrüsensubstanz und 6 ccm <i>Schweinefett</i>					
	9. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger)	5,3	74,56	1,41	163,5	138,5
29	23. XI.	Am 23., 24., 25., 26., 27. je 100 mg; am 28. November 150 mg, am 30. November 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 28. und am 29. November je 3 ccm <i>Olivenöl</i> . Total 750 mg Schilddrüsentabletten und 6 ccm <i>Olivenöl</i>					
	I. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g <i>Rohrzucker</i> (vorher 16 Stunden Hunger)	6,0	47,4	0,79	194,0	162,5

Tabelle V (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1926						
30	18. I.	Am 18., 19., 20., 21., 22., 23., 24., 25., 26. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 20., 21., 22., 23., 24., 25., 26. Januar je 1 ccm <i>Schweinefett</i> . Total 900 mg Schilddrüsentabletten und 7 ccm <i>Schweinefett</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker per os (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	5,5	0	0	173,5	162,5
31	18. I.	Wie Nr. 30. Total 900 mg Schilddrüsentabletten und 7 ccm <i>Schweinefett</i>					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker per os (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	6,1	12,04	0,2	158,5	151,0
32	18. I.	Wie Nr. 30. Total 900 mg Schilddrüsentabletten und 7 ccm <i>Schweinefett</i>					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	4,75	33,0	0,7	127,0	119,0
33	10. XII.	Am 10., 11., 12., 13., 14., 15., 16. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 13., 14., 15. und 16. Dezember je 3 ccm <i>Lebertran</i> . Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 12 ccm <i>Lebertran</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
34	17. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	6,9	155,6	2,26	156,5	145,0
	10. XII.	Wie Nr. 32. Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 12 ccm <i>Lebertran</i>					
	17. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger). . . . .	6,1	189,1	3,10	126,5	122,5

Tabelle V (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
35	6. I.	Am 6., 7., 8., 9., 10., 11. und 12. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 8., 9., 10., 11. und 12. Januar je 3 ccm eines Gemisches aus Palmitin-, Stearin- und Ölsäure. Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 15 ccm der Fettsäuremischung					
	13. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	5,6	Glykogen reichlich vorhanden	154,5	131,0	
36	13. I.	Am 13., 14., 15., 16., 17., 18., 19. und 20. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 15., 16., 17., 18., 19. und 20. Januar je 3 ccm Ölsäure. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 18 ccm Ölsäure.					
	21. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	6,7	172,2	2,56	184,5	150

## V.

*Versuchsordnung.* Keine Vorbehandlung mit Fett. Zufuhr von *Eigelb* oder von *Schweinhirn* nebst Schilddrüse. Daneben übliches Futter.

Unter den biologisch wichtigen fetthaltigen Stoffen nimmt das *Eigelb* eine der ersten Stellen ein. *Eigelb* enthält 33 bis 34 Proz. Fett + „Lipoide“, davon etwa 10 bis 11 Proz. Lecithin, 1 bis 2 Proz. Cholesterin und etwa 22 Proz. Fett. In unseren Versuchen kamen 3 bis 4 ccm *Eigelb* pro Tag zur Anwendung, dies würde, auf fettartige Stoffe umgerechnet, ungefähr 1 bis 1,3 ccm Fett entsprechen. Trotzdem genügte diese Menge, um die Glykogenbildungsfähigkeit der Leber zu unterhalten. Dieses ist um so beachtenswerter, als es mit 1 ccm Schweinefett pro Tag nicht gelingt, eine Glykogenablagerung nach Zuckereingabe zu erreichen (vgl. Versuch Nr. 30 und 31). Das *Eigelb* erweist sich auch hier den anderen Fetten überlegen. Im Mittel wurde bei den mit *Eigelb* vorbehandelten Tieren nach Eingabe von 2,5 g Rohrzucker 2,85 Proz. Leberglykogen gefunden. Die Analysen Nr. 39, 40 und 41 konnten leider infolge Springen der Kolben bei der Hydrolyse des Glykogens nicht zu Ende geführt werden. Glykogen war aber bei diesen Tieren reichlich vorhanden.

Um die Bedeutung der Lipoide für die Glykogenablagerung zu studieren, wurde einigen Tieren neben Thyreoidea *frisches Schweinhirn* verfüttert. Diese Tiere erhielten insgesamt 800 mg Schilddrüse und 25 g frisches Schweinhirn. Die Glykogenbildung aus Rohrzucker ist sehr gering, sie ist nur bei einem Tiere (Nr. 43) nennenswert, bei den übrigen Tieren ist der Leberglykogengehalt kaum in Betracht zu ziehen. Das an Lipoiden sehr reiche Gehirn wirkte bedeutend schwächer als *Eigelb*.

Tabelle VI. Einfluß von Eigelb und von Schweinshirn auf die Glykogenbildung in der Leber nach Zufuhr von Schilddrüse.

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Lebergewicht g	Glykogen		Körpergewicht	
				mg	Proz.	zu Beginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1925/26						
37	12. XII.	Am 10., 11., 12., 13., 14., 15. und 16. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 11., 12., 13., 14., 15. und 16. Dezember je 3 ccm <i>Eigelb</i> . Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 18 ccm <i>Eigelb</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
	17. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker per os (vorher 16 Stunden Hunger).	5,7	106,2	1,86	167,5	160,5
38	12. XII.	Wie Nr. 37. Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 18 ccm <i>Eigelb</i>					
	17. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker per os (vorher 16 Stunden Hunger).	5,2	201,5	3,87	119,5	114,0
	1926						
39	4. I.	Am 4., 5., 6., 7., 8., 9., 10., 10. Jan. je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 6., 7., 8., 9., 10. und 11. Jan. je 4 ccm <i>Eigelb</i> . Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 24 ccm <i>Eigelb</i>					
	12. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	5,7		Glykogen reichlich vorhanden *)	110,5	98,5
40	4. I.	Wie Nr. 39. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 24 ccm <i>Eigelb</i>					
	12. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	4,8		Glykogen reichlich vorhanden *)	138,5	119,5
41	4. I.	Wie Nr. 39. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 24 ccm <i>Eigelb</i>					
	12. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	6,6		Glykogen vorhanden *)	202,0	175,0
42	13. I.	Am 13., 14., 15., 16., 17., 18., 19., 20. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 15., 16., 17., 18., 19. und 20. Januar je 4 ccm <i>Eigelb</i> . Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 24 ccm <i>Eigelb</i>					
	21. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	6,7	188,7	2,8	184,5	170,0

\*) Der Schlußteil der Analysen Nr. 39, 40 und 41 ist bei der Hydrolyse mit HCl verunglückt. Bei der Abscheidung mit Alkohol entstand in allen drei Fällen ein reichlicher Niederschlag von Glykogen.

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1925						
43	14. XII.	Am 14., 15., 16., 17., 18., 19., 20. und 21. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 17., 18., 19., 20., 21. Dezember je 5 g <i>Schweinshirn</i> (frisch). Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 2,5 g <i>Schweinshirn</i>					
	22. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	4,7	45,2	0,96	187,5	175,0
44	14. XII.	Wie Nr. 43. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 25 g <i>Schweinshirn</i> .					
	22. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	6,5	12,04	0,19	195,5	183,5
44a	14. XII.	Wie Nr. 43. Total 800 mg Schilddrüsentabletten und 25 g <i>Schweinshirn</i> .					
	22. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	4,7	14,26	0,30	133,5	122,0

## VI.

*Versuchsordnung.* Während der Schilddrüsenbehandlung erhalten die Tiere Alkohol.

Die theoretisch interessante Frage, ob auch *Alkohol* imstande ist, ebenso wie das Fett, die Leber vor der schädlichen Schilddrüsenwirkung zu schützen, läßt sich vorläufig nicht mit genügender Sicherheit beantworten. Die erforderlichen Mengen Alkohol werden von den Tieren schlecht ertragen. Eine größere Anzahl von Ratten ist uns während der Alkoholkonarkose zugrunde gegangen. Wir waren daher gezwungen, kleinere Alkoholdosen anzuwenden und diese auch nur während der letzten Tage der Schilddrüsenfütterung einzugeben. In den Versuchen Nr. 45 und 46 haben die Tiere nur zweimal je 4,5 ccm 30proz. Alkohol erhalten. Diese Menge entspricht 2,7 ccm absoluten Alkohol und 19,2 Cal. In den Versuchen Nr. 47, 48 und 49 erhielten die Tiere insgesamt 4 ccm absoluten Alkohol und damit 28,5 Cal. Die Glykogenablagerung war bei diesen Tieren nicht groß, im Durchschnitt 0,72 Proz. Diese Zahl erlaubt keine zuverlässigen Schlüsse zu ziehen.



Tabelle VII.

Einfluß des Alkohols auf die Glykogenbildung in der Leber nach Zufuhr von Schilddrüse.

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
45	6. I.	Am 6., 7., 8., 9., 10., 11., 12. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 11. und 12. Januar je 4,5 ccm 30proz. <i>Alkohol</i> .					
	13. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	5,5	28,5	0,52	151,5	136,0
46	6. I.	Wie Nr. 45. Total 700 mg Schilddrüsentabletten und 9 ccm 30proz. <i>Alkohol</i>					
	13. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	6,2	85,9	1,39	181,0	147,5
47	15. I.	Am 15., 16., 17., 18., 19., 20., 21., 22., 23., 24., 25. und 26. Januar je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 18., 19., 20., 21., 22., 23., 24., 25., 26. Januar je 1,5 ccm 30proz. <i>Alkohol</i> . Total 1200 mg Schilddrüsentabletten u. 13,5 ccm 30proz. <i>Alkohol</i>					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	7,6	28,5	0,38	208	174,5
48	15. I.	Wie Nr. 47. Total 1200 mg Schilddrüsentabletten und 13,5 ccm 30proz. <i>Alkohol</i>					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger).	6,3	20,06	0,32	185,5	167,5
49	15. I.	Wie Nr. 47. Total 1200 mg Schilddrüsentabletten und 13,5 ccm 30proz. <i>Alkohol</i>					
	27. I.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	6,1	59,3	0,97	165	143

## VII.

*Versuchsordnung.* Die Tiere werden mit Schilddrüse behandelt. Am letzten Versuchstage erhalten sie an Stelle von Rohrzucker *Dioxyaceton*. Tabelle VIII enthält eine Reihe von Versuchen, welche als Kontrolle gelten.

In den Versuchen Nr. 50 und 51 wurden zum Vergleich Schilddrüsenmengen verfüttert, wie sie bei den letzten Versuchen mit Fettzulage zur Anwendung kamen. Die Leber dieser Tiere bildete aus Rohrzucker so gut wie kein Glykogen.

Es wäre möglich, daß es nach Schilddrüsenfütterung deshalb zu keiner Glykogenablagerung kommt, weil vielleicht der Kohlehydratabbau nach Schilddrüsenaufnahme anomal verläuft und keine Glykogenvorstufen liefert. Es wurden daher Versuche mit *Dioxyaceton* angestellt, von dem bekannt ist, daß es ein ausgezeichneter Glykogenbildner ist. Eine Serie von Tieren wurde mit Thyreoidea gefüttert (ohne spezielle Fettzulage). Am letzten Versuchstage erhielten die Tiere anstatt Rohrzucker *Dioxyaceton*. Dieses vermochte aber kein Glykogen zu bilden (vgl. Tabelle VIII). Also, auch aus Spaltstücken der Hexosen entsteht in der „Schilddrüsenleber“ kein Glykogen.

## VIII.

*Versuchsordnung.* Die Tiere werden mit Fett und mit Schilddrüse behandelt. Am letzten Versuchstage erhalten die Tiere an Stelle von Rohrzucker Fett.

Die Versuche Nr. 55, 56 und 57 dienten zur Prüfung der Frage, ob bei den Fettversuchen das Leberglykogen aus dem Fett oder aus dem Rohrzucker gebildet wurde. Die Tiere erhielten neben Thyreoidea täglich 3 ccm Butter. 7 Stunden vor der Tötung wurde an Stelle von Rohrzucker (wie in den früheren Versuchen) Butter gegeben. Die Leber sämtlicher Tiere enthielt keine Spur von Glykogen. Dies müßte doch nicht der Fall sein, falls eine Umwandlung von Fett in Glykogen stattgefunden hätte.

Die Versuche Nr. 61, 62, 63 wurden in ganz ähnlicher Weise durchgeführt, nur wurde hier an Stelle von Butter Schweinefett verfüttert. Am letzten Versuchstage erhalten die Tiere 8 Stunden vor der Tötung 3 ccm Schweinefett. Die Leber dieser Tiere enthielt ebenfalls kein Glykogen.

Tabelle VIII.

Einfluß von a) *Dioxyaceton* und von b) *Fett* auf die Glykogenneubildung in der Leber bei Schilddrüsenfütterung.

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1925						
50	23. XI.	Am 23., 24., 25., 26., 27. November je 100 mg Schilddrüsen-tabletten. Am 28. November 150 mg und am 30. November 100 mg Schilddrüsen-tabletten. Total 750 mg Schilddrüsen-tabletten					
	1. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	5,9	27,4	0,47	218,0	189,0
51	23. XI.	Wie Nr. 50. Total 750 mg Schilddrüsen-tabletten					
	1. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,5 g Rohrzucker (vorher 16 Stunden Hunger)	8,5	0	0	216,0	180,5

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1925						
52	25. XI.	Am 25., 26., 27., 28. und 30. No- vember, 1. und 2. Dezember je 100 mg Schilddrüsentabletten. To- tal 700 mg Schilddrüsentabletten					
	3. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,7 g <i>Dioxy- aceton</i> (vorher 16 Stunden Hunger)	6,7	0	0	226,5	190,5
53	25. XI.	Wie Nr. 52. Total 700 mg Schild- drüsentabletten					
	3. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,7 g <i>Di- oxyaceton</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	4,7	0	0	191,5	160,5
54	25. XI.	Wie Nr. 52. Total 700 mg Schild- drüsentabletten					
	3. XII.	Tötung 7 Stunden nach 2,7 g <i>Di- oxyaceton</i> (vorher 16 Stunden Hunger) . . . . .	5,3	0	0	187,5	160,0
	1926						
55	4. I.	Am 4., 5., 6., 7., 8., 9. und 10. Jan. je 100 mg Schilddrüsentabletten. Am 6., 7., 8., 9., 10. Januar je 3 ccm <i>Butter</i> (neben sonstigem Futter). Total 700 mg Schild- drüsentabletten und 15 ccm <i>Butter</i>					
	11. I.	7 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Butter</i> . . . . .	4,9	0	0	156,5	140,5
56	4. I.	Wie Nr. 55. Total 700 mg Schild- drüsentabletten und 15 ccm <i>Butter</i>					
	11. I.	7 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Butter</i> . . . . .	5,5	0	0	133,5	130,5
57	4. I.	Wie Nr. 55. Total 700 mg Schild- drüsentabletten und 15 ccm <i>Butter</i>					
	11. I.	7 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Butter</i> . . . . .	4,35	0	0	116,5	124,5
61	20. IV.	100 mg Thyroid Gland <i>Wellcome</i> per os					
	21. IV.	Dasselbe					
	22. IV.	Dasselbe und 3 ccm <i>Schweinefett</i> per os					
	23. IV.	Dasselbe					
	24. IV.	Dasselbe					

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Art der Behandlung	Leber- gewicht g	Glykogen		Körper- gewicht	
				mg	Proz.	zu Be- ginn d. Versuchs g	am Schluß g
	1926						
61	26. IV.	100 mg Thyroid Gland <i>Wellcome</i> und 3 ccm <i>Schweinefett</i> per os. Total 600 mg Schilddrüsen-tabletten und 12 ccm <i>Schweinefett</i> . Daneben gewöhnliches Futter					
	27. IV.	8 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Schweinefett</i> . . . . .	5,7	0	0	205	183
62	20-26. IV.	Ernährung, Schilddrüsenfütterung und Fetteingabe wie bei Nr. 61					
	27. IV.	8 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Schweinefett</i> . . . . .	6,2	0	0	190	190
63	20-26. IV.	Ernährung, Schilddrüsenfütterung und Fetteingabe wie bei Nr. 61					
	27. IV.	8 Stunden vor der Tötung 3 ccm <i>Schweinefett</i> . . . . .	5,7	0	0	188	163

## IX.

*Versuchsordnung.* Tiere wurden täglich mit Adrenalin behandelt. Am letzten Versuchstage Einspritzung von Adrenalin und darauf Eingabe von Rohrzucker.

Die Glykogenfreiheit der Leber nach Schilddrüsenverfütterung könnte darauf beruhen, daß das Glykogen zwar gebildet, aber durch die Schilddrüsenstoffe immer wieder aus den Depots verjagt wird. Es war daher nicht ohne Interesse, einen Vergleich mit Adrenalin auszuführen, da das Adrenalin bekanntlich das Leberglykogen rasch mobilisiert. Eine Serie von Tieren wurde mehrere Tage hintereinander mit Adrenalin gespritzt. Am letzten Versuchstage wurde ebenfalls Adrenalin injiziert, darauf wurde Rohrzucker eingegeben. 7 Stunden nach der Rohrzuckereingabe wurden die Tiere getötet. Der Glykogengehalt der Leber der so vorbehandelten Tiere war sehr hoch, ja fast maximal. Bei einem Tiere wurde der höchste in dieser Arbeit beobachtete Glykogengehalt von 6,87 Proz. gefunden. Beim Tiere Nr. 58 war der Leberglykogengehalt 5,14 Proz. und beim Tier Nr. 60 3,15 Proz. Die Wirkung des Adrenalins auf den Glykogenstoffwechsel ist also ganz anderer Natur als diejenige der Schilddrüsenstoffe: die Thyreoideastoffe hemmen, das Adrenalin hemmt nicht, sondern begünstigt vielleicht noch die Neubildung des Glykogens. *L. Pollak*<sup>1)</sup> hat sogar bei hungernden Kaninchen nach wiederholten Adrenalininjektionen eine Glykogenanhäufung in der Leber gesehen.

<sup>1)</sup> *L. Pollak*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 61, 173, 1909.

Tabelle IX.

Einfluß des Adrenalins auf die Glykogenbildung in der Leber.

Nr.	Datum 1925	Art der Behandlung	Lebergewicht mg	Glykogen	
				mg	Proz.
58	20. VI.	Subkutane Injektion von 0,5 ccm <i>Adrenalin Parke Davis</i> 1 : 10000.			
		Subkutane Injektion von je 1,5 ccm <i>Adrenalin Parke Davis</i> 1 : 10000 am 22., 23., 24. und 25. Juni			
	26. VI.	Subkutane Injektion von 1,5 ccm <i>Adrenalin</i> 1 : 10000. $\frac{3}{4}$ Stunden nach der <i>Adrenalininjektion</i> Ein- gabe von 2,5 g <i>Rohrzucker</i> . Tötung 7 Stunden nach der Zuckereingabe. Vor der Zuckereingabe 16 Stunden Hunger . . . . .	5,8	298,2	5,14
59	20. VI.	<i>Adrenalininjektion</i> wie bei Nr. 58			
	26. VI.	<i>Adrenalininjektion</i> , Tötung und Zuckereingabe wie bei Nr. 58 . .	6,1	419,2	6,87
60	20. VI.	<i>Adrenalininjektion</i> wie bei Nr. 58			
		<i>Adrenalininjektion</i> , Tötung und Zuckereingabe wie bei Nr. 58 . .	6,8	214,3	3,15

## Zusammenfassung.

In einer früheren Arbeit wurde festgestellt, daß eine reichliche Zufuhr von Fett die Wirkung der Schilddrüsenstoffe auf den Gaswechsel wesentlich abschwächt. In Verfolgung dieses Befundes wurde die Bedeutung des Fettes für die Glykogenbildung in der Leber nach Eingabe von Schilddrüsenstoffen näher untersucht. Versuche an Ratten haben folgendes ergeben:

1. Die Leber von mit Thyreoidea gefütterten Tieren bildet aus zugeführtem Kohlehydrat kein Glykogen. Erhalten aber die Tiere vor und während der Schilddrüsenzufuhr, oder auch nur während der Dauer der Schilddrüsenfütterung neben der üblichen Nahrung auch reichlich Fett, so vermag die Leber solcher Tiere Kohlehydrate in Glykogen umzuwandeln.

2. Ebenso wie das Fett selbst wirken bei der Schilddrüsenfütterung Eigelb, Lebertran und die höheren Fettsäuren. Unwirksam dagegen ist die lipoidreiche Gehirnschubstanz. Die Wirkung des Alkohols war in den angewandten kleineren Mengen bedeutend schwächer als diejenige des Fettes.

3. Das in der Leber von mit Schilddrüse und mit Fett behandelten Tieren gefundene Glykogen ist auf eine Neubildung aus Kohlehydrat der Nahrung und nicht auf eine Umwandlung von Fett in Glykogen zurückzuführen.

4. Die Versuche beweisen die große Bedeutung des Fettes für die Stoffwechselwirkung der Thyreoideasubstanzen, sowie für den gesamten Kohlehydratumsatz im Organismus. Es ist sehr wahrscheinlich, daß durch die Schilddrüsenpräparate nicht nur der Kohlehydrat-, sondern auch der Fettstoffwechsel gestört wird.

5. Die Leber von mit Schilddrüse behandelten Tieren ist nicht befähigt, aus Dioxyaceton Glykogen zu bilden, während bei Normaltieren die Darreichung von Dioxyaceton zu einer starken Glykogenanreicherung der Leber führt.

6. Die Wirkung des Adrenalins auf den Glykogenstoffwechsel der Leber ist ganz anderer Natur als diejenige der Schilddrüsenstoffe. Adrenalin verjagt zwar das Glykogen aus der Leber, hemmt aber dessen Neubildung nicht, sondern kann sie sogar im Gegenteil begünstigen.

# Biochemische Zeitschrift

San Francisco, 22

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Barn, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Waltheimstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Napoli, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Deerr-Basel, A. Darig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Fersman-Land, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, P. Härl-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hüggenand-Abo, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Heas-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langsteln-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, P. A. Levine-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Leowy-Davao, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, K. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michailis-Nagoya, H. Molisch-Wien, H. Morschhauser-Düsseldorf, W. Nenst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Farnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, E. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, F. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, E. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitts-Breslau, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Frag, W. Straub-München, K. Sato-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappiner-München, K. Thoms-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wischewski-Frag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgenuth-Berlin, N. Zöllnashy-Moskau.

herausgegeben von  
C. Neuberg-Berlin

Hundertvierundsiebzigster Band

Viertes bis sechstes Heft

Abgeschlossen am 4. August 1926



Berlin  
Verlag von Julius Springer  
1926

Die

## Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28,—.

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

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, zu richten.*

*Das Honorar beträgt M 40,— für den 16 seitigen Druckbogen.*

*Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.*

### Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

174. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Heft 4/6.
		Seite
Gigon, Alfred.	Insulin und Hypophysisekretin in ihrer Wirkung auf einige Blutbestandteile . . . . .	257
Fehér, D. und St. Vágl.	Untersuchungen über die Einwirkung von Nitriten auf das Wachstum der Pflanzen . . . . .	262
Richter, A. F.	Beitrag zur Begründung der Ausdrücke $r_{(n)}$ und $r_{(p)}$ von D. Giribaldo . . . . .	271
Wwedensky, Nikolaus.	Über den Einfluß des Insulins auf die Magensekretion . . . . .	276
Nitschke, A. und H. J. Freyschmidt.	Über die Zustandsform des Calciums im Serum . . . . .	287
Rona, P. und Ken Iwasaki.	Beiträge zur Frage der Glykolyse. VI. Mitteilung: Über die Verteilung des Phosphors im Blute . . . . .	293

*Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.*



## **Insulin und Hypophysisextrakt in ihrer Wirkung auf einige Blutbestandteile.**

Von  
**Alfred Gigon.**

(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik Basel.)

(Eingegangen am 8. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

In früheren Untersuchungen konnte der Nachweis erbracht werden, daß eine Insulininjektion beim gesunden nüchternen Individuum regelmäßig ein deutliches Sinken des Gesamtkohlenstoffs und des Gesamtstickstoffs, ein entsprechendes Steigen des Wassers des Blutes verursacht<sup>1)</sup>.

Diabeteskranke verhielten sich verschieden. Während die größte Mehrzahl, und zwar durchaus die schweren Diabetesfälle, auf Insulin mit einem Sinken des Kohlenstoffs reagierten, zeigten einige Fälle unter den gleichen Bedingungen ein paradoxes Steigen der Kohlenstoffwerte im Blute<sup>2)</sup>.

Unsere weiteren, hier mitzuteilenden Untersuchungen geben die wahrscheinliche Erklärung dieses paradoxen Verhaltens an.

Hypophysisextrakt erzeugt beim nüchternen gesunden Tiere eine leichte vorübergehende Steigerung des Blutzuckers. Es gelang uns außerdem nachzuweisen, daß es ein Sinken des Blutkohlenstoffs und des Blutstickstoffs, ferner eine Steigerung des Wassergehalts des Blutes erzeugt.

Die Prüfung der Beeinflussung der Insulinwirkung durch Hypophysispräparate (angewandt wurde Pituglandol) ergab interessante Resultate.

Werden 1,5 ccm Insulin *Sandoz* und 1 ccm Pituglandol gleichzeitig, jedoch nicht in der gleichen Lösung, injiziert, so erhielten wir im Blut

---

<sup>1)</sup> *Gigon*, Asher-Spiros *Ergebn. d. Physiol.* **24**, 1925; daselbst Literatur.

<sup>2)</sup> *Gigon* und *Brauch*, *Zeitschr. f. d. ges. exper. Med.* **40**, 688, 1926.

folgende Veränderungen: Der Blutzucker sinkt, Blut-C und Blut-N sinken ebenfalls, und das Wasser steigt.

*Beispiel.* Versuch 110. Kaninchen 22.

Im Gesamtblut:	C Proz.	N Proz.	Wasser Proz.	Zucker Proz.
2h30'	9,52	2,71	82,45	0,085
2 35	1,5 ccm Insulin + 1 ccm Pituglandol			
3 35	8,88	2,70		0,042
4 35	8,68	2,50	83,55	0,035
5 35	8,64	2,52		0,043

Das Tier erholte sich ohne Traubenzuckerinjektion. Die untersuchten chemischen Blutkomponenten verhielten sich wie nach Insulin allein. Klinisch möchte ich behaupten, daß die gleichzeitige Pituglandolinjektion die Insulinwirkung ein wenig abgeschwächt hat.

Spritzt man das Insulin 48 Stunden nach der Pituglandolinjektion ein, so erhält man ein ganz anderes Resultat:

*Beispiel.* Versuch 76. Kaninchen 20. Vor 48 Stunden 1 ccm Pituglandol.

Im Gesamtblut:	C Proz.	N Proz.	Wasser Proz.	Zucker Proz.
8h45'	8,63	2,48	82,22	0,09
9 00	1,5 ccm Insulin subkutan			
11 00	9,22	2,66	81,59	0,07
11 30	Schwache Krämpfe			
12 00	8,40	2,54	82,22	0,065

Erholt sich rasch ohne Traubenzucker.

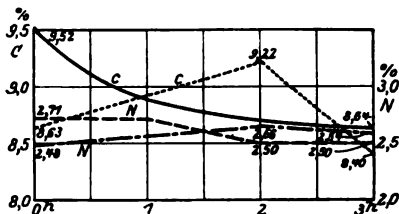


Abb. 1. Verlauf des C und N im Blut bei Versuch 110 und 76.

— C } bei schwerem Diabetes. Normales Verhalten nach Insulininjektion.  
 — N }  
 - - - C } paradoxes Verhalten.  
 - - - N }

Die Insulinwirkung ist klinisch außerordentlich abgeschwächt. Überraschend ist aber der Einfluß auf das Blut. Hier hat das Insulin eine Steigerung des C und des N verursacht (Abb. 1), d. h. die Vorbehandlung mit Pituglandol hat zum gleichen paradoxen Verhalten des Organismus nach Insulin geführt, wie das abnorme Verhalten der

oben erwähnten Diabetesfälle. Der Schluß erscheint berechtigt, daß der Organismus je nach der Konstellation der hormonalen Tätigkeit, was die untersuchten Blutkomponenten anbelangt, auf Insulin bald mit einem Sinken, bald mit einem Steigen antwortet. Wir werden in manchen Fällen von Diabetes eine primäre Hypophysiskomponente annehmen müssen, und zwar vorwiegend in denjenigen leichteren Grades.

Es war interessant zu prüfen, ob solche Diabetiker, die auf Insulin mit Steigen des C reagieren, ebenfalls eine paradoxe Pituglandolwirkung aufweisen.

Ein Versuch bei einer Patientin mit leichter Diabetes bestätigte unsere Vermutung.

Frau B. 65 Jahre.

Paradoxe Insulinwirkung			Pituglandolwirkung				
Im Blute:	C Proz.	N Proz.	Im Blute:	C Proz.	N Proz.	H <sub>2</sub> O Proz.	Zucker Proz.
9h15'	10,21	3,08	8h30'	10,08	2,69	80,5	0,25
9 30	2 ccm Insulin		9 00	1 ccm Pituglandol			
10 30	10,72	3,11	10 00	10,60	2,83	79,61	0,245
11 30	10,85	3,14	11 00	10,20	2,79		
2 30	11,26	3,09	12 00	10,48	2,87	80,21	0,227

Zwei weitere Fragen gehen aus unseren Versuchen hervor.

1. Ist es möglich, durch Vorbehandlung des Organismus mit Hormonsubstanzen eine paradoxe Wirkung auf andere Hormone als Insulin zu erhalten? Diese Frage können wir bejahen.

Wie ich schon mitteilen konnte, erzeugt Adrenalin beim nüchternen gesunden Organismus ein Steigen des Blutkohlenstoffs. Wie reagiert nun ein Organismus auf Adrenalin, wenn er unter Insulin ein Steigen des C im Blute aufweist? Folgender Versuch illustriert sein Verhalten.

Versuch 72. Kaninchen 20 hat vor 48 Stunden Pituglandol erhalten.

Im Gesamtblut:	C Proz.	N Proz.	Wasser Proz.	Zucker Proz.	pH
8h20'	7,90	2,32	83,61	0,125	7,43
8 30	1,9 ccm Insulin				
10 30	8,44	2,52	83,10	0,049	7,52
10 40	1 ccm Adrenalin				
11 30	8,46	2,40	83,48	0,069	7,27
2 00	Krämpfe . . . .	7,86	84,16		
2 40				0,019	7,50
2 45'	1 ccm Adrenalin				
3 40	8,60	2,45	82,95	0,065	7,38
5 10	7,87	2,45	83,82		

Wird beim nicht vorbehandelten Tiere im Zustand der Insulin-intoxikation Adrenalin injiziert, so steigen C und N stark an. Im Versuch 72 beobachteten wir ein Sinken des N und eine Unbeeinflussung des C.

Das verschiedene Verhalten der Organismen gegenüber Adrenalin erfährt somit eine plausible Erklärung.

2. 48 Stunden nach einer Pituglandolinjektion ist die vorübergehende nachweisbare Wirkung auf die Blutzusammensetzung schon längst abgeklungen. Es erhebt sich nun die Frage, ob es möglich ist, andere Veränderungen im Organismus nach dieser Zeit zu finden. Dazu haben wir Quellungsversuche am Frosche gewählt.

Werden Muskelstücke eines gesunden Frosches in Ringer- oder Tyrodelösung gebracht, so nehmen sie durch Quellung zu; in der Regel nach 2 Stunden um etwa 20 bis 30 Proz. ihres Ausgangsgewichts.

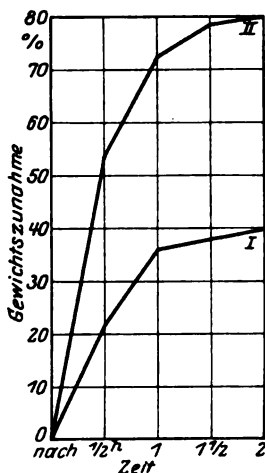


Abb. 2.

- I. Muskel des gesunden Frosches in Ringer.  
 II. Muskel des mit Pituglandol vorbehandelten Frosches in Ringer.

Injiziert man einem Frosche Pituglandol unter die Rückenhaut und bestimmt 48 Stunden später das Quellungsvermögen seiner Schenkelmuskulatur, so erhalten wir eine gegenüber dem normalen Tiere gewaltige Steigerung des Quellungsvermögens. Die Gewichtszunahme der Muskelstücke in Ringer beträgt nach 2 Stunden 70 bis 80 Proz. des Ausgangsgewichts, Werte, die völlig außerhalb der Fehlerquellen liegen (Abb. 2).

Interessant ist, daß diese Pituglandolwirkung nach 48 Stunden am intensivsten ist, gerade nach der Zeit, nach welcher das Pituglandol die paradoxe Insulinwirkung am deutlichsten erzeugt. Diese nachhaltige Wirkung der einzigen Injektion eines Hormons war meines Wissens bisher nicht bekannt.

Diese Versuche zeigen, daß hormon-ähnliche Stoffe nicht nur in minimalen Mengen wirken können, sondern daß sie längere Zeit, ja 2 Tage und mehr nach einer einzigen Injektion nachweisbare Veränderungen im Organismus hinterlassen.

Ferner ergibt es sich, daß offenbar, je nach der vorhandenen hormonalen Konstellation im Organismus, die Wirkung einer Hormonsubstanz verschieden ausfallen kann. Eine klinische Beobachtung, die auf Grund dieser Ergebnisse gemacht wurde, mag hier zum Schluß erwähnt werden. Von *Vollmer* und anderen wurde nachgewiesen, daß

Hypophysisextrakte beim gesunden Organismus eine diuresehemmende Wirkung ausüben. Aus den hier mitgeteilten experimentellen Resultaten ist die Vermutung berechtigt, daß diese diuresehemmende Wirkung in pathologischen Fällen nicht immer zutreffen wird. Von dieser Überlegung ausgehend, habe ich bei einer 76jährigen Patientin mit Myodegeneratio et insufficientia cordis, die auf Digitalis und Euphyllin nicht reagierte, Pituglandolinjektionen angewandt, mit dem Ergebnis, daß auf diese Injektionen eine deutliche Diurese eintrat.

Bei der Ausführung der Analysen ist mir Dr. *Brauch* behilflich gewesen, dem ich hier bestens danke.

---

## Untersuchungen über die Einwirkung von Nitriten auf das Wachstum der Pflanzen.

Von

D. Fehér und St. Vági.

(Aus dem botanischen und forstlich-chemischen Institut der k. ungar.  
Hochschule für Berg- und Forstingenieure in Sopron.)

(Eingegangen am 11. Mai 1926.)

Wir haben bereits in unserer ersten Mitteilung (1) über unsere Untersuchungen über die Einwirkung von Nitriten auf das Wachstum der Pflanzen berichtet. Der ursprüngliche Zweck unserer diesbezüglichen Untersuchungen war: gewisse Anhaltspunkte für die Beurteilung der biochemischen Wirkung der Nitrite, die ja auch in den Alkaliböden analytisch nachgewiesen wurden, zu gewinnen.

Im Laufe dieser Untersuchungen konnten wir bereits auf Grund unserer Vegetationsversuche einwandfrei nachweisen, daß Nitritmengen, welche den analytisch ermittelten höchsten Nitritgehalt der ungarischen Alkaliböden fast 1000mal übertreffen, noch keinen schädlichen Einfluß auf das Pflanzenwachstum ausüben, und selbst die Mengen von 0,3883 bis 0,5414 g pro 1000 g bzw. 0,0003883 bis 0,0005414 g  $N_2O_3$  pro 1 g lufttrockenen Bodens ohne merklichen physiologischen Einfluß geblieben sind (2).

In Anbetracht dieser Tatsachen haben wir uns entschlossen, unsere Vegetationsversuche mit noch größeren Nitritmengen fortzusetzen und gleichzeitig auch die Absorption von Nitriten seitens der Versuchspflanzen auf analytischem Wege zu bestimmen.

Zu diesem Behufe haben wir zwei Versuchsreihen angelegt, die in dem Folgenden mit I. und II. bezeichnet werden. Die Versuchsreihe I umfaßt Versuche, welche mit verschiedenen Bodenarten mit Zugabe von Nitritlösungen, deren  $N_2O_3$ -Gehalt vorher mit dem *Feldhaus-Kubelischen* Verfahren analytisch ermittelt wurde, durchgeführt waren.

Die Untersuchungen der Versuchsreihe II umfassen dagegen jene Versuche, welche zur Ermittlung der Einwirkung von Nitriten in Nährlösungen, sowie zur Bestimmung der Absorptionen in Gang gesetzt wurden.

## Versuchsreihe I.

Bei diesen Versuchen haben wir verschiedene Arten von Böden im lufttrockenen Zustand verwendet. Die vorbereiteten Bodenproben von je 1000 g kamen in breite zylindrische Vegetationsgefäße aus Jenenser Glas und wurden sodann mit  $\text{NaNO}_2$ -Lösungen, deren  $\text{N}_2\text{O}_3$ - bzw. N-Gehalt vorher analytisch ermittelt wurde, gründlich vermischt. Die Versuchspflanzen bzw. Samen wurden erst nach Beendigung dieser vorbereitenden Maßnahmen eingesetzt.

Tabelle I.

## Versuchsreihe I. Versuch 1.

Je 20 Stück vorgekeimte Samen von *Triticum vulgare*.

Nr.	Bodenmenge	An-gesetzte $\text{NaNO}_2$ -Lösung ccm	Gehalt der Lösung g pro ccm		Gesamtmenge der angesetzten				Beginn des Versuchs	Beobachtungen	
			$\text{N}_2\text{O}_3$	N	$\text{N}_2\text{O}_3$ in g		N in g			26. XI. 1924	27. XI. 1924
					total	pro ccm	total	pro ccm			
1	Je 1000 g Gartenerde	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	2. X. 1924	Normal	Normal
2		100	0,00594	0,00219	0,594	0,000594	0,219	0,000219			
3		150	0,00594	0,00219	0,891	0,000891	0,32850	0,00032850			
4		200	0,00594	0,00219	1,188	0,001188	0,438	0,000438			
5		300	0,00594	0,00219	1,782	0,001782	0,657	0,000657			

Dieser Versuch zeigte uns, daß 0,59 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro 1000 g Erde noch keine Giftwirkung ausübt, während 1,188 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  unter den gleichen Verhältnissen in kurzer Zeit tödlich wirken kann. Nachdem die Proben 3 bis 5 starke Überzüge von Schimmelpilzen zeigten und die Erde in den Versuchsgefäßen sauer reagierte, wurde der Versuch unter anderen Bedingungen nochmals angesetzt, und zwar derart, daß die Versuchsgefäße sorgfältig sterilisiert wurden und die verabfolgten Wassermengen infolge der Erhöhung der Konzentration der Nitritlösung erheblich vermindert wurden.

Tabelle II.

## Versuchsreihe I. Versuch 2.

Je 20 Stück etwa 20 cm lange Keimlinge von *Triticum vulgare*.

Nr.	Bodenmenge	Zu-gesetzte $\text{NaNO}_2$ -Lösung ccm	Gehalt der Lösung g pro ccm		Gesamtmenge der angesetzten				Beginn des Versuchs	Beobachtungen	
			$\text{N}_2\text{O}_3$	N	$\text{N}_2\text{O}_3$ in g		N in g			26. XI. 1924	27. XI. 1924
					total	pro ccm	total	pro ccm			
1	Je 1000 g Gartenerde	Kontr.	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	13. XI. 1924	Normal	Ab-gestorben
2		10	0,06537	0,02410	0,6537	0,0006537	0,2410	0,0002410			
3		15	0,06537	0,02410	0,98055	0,00098055	0,36150	0,00036150			
4		20	0,06537	0,02410	1,3074	0,0013074	0,4820	0,0004820			
5		25	0,06537	0,02410	1,63425	0,00163425	0,60250	0,00060250			

Bemerkung: Die Kulturen waren auch beim Abbruch der Versuche vollkommen schimmelfrei.

Dieser Versuch zeigte uns, daß bei der von uns verwendeten Bodenart (Gartenerde) die Grenze der tödlichen Giftwirkung zwischen 0,6537 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  und 0,9805 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro 1000 g Erde liegt. Der Kontrollversuch und

die Pflanzen in dem Gefäß I waren vollkommen intakt und zeigten beim Abbruch des Versuchs recht üppiges Wachstum.

Nach der Beendigung des Versuchs wurde die Probe I, welche keine Vergiftungserscheinungen aufwies, mit 1500 ccm destillierten Wassers ausgelaugt, und die Menge von  $N_2O_3$  analytisch bestimmt. In 1000 g Boden wurden auf diese Art 0,19801 g  $N_2O_3$  bzw. 0,07 299 g N nach dem *Feldhaus Kubelischen* Verfahren bestimmt. Es fehlten daher in der Probe:

$$\begin{array}{r} 0,65370 \\ - 0,19801 \\ \hline 0,45569 \text{ g } N_2O_3 \end{array}$$

Diese Menge wurde wahrscheinlich teilweise durch das Wurzelsystem der Versuchspflanzen absorbiert und teilweise durch die reiche Bakterienflora der angewendeten Gartenerde im Wege der Nitrifikation verändert. Um die Grenze der tödlichen Giftwirkung näher bestimmen zu können, haben wir uns entschlossen, einen dritten Versuch mit teilweise modifizierten Bedingungen anzustellen.

Tabelle III.

## Versuchsreihe I. Versuch 3.

Je 20 Stück etwa 20 cm lange Weizenkeimlinge.

Nr.	Bodenmenge	Zu- gesetzte $NaNO_2$ - Lösung in 100 ccm Wasser	Gehalt der Lösung g pro ccm		Gesamtmenge in g				Beginn des Versuchs	Be- obachtungen 19. XII 1924
			$N_2O_3$	N	$N_2O_3$		N			
					total	pro ccm	total	pro ccm		
1	je 1000 g Gartenerde	Kontrolle	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	$\theta$	30. XI. 1924	Normal
2		10	0,06318	0,02329	0,6318	0,0006318	0,2329	0,0002329		"
3		11	0,06318	0,02329	0,69498	0,00069498	0,25619	0,00025619		"
4		12	0,06318	0,02329	0,75816	0,00075816	0,27948	0,00027948		"
5		13	0,06318	0,02329	0,82134	0,00082134	0,30277	0,00030277	30. XI. 1924	"
6		14	0,06318	0,02329	0,88452	0,00088452	0,32606	0,00032606		} Ab- gestorben
7		15	0,06318	0,02329	0,94770	0,00094770	0,34935	0,00034935		

I

Aus den Resultaten dieses Versuchs könnten wir feststellen, daß die Pflanzen des Gefäßes 6 mit  $14 \times 0,06318 \text{ g } N_2O_3 = 0,88452 \text{ g } N_2O_3$  pro 1000 g Gartenerde vollkommen zugrunde gingen. Der Versuch wurde unter Nr. 4 mit dem gleichen Erfolg wiederholt. *Bei 0,88452 g  $N_2O_3$  pro 1000 g Erde sind in 20 Tagen sämtliche Versuchspflanzen abgestorben.*

Die Grenze der tödlichen Giftwirkung liegt daher zwischen 0,88452 bis 0,82134 g  $N_2O_3$  pro 1000 g oder 0,00088 bis 0,00082 g  $N_2O_3$  pro Gramm Gartenerde.

Auf Grund der in den Versuchen 1 bis 4 gewonnenen Resultate haben wir die Wirkung der angewendeten starken Nitritdosen in verschiedenen Bodenarten erprobt. Die Versuche sind vollkommen analog den Versuchen 3 und 4 durchgeführt worden. Zur Verwendung gelangten folgende Bodenarten:

- I. Kompostreiche Gartenerde aus dem botanischen Garten.
- II. Ein schwerer Tonboden.
- III. Ein loser Sandboden.



Von der Veröffentlichung der diesbezüglichen Versuchsprotokolle haben wir abgesehen, da die Durchführung der Versuche den vorher beschriebenen vollkommen ähnlich geschah. *Die Resultate haben jedoch ganz einwandfrei bewiesen, daß in dem Sande und schweren Tonboden die letale Grenze die gleiche war, während der kompostreichen Gartenerde mehr Nitrite zugesetzt werden mußten, um die gleiche tödliche Wirkung erzielen zu können.*

In dem Ton und Sandboden genügten wieder 14 ccm der  $\text{NaNO}_2$ -Lösung mit 0,06318 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro Kubikzentimeter Gehalt, bis in der humusreichen Gartenerde die tödliche Dosis zwischen 15 und 16 ccm der obigen  $\text{NaNO}_2$ -Lösung schwankte. In  $\text{N}_2\text{O}_3$  und N berechnet:

Bodenart	Letale Dosis			
	$\text{N}_2\text{O}_3$ g		N g	
	pro 1000 g	pro g	pro 1000 g	pro g
Tonboden . . . . .	0,884 52	0,000 88	0,326 06	0,000 33
Sandboden . . . . .	0,884 52	0,000 88	0,326 06	0,000 33
Humusreicher Gartenboden	0,947 70	0,000 95	0,349 35	0,000 35
	bis	bis	bis	bis
	1,010 88	0,001 1	0,372 61	0,000 37

Die höheren Dosen in der Gartenerde sind nach unserer Ansicht mit der reichen Bakterienflora und der daran geknüpften regen Nitrifikation zu erklären, welche die Nitrite teilweise verändert bzw. zerstört.

Die Resultate der ersten Versuchsreihe haben ganz einwandfrei ergeben, daß 0,88452 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  in 1000 g Erde noch keine letale Wirkung ausüben. Die jetzt gewonnenen Ergebnisse haben daher in Übereinstimmung mit unseren früheren Resultaten ganz klar gezeigt, daß die kaum 0,5 bis 1 mg pro 1000 g Boden betragenden Nitritmengen, welche in den bis jetzt untersuchten ungarischen Alkaliböden vorkommen, auf die Pflanzenvegetation keinen schädigenden Einfluß ausüben können.

### Versuchsreihe II.

Bei diesen Versuchen haben wir die Absorption der Nitrite sowie deren schädigende Wirkung in wässrigen Lösungen von  $\text{NaNO}_2$  sowie Nährlösungen, welchen Nitritlösungen verschiedener Konzentrationen zugesetzt wurden, untersucht.

Die Vegetationsversuche haben wir wieder in zylindrischen Glasgefäßen mit etwa 1 Liter Inhalt aus Jenenser Glas durchgeführt. Die Gläser waren mit passenden Glasringen versehen, welche dann mit sterilem Organtüll überzogen wurden.

Für die Absorptionsversuche haben wir eine sehr einfache Apparatur zusammengestellt, welche unten beschrieben wird. Als Untersuchungsobjekt haben wir wieder *Triticum vulgare* gewählt. Die Samen waren ausgewählt und bei einigen Versuchen vorgekeimt.

Bei den Versuchen der Versuchsreihe II, wo auch die Absorption bestimmt wurde, haben wir zylindrische Glasgefäße aus Jenenser Glas verwendet, die mit gehärtetem Filterpapier bedeckte Glasdreiecke für die Pflanzen bekamen. Die Gefäße wurden sodann bis zu der pünktlich markierten Niveauhöhe der Dreiecke angefüllt und der Inhalt bis zu der

jeweiligen Höhe ebenfalls genau ermittelt. Diese Methodik hat sich bei unseren Versuchen als recht brauchbar erwiesen. Eine Ausnahme bildet Versuch 1, wo noch die bei der ersten Versuchsreihe angewendete Apparatur benutzt wurde.

Bei Versuch 1 haben wir hauptsächlich die Einwirkung der  $\text{NaNO}_2$ -Lösung auf die Keimung untersucht, und Messungen wurden nur auf das Längenwachstum der Stämmchen ausgedehnt. Die Daten zeigt Tabelle IV:

Die Resultate dieses Versuchs haben gegen alle Erwartung gezeigt, daß Nitritmengen in dem Ausmaße von 0,00081 g pro Kubikzentimeter destillierten Wassers, welche in der gleichen Bodenmenge bereits tödlich wirken, in wässrigen Lösungen die Keimung und das Wachstum kaum merklich beeinflussen. Absorption wurde nur beim Gefäß Nr. 3 gemessen. Sie war ziemlich bedeutend und betrug pro Pflanze in 3½ Tagen fast 2,224 Proz. der zugesetzten Nitritdosis.

Beim Versuch 2 (s. Tabelle V) haben wir die  $\text{N}_2\text{O}_3$ -Dosen bis 0,0013 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro Kubikzentimeter gesteigert, ohne die letale Grenze erreicht zu haben. Es konnte sogar bei den schwachen Dosen bis ungefähr 0,00038 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro Kubikzentimeter eine schwach stimulierende Wirkung beobachtet werden. Eine merkliche Abnahme des Wachstums hat sich erst beim Gefäß Nr. 8 mit dem höchstem Nitritgehalt bemerkbar gemacht. Dagegen war die Keimung bei den höheren Konzentrationen bereits merklich beeinflußt. Die Absorption war auch hier bedeutend und zeigte mit zunehmender Konzentration merkliche Steigerung.

Der Versuch wurde mit vorgekeimten Samen unter Nr. 3 wiederholt. Eine hemmende Wirkung der Nitrite könnte auch hier erst bei den ungewöhnlich starken Dosen von 0,0011 g pro Kubikzentimeter bemerkt werden. Da die Resultate dieses Versuchs im wesentlichen neue Ergebnisse nicht zeigten, so haben wir von der detaillierten Veröffentlichung derselben abgesehen. Beim Versuch 4 wurde die Dosierung bis 0,0019  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro Kubikzentimeter daher fast um 2 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro 1000 ccm gesteigert, ohne die letale Dosis erreichen zu können. Die Absorption verlief auch hier derart, daß mit steigendem  $\text{N}_2\text{O}_3$ -Gehalt auch die Menge der aufgenommenen Nitrite allmählich größer wurde. Die schwachen Dosen von 0,00018 und 0,00036 g wirkten stimulierend.

Um unsere bisherigen Resultate besser vergleichen zu können, haben wir parallele Versuche mit Nährlösungen angesetzt. Nach einigen Vorversuchen wurde Versuch 5 angesetzt. Die Nährlösung wurde nach Crone bereitet. Bei diesem Versuch haben wir die Menge der  $\text{N}_2\text{O}_3$  bis 0,0037 g pro Kubikzentimeter bzw. bis 3,72 g pro 1000 ccm gesteigert.

Die Pflanzen in der Nährlösung haben viel stärkeres Wachstum gezeigt. Die stimulierende Wirkung hat sich auch hier bei den Dosen von 0,000062 bis 0,00062 g  $\text{N}_2\text{O}_3$  pro Kubikzentimeter gezeigt. Bei der höchsten Dosierung wurde die Keimung bedeutend gehemmt, desgleichen die Entwicklung des Stammes und der Wurzel. Das Wachstum der letzteren war besonders stark zurückgeblieben.

Wenn man nun die Resultate der ersten und zweiten Versuchsreihe vergleicht, so sieht man gleich, daß die Pflanzen, welche in wässrigen Lösungen erzogen und kultiviert wurden, viel höhere Dosen von  $\text{N}_2\text{O}_3$  ertrugen als die Versuchspflanzen in den untersuchten Böden.

Tabelle IV. Versuchsreihe II. Versuch Nr. 1. Triticum vulgare.

Nr.	Menge des dest. Wassers	Menge der $\text{NaNO}_2$ -Lösung in ccm	Menge der $\text{N}_2\text{O}_3$ g				N g		Zahl der ausgesäten Samen	Zahl der ausgekeimten Samen	Am Ende des Versuchs durchschnittl. Länge		Versuchsdauer			$\text{N}_2\text{O}_3$ Absorption pro Pflanze	Absorption pro Pflanze in Proz. der ursprünglichen Menge		
			total		pro ccm		Stamm	Wurzel			beim Beginn	am Ende	ab, sorbiert						
			total	pro ccm	total	pro ccm													
1		0	0	0	0	0	0	50	27	7									
2		2,0	0,125 38	0,000 125 38	0,046 21	0,000 046 21		50	21	5									
3		3,0	0,187 92	0,000 187 92	0,069 26	0,000 069 26		50	28	7									
4		4,0	0,250 76	0,000 250 76	0,092 43	0,000 092 43		50	19	4									
5		5,0	0,313 45	0,000 313 45	0,105 53	0,000 105 53		50	30	6									
6		6,0	0,376 14	0,000 376 14	0,138 64	0,000 138 64		50	31	5									
7		7,0	0,438 83	0,000 438 83	0,161 74	0,000 161 74		50	35	5									
8		8,0	0,501 52	0,000 501 52	0,184 86	0,000 184 86		50	29	5									
9		9,0	0,564 21	0,000 564 21	0,207 96	0,000 207 96		50	38	5									
10	je 1000 ccm	10,0	0,626 90	0,000 626 90	0,231 07	0,000 231 07		50	24	4									
11		11,0	0,689 59	0,000 689 59	0,254 18	0,000 254 18		50	26	4									
12		12,0	0,752 28	0,000 752 28	0,277 29	0,000 277 29		50	32	3									
13		13,0	0,814 97	0,000 814 97	0,300 39	0,000 300 39		50	30	3									
												Vom 30. XII. 1924 bis 12. II. 1925							
												wurde nicht gemessen							
												0,187 92			0,071 00	0,116 92	0,004 18	2,224	

Tabelle V. Versuchsreihe II. Versuch Nr. 2. Versuchspflanze: Triticum vulgare.

Nr.	Menge des dest. Wassers	Menge der $\text{NaNO}_2$ -Lösung in ccm	Menge der $\text{N}_2\text{O}_3$ g				N g		Zahl der ausgesäten Samen	Zahl der ausgekeimten Samen	Am Ende des Versuchs durchschnittl. Länge		Versuchsdauer			$\text{N}_2\text{O}_3$ Absorption pro Pflanze	Proz. der ursprünglichen Menge pro Pflanze		
			total		pro ccm		Stamm	Wurzel			beim Beginn	am Ende	ab, sorbiert						
			total	pro ccm	total	pro ccm													
1		0	0	0	0	0	0	20	15	60									
2		0,2	0,012 52	0,000 125 2	0,004 61	0,000 046 1		20	11	119									
3		0,4	0,025 05	0,000 250 5	0,009 23	0,000 092 3		20	11	90									
4		0,6	0,037 58	0,000 375 8	0,013 85	0,000 138 5		20	12	85									
5		0,8	0,050 11	0,000 501 1	0,018 47	0,000 184 7		20	8	50									
6		1,0	0,062 64	0,000 626 4	0,023 08	0,000 230 8		20	7	63									
7		1,5	0,093 96	0,000 939 6	0,034 63	0,000 346 3		20	2	70									
8	je 100 ccm	2,0	0,125 28	0,001 252 8	0,046 17	0,000 461 7		20	3	53									
												Vom 12. bis 21. II. 1925							
												wurde nicht gemessen							
												0,025 02		0,015 50	0,009 55	0,000 87	3,4775		
												0,037 58		0,023 50	0,014 08	0,001 17	3,1160		

Tabella VI. Versuchsreihe II. Versuch Nr. 4. Versuchspflanze: Triticum vulgare.

Nr.	Menge des dest. Wassers in ccm	Menge der $N_2O_3$ g				Zahl der ausgesäten Samen	Zahl der Verbliebenen Samen	Am Ende des Versuchs durchschnittl. Länge		Menge der $N_2O_3$			Absorption pro Pflanze	Proz. der ursprünlichen Menge auf eine Pflanze	Bemerkungen	
		total		pro ccm				Stamm	Wurzel	Versuchsdauer	beim Beginn	am Ende				ab-sorbiert
		total	pro ccm	total	pro ccm											
		Menge der $NaNO_2$ -Lösung in ccm	N g	pro ccm	total			pro ccm	Stamm	Wurzel	Von 23. II bis 4. III 1925	0,025 30				0,021 20
1	100	θ	—	—	10	10	60	—	—	—	—	—	—	—	—	
2	140	0,4	0,025 30	0,000 180	0,009 32	0,000 066 5	10	80	0,069 58	0,025 20	0,004 10	0,000 410	1,02	—	—	
3	190	1,1	0,069 58	0,000 366	0,025 64	0,000 134 9	10	90	0,128 52	0,059 80	0,009 78	0,000 978	1,4	—	—	
4	225	2,0	0,128 52	0,000 562	0,046 63	0,000 207	10	64	—	—	—	—	—	—	—	
5	225	3,0	0,189 78	0,000 843	0,069 95	0,000 310	10	52	—	—	—	—	—	—	—	
6	190	3,8	0,240 38	0,001 265	0,088 60	0,000 466	10	50	—	—	—	—	—	—	—	
7	125	3,1	0,198 10	0,001 569	0,072 28	0,000 578	10	55	—	—	—	—	—	—	—	
8	120	3,6	0,226 73	0,001 889	0,081 57	0,000 679	10	40	0,226 74	0,211 00	0,015 74	0,001 75	0,77	—	—	

Tabella VII. Versuchsreihe II. Versuch Nr. 5. Versuchspflanze: Triticum vulgare.

Nr.	Menge des dest. Wassers je 1000 ccm	Menge der $NaNO_2$ -Lösung in ccm	Menge der $N_2O_3$ g				Menge der $N$ g				Beobachtungen beim dest. Wasser				Beobachtungen bei Crone-Nährlösung				Versuchsdauer		
			total		pro ccm		total		pro ccm		Aus-gesät Stück	Aus-geleimt Stück	Durchschn. Länge Stamm cm	Wurzel cm	An-gelegt Stück	Aus-geleimt Stück	Durchschn. Länge Stamm cm	Wurzel cm			
			total	pro ccm	total	pro ccm	total	pro ccm													
			Menge des dest. Wassers	Menge der $NaNO_2$ -Lösung	total	pro ccm	total	pro ccm	total	pro ccm	Aus-gesät Stück	Aus-geleimt Stück	Durchschn. Länge Stamm cm	Wurzel cm	An-gelegt Stück	Aus-geleimt Stück	Durchschn. Länge Stamm cm	Wurzel cm			
1	—	θ	—	—	—	—	—	θ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
2	10	1,0	0,0621	0,000 062 1	0,022 89	0,000 022 89	θ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	50	5,0	0,3105	0,000 310 5	0,114 45	0,000 114 45	0,000 228 90	0,000 228 90	100	100	114 45	114 45	100	100	114 45	114 45	100	100	100	100	5
4	100	10,0	0,6210	0,000 621 0	0,228 90	0,000 228 90	0,000 457 80	0,000 457 80	100	100	228 90	228 90	100	100	228 90	228 90	100	100	100	100	4
5	150	15,0	0,9315	0,000 931 5	0,343 35	0,000 343 35	0,000 686 70	0,000 686 70	100	100	343 35	343 35	100	100	343 35	343 35	100	100	100	100	4
6	200	20,0	1,2420	0,001 242 0	0,457 80	0,000 457 80	0,000 915 60	0,000 915 60	100	100	457 80	457 80	100	100	457 80	457 80	100	100	100	100	3
7	300	30,0	1,8630	0,001 863 0	0,686 70	0,000 686 70	0,000 855 60	0,000 855 60	100	100	686 70	686 70	100	100	686 70	686 70	100	100	100	100	2
8	400	40,0	2,4840	0,002 484 0	0,955 60	0,001 955 60	0,001 144 50	0,001 144 50	100	100	955 60	955 60	100	100	955 60	955 60	100	100	100	100	1
9	500	50,0	3,1050	0,003 105 0	1,144 50	0,001 144 50	0,001 369 40	0,001 369 40	100	100	144 50	144 50	100	100	144 50	144 50	100	100	100	100	2
10	600	60,0	3,7260	0,003 726 0	1,369 40	0,001 369 40	—	—	100	100	369 40	369 40	100	100	369 40	369 40	100	100	100	100	1

Um die hauptsächlichsten Daten miteinander besser vergleichen zu können, haben wir dieselben in Tabelle VIII zusammengestellt:

Tabelle VIII.

Nährsubstrat	Höchste Mengen von $N_2O_3$ , die in den Versuchen verwendet wurden		Wirkung
	pro g oder ccm	pro 1000 g oder pro 1000 ccm	
Gartenerde . .	0,000 947 7—1,001 010	0,947 70—1,010 88	} Tödlich
Tonboden . .	0,000 884 52	0,884 52	
Sandboden . .	0,000 884 52	0,884 52	
Versuch Nr. 1	0,000 814 97	0,814 97	} Keimung und Wachstum gehemmt ohne letale Wirkung
" " 2	0,001 252 8	1,252 8	
" " 3	0,001 114	1,114 0	
" " 4	0,001 889	1,889	
" " 5	0,003 725	3,726 0	

Worauf das verschiedene Verhalten der Versuchspflanzen zurückzuführen ist, können wir heute nicht sagen. Vielleicht werden uns die noch im Gange befindlichen weiteren Versuche darüber Aufklärung bringen. Desgleichen werden wir die letale Grenze der  $N_2O_3$ -Dosierung in wässrigen Nährsubstraten ebenfalls im Laufe weiterer Versuche bestimmen müssen (3).

#### Zusammenfassung.

1. Die von den Versuchspflanzen ohne Schädigung ertragenen Nitritmengen übertrafen um ein Vielfaches den Nitritgehalt der ungarischen Alkaliböden. Der analytisch ermittelte Nitritgehalt derselben kann daher nicht als die Ursache der Unfruchtbarkeit dieser Böden betrachtet werden.

2. Der Nitritgehalt der ungarischen Alkaliböden nach *Treitz* (2) betrug 0,27 bis 1,14 mg pro 1000 g Boden. Diese geringe Nitritmenge war bei unseren Vegetationsversuchen ohne merklichen Einfluß auf das Pflanzenwachstum. Die letale Grenze wurde in Ton- und Sandböden bei 0,88452 g  $N_2O_3$  und in den humusreichen Gartenerden erst bei 0,94770 bis 1,01088 g  $N_2O_3$  pro 1000 g Boden erreicht.

3. Jene Nitritmengen, welche bei den untersuchten Kulturböden die letale Wirkung hervorgerufen haben, waren in den Wasserkulturen fast ohne merklichen Einfluß auf die Versuchspflanzen geblieben. Eine merkliche Hemmung des Wachstums und der Keimung konnte erst bei 1,2528 bis 3,7260 g  $N_2O_3$  pro 1000 ccm beobachtet werden, ohne dabei die letale Grenze überschritten zu haben.

4. Die Erklärung dieser Tatsache kann erst durch weitere bereits in Gang gesetzte Versuche entschieden werden.

5. Die Absorption war ziemlich bedeutend. Die absoluten Werte derselben stiegen im allgemeinen mit der Zunahme der Nitritgaben,

der prozentuale Anteil der Absorption fiel dagegen mit der Steigerung der Nitritdosen.

6. Wo die Hemmung des Wachstums eingetreten ist, war dieselbe bei den Wurzeln st  rker aufgetreten als bei den oberirdischen Stammteilen. Dieselben reagieren daher intensiver auf die sch  digende Wirkung der erh  hten Nitritdosen.

#### Literatur.

1) *F  her* und *V  gi*, diese Zeitschr. **153**, 156, 1924. — 2) Siehe noch *Zsilinsky* und *Tre  tz*,   ber die Aufbesserung der Szikb  den 1924. — 3) Siehe noch *Prianischnikow*, *Ergebn. d. Biol.* 1926.

---

**Beitrag zur Begründung  
der Ausdrücke  $r_{(a)}$  und  $r_{(p)}$  von D. Giribaldo.**

Von

**A. F. Richter.**

(Aus dem chemischen Seminar der Masaryk-Universität Brünn.)

(Eingegangen am 11. Mai 1926.)

Unter der aktuellen Reaktion ist nach *D. Giribaldo*<sup>1)</sup> das Verhältnis  $r = \frac{[H']}{[OH']}$  zu verstehen, weil „die isolierte Bestimmung der Konzentration der Wasserstoffionen nicht die wirkliche aktuelle Reaktion, sondern nur einen Bestandteil derselben betrifft“.

Um zwischen den Ausdrücken der Aktualität, Potentialität und Normalität zu unterscheiden, werden für deren Verhältnisse die Bezeichnungen  $r_{(a)}$ ,  $r_{(p)}$  und  $r_{(n)}$  eingeführt.

Die Größe:

$$l r_{(a)} = l \frac{[H']}{[OH']} = \log \frac{[H']}{[OH']} = 2 \log [H'] - \log K_w \quad (1)$$

$$= \log K_w - 2 \log [OH'] \quad (2)$$

ist wohl gut definiert. Es ist einleuchtend, daß der Vorteil von  $l r_{(a)}$  gegenüber  $p_H$  von *Sørensen* in der unmittelbaren Angabe der Art der Reaktion besteht, was auch bei der graphischen Darstellung der Änderungen der  $[H']$  deutlich hervortritt.

Die Betrachtung der Tabelle II<sup>2)</sup> lehrt, daß  $l r_{(n)} = l r_{(a)} + l r_{(p)}$ , was auch im Text aus dem Ausdruck für den Grad der Potentialität:

$$\frac{l r_{(p)}}{l r_{(n)}} = 1 - \frac{l r_{(a)}}{l r_{(n)}}$$

zu erlesen ist.

<sup>1)</sup> *D. Giribaldo*, diese Zeitschr. 163, 8; An. de la soc. esp. de física y química 22, 565, 1924.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 163, 12.

Unter der Annahme der völligen Dissoziation — die belanglos für die Berechnung von  $lr_{(n)}$  erscheint, da man die eigentlichen  $[H^+]$  und  $[OH^-]$  nicht bestimmt — darf man wohl in den Gleichungen (1) und (2), die für  $lr_{(a)}$  gelten,  $\log [H^+]$  durch  $\log$  der Normalität der Säure:  $\log N_A$ , und  $\log [OH^-]$  durch  $\log$  der Normalität der Base:  $\log N_B$  ersetzen. Man braucht jedoch zwischen  $N_A$  und  $N_B$  nicht zu unterscheiden, und demzufolge wird man die Gleichung (2) entbehren können, wenn man  $N_B$  durch hypothetische Wasserstoffionenkonzentration ausdrückt. Diese sei  $[H_h]$  bezeichnet.

Die Summe der aktuellen und potentiellen Teile gleicht  $N$ .

$$[H^+] + [H] = N; \quad [OH^-] + [OH] = N.$$

Bei der Annahme der totalen Dissoziation  $[H]$  bzw.  $[OH] = 0$ . Für die Säure gilt dann:  $[H_h] = N$ . Die Normalität einer Base wird mit Hilfe der Dissoziationskonstante des Wassers und  $[H_h]$  folgendermaßen berechnet:

$$\begin{aligned} [OH_h][H_h] &= K_w, \\ [OH_h] &= N, \\ [H_h] &= \frac{K_w}{N}. \end{aligned}$$

Sodann wird:

$$lr_{(a)} = lr_{(n)} = 2 \log [H_h] - \log K_w$$

und

$$r_{(n)} = \frac{[H_h]^2}{K_w}. \quad (3)$$

Vergegenwärtige man sich, daß im Sinne des Vorschlages von Friedenthal „die aktuelle Reaktion der Lösungen — sei es Lauge oder Säure — durch  $[H^+]$  auszudrücken“, die Charakterisierung der Normalität der Lösungen — sei es Lauge oder Säure — durch  $[H_h]$  durchgeführt wurde.

In der folgenden Tabelle werden die  $[H_h]$ -Werte für Säure, Wasser und Lauge angeführt.

$$K_w \text{ } 15^\circ = 0,46 \cdot 10^{-14} \text{ (Lunden).}$$

		$[H_h]$	$-\log [H_h]$
Säure	$10^1$ n	$10^1$	— 1
	$10^0$ n	$10^0$	0
	↓ $10^{-1}$ n	$10^{-1}$	1
Wasser		$10^{-7,17}$	7,17
Lauge	↑ $10^{-1}$ n	$10^{-13,34}$	13,34
	$10^0$ n	$10^{-14,34}$	14,34
	$10^1$ n	$10^{-15,34}$	15,34



Die Berechnung von  $lr_{(p)}$  unter Berücksichtigung des Vorstehenden ergibt:

$$lr_{(p)} = \log \frac{[H_h]^2}{K_w} - \log \frac{[H']^2}{K_w}. \quad (4)$$

Falls  $K_w$  in  $lr_{(n)}$  und  $lr_{(p)}$  identisch sind, gilt:

$$r_{(p)} = \frac{[H_h]^2}{[H']^2}, \quad (5)$$

$$r_{(p)} \begin{cases} > 1 \text{ Saure Funktion} & [H'] < [H_h] = N \\ = 1 \text{ Neutrale Funktion} & [H'] = [H_h] = 10^{\frac{p}{2}} \text{H}_2\text{O} \\ < 1 \text{ Basische Funktion} & [H'] > [H_h] = N \end{cases}$$

Der Ausdruck  $lr_{(n)}$  — der die Normalität quantitativ und qualitativ bestimmen soll — ist abhängig vom  $K_w$ -Wert. Die Dissoziationskonstante des Wassers eventuell deren negativer Logarithmus, der üblich als  $p_{\text{H}_2\text{O}}$  bezeichnet wird, ändert sich also stark mit der Temperatur.

Es wäre anzunehmen, daß  $p_{\text{H}_2\text{O}}$  gleich 14,14, der für die Berechnung von  $lr_{(n)}$  benutzt wurde, sich auf die Normaltemperatur bezieht, leider bringt es die Tabelle II<sup>1)</sup> nicht zur Evidenz. Demzufolge wäre es wünschenswert, die Angabe von  $p_{\text{H}_2\text{O}}$  oder eine Tabelle, die diesbezügliche Temperaturabhängigkeit angibt, anzuführen; um so mehr, da der Autor für die Normaltemperatur (um  $lr_{(n)}$  zu berechnen) und die des Blutes (um  $lr_{(a)}$  zu berechnen) einen und denselben Wert von  $p_{\text{H}_2\text{O}}$  benutzt, nämlich gleich 14,14.

Dieser, der Angabe des Autors gemäß — „el valor de  $p_{\text{H}}$  de una solución neutra a 18° es  $p_{\text{H}} = -\log 0,85 \cdot 10^{-7} = 7,07^2$ “ — gilt für die Temperatur von 18°.

Falls man bei der Berechnung von  $lr_{(n)}$  nicht den der Normaltemperatur entsprechenden Wert von  $p_{\text{H}_2\text{O}}$  benutzen würde, würde man für  $lr_{(n)}$  zu Zahlen gelangen, die dem Begriff der Normalität fremd sind.

Da weiter die  $K_w$ -Werte — von verschiedenen Forschern für dieselbe Temperatur bestimmt — nicht identisch sind, müssen ebenfalls die Angaben nicht nur von  $lr_{(n)}$ , sondern besonders von  $lr_{(a)}$  dementsprechend variieren. Der Einfluß von Salzen auf den Wert von  $K_w$  verwickelt noch die Verhältnisse, denn die diesbezüglichen Ergebnisse der Forscher widersprechen einander.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 163, 12.

<sup>2)</sup> Ann., S. 562.

Deshalb sind die Ausdrücke — ohne Standard  $p_{\text{H}_2\text{O}}$ -Tabelle — vorläufig *nicht gut brauchbar*. Zur Illustrierung sind einige Daten über  $K_w$  der Tabelle von *Landolt-Börnstein*<sup>1)</sup> entnommen worden:

Temperatur ° C	Kohlrausch u. Heydweiller		Lorenz u. Böhi		Lunden	
	$K_w$	$p_{\text{H}_2\text{O}}$	$K_w$	$p_{\text{H}_2\text{O}}$	$K$	$p_{\text{H}_2\text{O}}$
0	$0,13 \cdot 10^{-14}$	14,89	$0,14 \cdot 10^{-14}$	14,85		
2	$0,16 \cdot 10^{-14}$	14,80				
10	$0,32 \cdot 10^{-14}$	14,49			$0,31 \cdot 10^{-14}$	14,51
15					$0,46 \cdot 10^{-14}$	14,34
18	$0,64 \cdot 10^{-14}$	14,19	$0,72 \cdot 10^{-14}$	14,14		
25			$1,21 \cdot 10^{-14}$	13,92	$1,05 \cdot 10^{-14}$	13,98
34	$2,1 \cdot 10^{-14}$	13,68				
40			$3,92 \cdot 10^{-14}$	13,41	$2,94 \cdot 10^{-14}$	13,53

Unter der potentiellen Acidität einer Säure versteht man üblich:  $[\text{H}] = N - [\text{H}^-]$ ; was unter der potentiellen Acidität einer Lauge zu verstehen ist, liegt nicht an der Hand, da die andersartigen Ionen bei der üblichen Potentialitätsbestimmung nicht berücksichtigt werden. Nach *D. Giribaldo* ist aber unter der potentiellen Acidität der Lösungen *das Verhältnis, das die Gleichung (4) ausdrückt, zu verstehen*. Der reziproke Wert der potentiellen Acidität einer Base (wie die Betrachtung von  $r_{(p)}$  ergibt) zeigt die potentielle Basizität derselben an. Dies ermöglicht die Berechnung der „üblichen potentiellen Basizität“.

Falls man die Annahme der  $[\text{H}_\lambda]$  für Basen meiden will, wird man zwischen den Gleichungen (1) und (2) — je nach der Art der durch die Normalität substituierten Ionen — unterscheiden müssen. Denn, da nicht allgemein (sondern nur im Falle der Neutralität)  $N \cdot N = K_w$  ist, besteht auch:

$$r_{(n)} = \frac{N^2}{K_w} = \frac{K_w}{N^2}$$

nicht; demzufolge sind zwei Bezeichnungen (die formell auch die Art der substituierten Ionen — bei der angenommenen totalen Dissoziation — berücksichtigen) einzuführen:  $r_{(nA)}$  und  $r_{(nB)}$ .

$$\begin{aligned} r_{(nA)} \cdot r_{(nB)} &= 1 \\ l r_{(nA)} &= -l r_{(nB)}. \end{aligned}$$

Folglich sind auch dann  $r_{(pA)}$  und  $r_{(pB)}$  zu unterscheiden.

$$\begin{aligned} r_{(pA)} &= \frac{r_{(nA)}}{r_{(a)}}, \\ r_{(pB)} &= \frac{r_{(nB)}}{r_{(a)}}. \end{aligned}$$

<sup>1)</sup> *Landolt-Börnstein*, Phys. chem. Tabellen II, S. 1164.

Der Autor selbst äußert sich über den Vorschlag von *Friedenthal* folgendermaßen: El procedimiento de *Friedenthal* tiene el grave inconveniente de expresar la concentración del elemento que caracteriza la función alcalina bajo una forma arbitraria, desprovista en absoluto de significado útil en lo que se refiere a esta función<sup>1)</sup>.

Die Betrachtungsweise, die zwischen  $r_{(nA)}$  und  $r_{(nB)}$  unterscheidet, ist nötig, da  $N$  allein nur die quantitative Seite der Normalität berücksichtigt.

---

<sup>1)</sup> Ann., S. 557.

## Über den Einfluß des Insulins auf die Magensekretion<sup>1)</sup>.

Von

Nikolaus Wwedensky.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität Moskau.)

(Eingegangen am 11. Mai 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Frage nach dem Einfluß von Hormonen der Drüsen innerer Sekretion auf mannigfache Funktionen des Organismus bietet der wissenschaftlichen Forschung unserer Zeit ein weites Problem. Insbesondere verdient die Erforschung des Zusammenhanges, der zwischen der inneren Sekretion der endokrinen Drüsen und der äußeren Sekretion der Verdauungsdrüsen bestehen muß, Beachtung in Anbetracht der häufig vorkommenden innigen topographischen Verhältnisse oder der nahen Verwandtschaft in der Geschichte der embryonalen Entwicklung des endokrinen Apparates und der Drüsen des Verdauungskanals (Pankreas, Thyreoidea); endlich aber auch in Anbetracht der konstatierten Wechselbeziehungen zwischen den Drüsen mit innerer Sekretion und vegetativem Nervensystem einerseits und dem Einfluß des Nervensystems auf die äußere Sekretion der Drüsen andererseits.

Da das Thema ein derart umfangreiches ist, so kann sich der Forscher auf das Studium irgend eines Einzelfalles beschränken, was im gegebenen Falle den Inhalt vorliegender Arbeit ausmacht. Was die Quellen der diesbezüglichen Literatur betrifft, die unmittelbar auf die Frage nach der Wirkung des Insulins auf die Magensekretion Bezug haben, so verweise ich auf die Arbeit von *J. A. Collazo* und *M. Dobreff*<sup>2)</sup>: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Insulins auf die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen.

Der Einfluß anderer aus den Drüsen innerer Sekretion auf die Magensekretion gewonnener Präparate ist von *Newjadomsky*, *Rasenkov* und *Sawitsch*, *Lewit*, *Bodylkes*, *Carlson* u. a. untersucht worden.

---

<sup>1)</sup> Vorgetragen am 17. März 1926 in der Moskauer Abteilung der russischen pathologischen Gesellschaft.

<sup>2)</sup> *Collazo* und *Dobreff*, diese Zeitschr. 154.

Die Ergebnisse dieser Arbeiten konstatieren einen spezifischen Einfluß von Hormonen der Drüsen innerer Sekretion auf die Magensekretion. Das Insulin zeigt eine hemmende Wirkung auf die Magensekretion (*Collazo* und *Dobreff*); die Schilddrüsenpräparate steigern die Magensekretion [*Lewit*<sup>1)</sup>]; die Entfernung der Paraschilddrüsen hemmt die Magensekretion [*Keeton*<sup>2)</sup>] und wirkt, wie man auf Grund der vor kurzem veröffentlichten Arbeit von *Rasenkow* und *Ssawitsch*<sup>3)</sup> schließen kann, auf die reflektorische Phase des Magensaftabflusses. Andererseits haben wir Arbeiten, welche auf eine Hypersekretion bei Parathyreoidektomie hinweisen [*Keropjan*<sup>4)</sup>].

Endlich ruft nach den Angaben einiger Forscher Adrenalin keinerlei Effekt auf die Magensekretion hervor [*Rogers*<sup>5)</sup> u. a.].

Vorliegende Arbeit soll die Frage nach dem Einfluß des Insulins auf die äußere Sekretion des Magens behandeln. Als Versuchsmaterial, das die Magensekretion anschaulich zu verfolgen gestattet, benutzte ich Hunde mit isoliertem Magen, die nach dem Verfahren *J. P. Pawlows* operiert waren. Alle Versuche (66) habe ich an zwei Hunden, „Bobik“ und „Werny“, vorgenommen. Der Hund „Bobik“, der sich schon über zwei Jahre in unserem Laboratorium befindet und an dem ich meine Arbeit zur Analyse der normalen Saftabsonderungsfunktion des Magens durchgeführt habe [*N. Wwedensky*<sup>6)</sup>], entspricht dem Normaltypus der Pawlowhunde mit isoliertem Magen. Die latente Periode auf Brot war bei ihm gleich 8 bis 15 Minuten. Der Hund „Bobik“ befand sich während der ganzen Untersuchungsdauer in gesundem Zustande. Sein Gewicht nahm nicht nur nicht ab, sondern im Gegenteil zu; so war z. B. sein Gesamtgewicht am 17. Februar 1924 15 kg, im November 1925 schwankte es zwischen 17,5 und 18 kg.

Der Hund „Werny“ befand sich bis zum Anfang meiner Arbeit in den Händen Dr. *Tschernows*<sup>7)</sup>, der an ihm seine Versuche mit Insulininjektion angestellt und bemerkt hatte, daß die Sekretion des kleinen Magens bei diesem Hunde seit einiger Zeit bedeutend gesunken war,

1) *Lewit*, Zeitschr. f. klin. Med. 102, H. 4/5, 1925.

2) *Keeton*, Am. Journ. of Physiol. 33; zitiert nach *Rasenkow*.

3) *Rasenkow* und *Ssawitsch*, Russ. Journ. f. Physiol. 8, H. 1/2, 1925.

4) *Keropjan*, Berichte des II. allrussischen Pathologenkongresses 1925 (im Druck).

5) *Rogers* u. a., Amer. Journ. of Physiol. 39, 1916.

6) *N. Wwedensky*, Bericht des II. allrussischen Pathologenkongresses 1925 (im Druck).

7) Dr. *Tschernow* und *J. G. Etinger* haben in unserem Laboratorium die Wirkung des Insulins auf die Magensekretion studiert, haben aber ihre Arbeit nicht zu Ende geführt, da sie zu keinem klaren Resultat über die Wirkung des genannten Präparats kommen konnten.

was von Dr. *Tschernow* dem dauernden Einfluß des Insulins auf die Magensekretion zugeschrieben wurde. Als ich den Hund „Werny“ übernahm, fand ich bei ihm eine verhältnismäßig schwache Magensekretion vor. Die latente Periode auf gekochte Kartoffeln, mit welcher die meisten Versuche angestellt wurden, dauerte bei diesem Hunde 8 bis 14 Minuten. Gegen Ende meiner Arbeit bestand der Saftabfluß auf gekochte Kartoffeln beim Hunde „Werny“ während 4 Stunden nur in 1,6 bis 3,0 ccm Magensaft; außerdem wurde Erbrechen und Durchfall beobachtet; das Gewicht des Hundes sank. Aus diesen Gründen wurden nach dem 23. Juli keine Versuche mehr an ihm angestellt. Im August 1925 ging der Hund „Werny“ unter allen Anzeichen starken Kräfteverfalls ein. Der Hund fraß schlecht und an den Extremitäten zeigten sich Dekubitäten. Noch zu der Zeit als Dr. *Tschernow* seine Versuche an diesem Hunde anstellte, konnte man an seinen Extremitäten Ödeme und Abszesse beobachten. Die Autopsie des Hundes ergab starke Abmagerung und Hyperämie der Magenschleimhaut.

Wir können demnach den Hund „Werny“ nicht als Normalobjekt für unsere Versuche ansehen, doch ungeachtet dessen gestattet das an ihm erhaltene Material, die Wirkung des Insulins auf die Magensekretion vergleichsweise zu beurteilen, auch wenn diese Sekretion unter den Bedingungen eines pathologischen Zustandes des Organismus vor sich geht. Was die Ursache dieses Zustandes des Hundes „Werny“ anbetrifft, so kann man annehmen, daß wir es im gegebenen Falle mit einer trophischen Störung zu tun haben, die im Zusammenhang mit der Beeinflussung seitens des isolierten Magens steht, was von *J. P. Paulow* experimentell nachgewiesen worden ist.

Zur Beurteilung des Versuches halte ich eine solche ausführliche Charakteristik der Versuchstiere für unbedingt notwendig, um so mehr, als die meisten Arbeiten diesen Punkt vollständig ignorieren, und wenn sie seiner Erwähnung tun, so nur vorübergehend.

Im ganzen habe ich an beiden Hunden 66 Versuche angestellt, von welchen 45 Versuche am Hunde „Bobik“ und 21 am Hunde „Werny“ ausgeführt wurden. Von den 45 am Hunde „Bobik“ angestellten Versuchen wurden 40 Versuche mit Zufuhr von 400 g gekochter Kartoffeln und fünf Versuche mit Zufuhr von 100 g frischen Rindfleisches vorgenommen. Da die Aufgabe der Hauptsache nach in der Kontrolle der Magensaftmenge bestand, die nach genommener Nahrung bei gleichzeitiger Insulininjektion abfloß, so hielt ich es für äußerst wichtig, diejenigen Schwankungen der Gesamtmenge des Magensaftes festzustellen, die sich auch bei der Norm beobachten lassen. Auf Grund von nur zwei parallelen Versuchen Schlüsse zu ziehen, halte ich für unzuverlässig. Daher wurde im Laufe einer Woche vor der Insulininjektion täglich die Sekretion des isolierten Magens ausschließlich unter

Einfluß der genommenen Nahrung, d. h. bei der Norm beobachtet. Im weiteren wurden die festgestellten Schwankungen der Norm mehrfach geprüft. Außerdem gingen dem Versuche mit Insulininjektion meist einige Versuche mit gewöhnlicher Fütterung des Tieres (ohne Insulin) voraus. Die Versuche mit subkutaner Insulininjektion wechselten in den einen Fällen in bedeutenden Zwischenräumen (68 Tage) untereinander ab, in den anderen Fällen jedoch erfolgten sie unmittelbar aufeinander. Im ganzen wurden mit Injektion von Insulinpräparaten an beiden Hunden 16 Versuche angestellt, von denen 12 Versuche am Hunde „Bobik“ und vier Versuche am Hunde „Werny“. Bei meinen Versuchen habe ich folgende Insulinpräparate benutzt: Insulin *Boots*, *Kahlbaum*, *Norgine* und *Allen*. Insulin wurde stets subkutan injiziert in Dosen von 15 bis 20 Kanincheneinheiten 5, 10, 70 Minuten vor der Nahrung. Die Saftmenge wurde in halbstündigen Intervallen gemessen, angefangen vom Moment der Nahrungszufuhr (nach *J. P. Pawlow*). Die Gesamtmengen des Magensaftes bei Sekretion sind im Laufe von 4 Stunden beobachtet worden. Der Versuch wurde entweder von der alkalischen Reaktion der Magenschleimhaut angefangen, oder erst dann, wenn ein selbständiger Saftabfluß aus dem Magen nicht beobachtet wurde. Um diese Bedingung einzuhalten, wurde das Tier vor der Nahrungszufuhr oder der Insulininjektion während der Kontrollzeit im Verlauf von 1 bis 2 Stunden, manchmal auch länger, im Gestell gehalten.

In ihren Arbeiten mit Präparaten der Drüsen innerer Sekretion gibt die Mehrzahl der Autoren die Herkunft des Präparats nicht an, augenscheinlich in der Meinung, daß einzig und allein mit der Nennung des Hormons seine ganze Bedeutung für den Versuch erschöpft ist. Es ist indessen klar, daß gerade die Art der Zubereitung von Grund auf sämtliche Eigenschaften des zu erhaltenden Produkts bedingt, und daher müssen wir, bevor wir die Mehrzahl der Hormone — mit Ausnahme einiger wenigen — in chemisch reinem Zustande erhalten, in jedem einzelnen Falle die Fabrikmarke des einen oder des anderen Präparats nennen. Für diese wertvollen Hinweise bin ich dem Leiter der pharmakologischen Abteilung des wissenschaftlichen chemisch-pharmazeutischen Instituts, Prof. *O. Steppuhn*, aufrichtig dankbar.

Ich erachte es für notwendig, der weiteren Ausführung der Arbeit eine allgemeine Bemerkung betreffs der Magensekretion auf gekochte Kartoffeln und Fleisch vorzuschicken. Für gekochte Kartoffeln erreicht die Kurve der Saftabsonderung ihr Maximum (im Sinne *Paulows*) im Verlauf der ersten Stunde, hält sich zuweilen im Laufe der zweiten Stunde auf einer gewissen Höhe, fällt darauf kritisch und verschwindet nach 4 bis 6 Stunden. Die Sekretion bei Kartoffeln erfolgt demnach auf Rechnung der reflektorischen (psychischen) Phase der Saftabsonderung, wogegen die chemische Phase infolge Fehlens chemischer Sekretionserreger unbedeutend ist [*Gordejew*<sup>1)</sup>]. Rohes Rindfleisch stellt einen starken Erreger der saftabsondernden Arbeit des Magens dar, sowohl bezüglich der reflektorischen (psychischen) als auch bezüglich seiner chemischen Phase.

Die hier folgende zusammenfassende Tabelle zeigt die Resultate dieser Versuche.

<sup>1)</sup> *Gordejew*, Die Magentätigkeit bei verschiedenartiger Speise. Dissertation St. Petersburg, 1906.

Tabelle I.

Nr.	Datum	Zeit in Stunden						Gesamtmenge ccm	Bemerkungen	Nahrung	Hund
		1	2	3	4	5	6				
1924											
1	17. II.	7,4	5,9	3,8	2,0	1,3	1,0	21,4	Norm	Fleisch	
2	23. III.	8,0	6,5	4,3	3,0	1,5	—	23,3	"	100 g	
3	5. IV.	3,8	2,1	3,4	2,2	1,4	0,7	13,6	"	100 "	
4	3. XII.	6,8	4,9	3,0	2,2	1,6	0,8	19,3	"	100 "	
5	24. XII.	8,5	5,6	3,1	1,3	1,7	2,2	21,9	15 K.-Einh. Boots	100 "	
1925											
6	3. VI.	4,0	4,0	3,8	2,0	1,8	—	13,8	Norm	Kartoffel	
7	4. VI.	3,5	3,2	2,2	2,6	—	—	11,5	"	400 g	
8	13. VI.	4,2	4,0	3,4	4,4	2,6	—	16,0	"	400 "	
9	14. VI.	3,8	4,8	2,2	2,0	2,2	—	13,0	"	400 "	
10	15. VI.	3,3	4,8	3,6	0,4	—	—	12,1	"	400 "	
11	16. VI.	4,4	4,7	4,8	4,6	—	—	18,5	"	400 "	
12	17. VI.	3,4	4,4	3,8	2,4	1,4	—	14,0	"	400 "	
13	18. VI.	3,1	4,0	4,0	4,0	1,4	—	15,1	"	400 "	
14	19. VI.	4,7	5,0	3,3	1,8	1,2	—	14,2	15 K.-Einh. Boots	400 "	
15	20. VI.	2,2	4,4	4,4	2,0	—	—	13,0	Norm	400 "	
16	22. VI.	4,4	4,2	1,8	0	—	—	10,0	"	400 "	
17	23. VI.	5,6	5,5	1,6	2,6	—	—	15,3	"	400 "	
18	24. VI.	0	2,2	2,4	1,8	—	—	6,4	20 K.-Einh. Boots	400 "	
19	25. VI.	1,2	>0,6	0,8	0	—	—	> 2,6	Norm	400 "	
20	14. VII.	3,4	3,0	4,0	1,2	—	—	11,6	"	400 "	
21	15. VII.	3,4	2,6	2,8	3,0	—	—	11,8	"	400 "	
22	16. VII.	3,6	5,0	5,2	4,2	—	—	18,0	"	400 "	
23	17. VII.	4,1	3,8	4,0	1,8	—	—	13,7	15 K.-Einh. Boots	400 "	
24	18. VII.	5,2	6,8	3,6	3,0	—	—	18,6	Norm	400 "	
25	20. VII.	4,7	4,2	3,2	3,6	—	—	15,7	"	400 "	
26	21. VII.	1,0	3,2	4,6	3,4	—	—	10,2	"	400 "	
27	22. VII.	5,2	2,6	3,2	2,0	—	—	13,0	15 K.-Einh. Boots	400 "	
28	23. VII.	2,2	3,2	2,1	2,8	—	—	10,3	Norm	400 "	
29	19. IX.	3,2	4,6	3,3	1,8	—	—	12,9	"	400 "	
30	20. IX.	0,8	2,2	Versuch ist unterbrochen				—	"	400 "	
31	24. IX.	3,6	4,6	4,2	1,2	—	—	13,6	"	400 "	
32	25. IX.	2,6	5,8	4,1	3,6	—	—	16,1	"	400 "	
33	27. IX.	3,0	5,0	5,2	1,4	—	—	14,6	"	400 "	
34	28. IX.	3,6	7,4	3,2	4,4	—	—	18,1	20 K.-Einh. Boots	400 "	
35	30. IX.	1,4	5,4	3,8	—	—	—	16,1	30 K.-Einheiten Kahlbaum	400 "	
36	1. X.	2,4	4,5	6,8	4,5	—	—	18,2	20 K.-Einh. Boots	400 "	
37	2. X.	4,0	5,4	3,5	3,4	—	—	16,3	Norm	400 "	
38	17. X.	2,4	1,0	4,0	5,0	—	—	>12,4	"	400 "	
39	20. X.	3,8	5,1	5,4	2,4	—	—	16,7	40 K.-Einh. Allen	400 "	
40	30. X.	6,0	5,4	1,8	0,4	—	—	13,6	Norm	400 "	
41	1. XI.	4,2	6,4	6,0	2,6	—	—	19,2	20 K.-Einheiten Norgine	400 "	
42	7. XI.	3,4	5,8	5,6	2,8	—	—	17,6	50 K.-Einheiten Norgine	400 "	
43	15. XI.	4,8	6,6	5,8	3,8	—	—	21,0	Norm	400 "	
44	16. XI.	5,1	7,2	Versuch ist unterbrochen				—	"	400 "	
45	22. XI.	3,7	5,9	4,2	0,8	—	—	14,6	40 K.-Einh. Allen	400 "	
46	3. VI.	3,2	2,8	1,0	0,8	0,7	—	7,8	Norm	400 "	
47	4. VI.	2,1	1,9	Versuch ist unterbrochen				—	"	400 "	
48	13. VI.	2,5	0,5	0,2	1,6	—	—	4,8	"	400 "	
49	14. VI.	1,2	0,8	0,6	0,8	0,4	—	3,4	"	400 "	

Bobik

Werny



Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Zeit in Stunden						Gesamtmenge ccm	Bemerkungen	Nahrung	Hund
		1	2	3	4	5	6				
	1925										
50	15. VI.	1,2	1,2	0,4	0,2	—	—	3,0	Norm	Kartoffel 400 g	Werny
51	16. VI.	1,4	2,6	2,2	2,1	—	—	8,3	"	400 "	
52	18. VI.	1,2	1,0	0,6	0,2	—	—	3,0	"	404 "	
53	19. VI.	2,0	2,1	2,0	0,6	—	—	6,7	15 K.-Einh. Boots	400 "	
54	20. VI.	1,2	1,4	0,6	0,3	—	—	3,5	Norm	400 "	
55	23. VI.	0,6	2,0	1,6	1,0	—	—	5,2	"	400 "	
56	24. VI.	0,6	0,2	0,4	0,4	—	—	1,6	20 K.-Einh. Boots	400 "	
57	25. VI.	1,2	1,0	0,6	0,2	—	—	3,0	Norm	400 "	
58	14. VII.	0,6	0,4	0,2	0,6	—	—	1,8	"	400 "	
59	15. VII.	1,5	0,7	0,8	1,4	—	—	4,4	"	400 "	
60	16. VII.	0,6	0,4	1,0	0,6	—	—	2,6	"	400 "	
61	17. VII.	0,6	1,4	0,4	0,4	—	—	2,8	15 K.-Einh. Boots	400 "	
62	18. VII.	1,0	0,5	0,6	0,7	—	—	2,8	Norm	400 "	
63	20. VII.	0,6	0,4	0,4	0,6	—	—	2,0	"	400 "	
64	21. VII.	0,8	0,4	0,3	0,7	—	—	2,2	"	400 "	
65	22. VII.	0,6	0,2	0,5	0,3	—	—	1,6	15 K.-Einh. Boots	400 "	
66	23. VII.	0,9	0,3	0,4	0,8	—	—	2,4	Norm	400 "	

Die Untersuchung der Acidität des Magensafts zeigte durch Titration mit  $n/10$  Lösung NaOH, daß sich die Acidität unter dem Einfluß des Insulins nicht änderte und in einer ganzen Reihe Versuche gleich 130

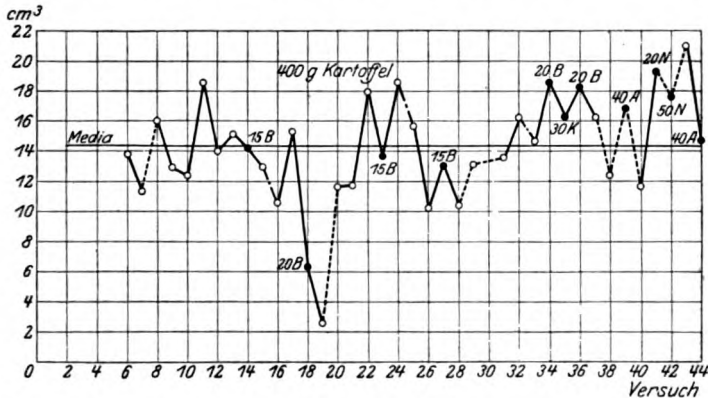


Abb. 1. „Bobik“.

— Versuch folgt auf Versuch.    - - - Versuch folgt in kurzen Intervallen.  
 ..... Versuch folgt in längeren Intervallen.    ● Insulin.    ○ Norm.  
 Die Ziffern mit Buchstaben bezeichnen die Menge Einheiten verschiedener Insulinpräparate: Boots, Kahlbaum, Norgine, Allen.

(0,47 proz. HCl) war. Da mir kein Edestin zur Verfügung stand, so habe ich von einer systematischen Bestimmung der Verdauungsfähigkeit des Magensaftes abgesehen. Zwei Einzelversuche mit Feststellung der Verdauungskraft des Magensaftes nach Fuld haben gezeigt, daß sich unter dem Einfluß einer Insulininjektion die Verdauungskraft nicht änderte.

Ich berufe mich außerdem auf die Versuche Dr. *Tschernows*, der die Verdauungskraft des Magensaftes unter Einwirkung von Insulin nach *Fuld* systematisch feststellte, und der ebenfalls keinen Unterschied in den Fermenteigenschaften des Saftes gefunden hat.

Aus der näheren Betrachtung der angeführten Tabelle und des Diagramms ist ersichtlich, daß die subkutane Injektion der Insulinpräparate entgegen der in der Literatur zu treffenden Ansicht, von der ich bereits oben gesprochen habe, keine hemmende Wirkung auf die Magensaftsekretion ausübt. Gesondert müssen wir den Versuch vom 24. Juni 1925 am Hunde „Bobik“ betrachten, bei dem sich die Injektion von Insulin *Boots* auf die Magensaftsekretion von starker Wirkung erwies.

Zur besseren Beurteilung bringe ich das Protokoll dieses Versuchs:

Versuch vom 24. Juni 1925, Hund „Bobik“.

Um 10 Uhr morgens in das Gestell gebracht.

Um 11 Uhr 55 Minuten Abfluß von 2,0 ccm Schleim. Alkalische Reaktion.

Um 12 Uhr 5 Minuten subkutane Injektion von 1 ccm = 20 Kaninchen-einheiten Insulin *Boots*.

Um 12 Uhr 15 Minuten Gabe von 400 g gekochter Kartoffeln, aber der Hund frißt nicht, legt sich und zittert, worauf 60 ccm einer 10proz.  $\alpha$ -Glucoselösung eingeführt werden.

Um 12 Uhr 25 Minuten erhebt sich der Hund.

Um 12 Uhr 29 Minuten frißt er die Kartoffeln.

*Tabelle II.*

Versuch 24. Juni 1925.

1	2	3	4	5
Zeit	Menge des Magensaftes	Ges. Menge des Magensaftes	Stunden	Bemerkungen
12h30'—1h	0	0	1	
1 —1 30'	0			
1 30—2	1,0 Schleim	2,2	2	
2 —2 30	1,2			
2 30—3	1,2	2,4	3	
3 —3 30	1,2			
3 30—4	0,8	1,8	4	
4 —4 30	1,0 + Schleim			
4 Stunden		6,4 ccm		

Aus dem angeführten Beispiel ersehen wir, daß eine Injektion von 20 Kaninchen-einheiten Insulin *Boots* eine beträchtliche Hemmung der Magensaftsekretion hervorruft, die sich hauptsächlich in einer Störung der ersten reflektorischen (psychischen) Phase des Saftabflusses äußerte.

Wie aus der angeführten Tabelle ersichtlich, floß im Laufe der ersten Stunde nicht ein einziger Kubikzentimeter Saft ab.

Man kann das jedoch nicht als direkten Beweis der Wirkung des Insulins (*Boots*) auf die Magensekretion ansehen. Der hyperglykämische Schock ist schon an und für sich imstande, eine Störung im Verlaufe der normalen Funktionen des Organismus hervorzurufen, und daher zeigte sich die Magensekretion gerade in ihren Wechselbeziehungen zu den Nervenwegen gestört. Interessant ist im gegebenen Falle, daß die Magensekretion am folgenden Tage nicht zur Norm zurückkehrte, wie man das aus dem am 25. Juni 1925 an demselben Hunde „Bobik“ angestellten Versuche ersehen kann.

Versuch vom 25. Juni 1925; Hund „Bobik“.

*Anmerkung.* Am Tage vorher, am 24. Juni, wurden 20 Kaninchen-einheiten Insulin *Boots* appliziert, wonach ein hyperglykämischer Schock eintrat.

Um 9 Uhr morgens wurde der Hund in das Gestell gebracht.

Um 11 Uhr 55 Minuten Abfluß von 1,4 ccm Saft mit Schleim. Reaktion alkalisch.

Um 12 Uhr Gabe von 400 g gekochter Kartoffeln.

Um 12 Uhr 20 Minuten Beginn von Magensaftabfluß.

Tabelle III.

1	2	3	4	5
Zeit	Menge des Magensaftes	Ges.-Menge des Magensaftes	Stunden	Bemerkungen
12 <sup>h</sup> — 12 <sup>h</sup> 30'	0,6	} 1,2	1	Ein Teil des Saftes wurde durch Bewegung des Hundes verschüttet. Reaktion alkalisch.
12 30' — 1 <sup>h</sup>	0,6			
1 — 1 30	0,4	} > 0,6	2	
1 30 — 2	> 0,2			
2 — 2 30	0,8	} 0,8	3	
2 30 — 3	0,0			
3 — 3 30	—	} —	4	
3 30 — 4	—			
3 Stunden		> 2,6 ccm		

Wir bemerken also auch am folgenden Tage eine Sekretionsstörung des kleinen Magens. Die latente Periode ist verlängert; die Dauer des Saftabflusses ist verringert. Die Frage, ob dieser Umstand dem Einfluß der spezifischen Wirkung des Insulins auf die Magensekretion oder aber der reflektorischen Folge eines hyperglykämischen Schocks zuzuschreiben ist, muß entschieden werden.

Aus den in der gemeinsamen Arbeit von *Rasenkow* und *Ssawitsch* über den Einfluß einer partiellen Parathyreoidektomie auf die Magensekretion angeführten Protokollen sieht man, daß die Magensekretion am Tage nach der Operation des Tieres erheblich gestört war. Im gegebenen

Fälle kann man erwarten, daß sich hier gerade der Einfluß des nach der Operation eintretenden Schocks (Trauma) zeigte und nicht der fehlerhafte Zustand der Parnschilddrüsen. Ich berufe mich hierbei auf die anfangs erwähnte Arbeit Dr. *Keropians*. Kehren wir zur Frage über den Einfluß des Insulins auf die Magensekretion zurück, so müssen wir seine sekretionshemmende Wirkung aus einer Gegenüberstellung der Versuche vom 24. Juni und einer ganzen Reihe anderer Versuche mit gleicher Dosierung desselben Präparats (*Boots*); Versuche vom 28. September und 1. Oktober 1925, ausschalten.

Um endlich die Zweifel zu beheben, daß der Zeitpunkt, an dem nach erfolgter Gabe des Präparats dem Tiere die Nahrungsration gegeben wird, für den Effekt der Wirkung des Insulins Bedeutung hat, wurden Versuche mit Insulininjektionen 5, 10, 70 Minuten vor dem Moment der Nahrungsgabe angestellt. Wesentlich Neues haben diese Versuche jedoch nicht gebracht.

Da sich andererseits die Insulinpräparate nicht immer wirksam erweisen, so wurde beim Versuch vom 22. November 1925 am Hunde „Bobik“ der Zuckergehalt im Blute nach dem Verfahren *Hagedorns* untersucht. Hierbei zeigte es sich, daß der Zuckergehalt vor Einführung des Insulins gleich 0,087 Proz. war. 1 Stunde 8 Minuten nach der Einführung von 40 Kaninchen-einheiten Insulin *Allen* sank der Zuckergehalt des Blutes auf 0,065 Proz., was für die erste Stunde als gewöhnlich anzusehen ist. Der Hungerzustand (Versuch vom 7. September) hatte unter Einwirkung einer Insulininjektion Präparat *Norgine* ebenfalls keinen Einfluß auf die Magensekretion.

Betrachtet man jeden einzelnen Versuch (s. das Diagramm) mit Injektion des einen oder des anderen Insulinpräparats, so bemerkt man in einigen Fällen ein gewisses Sinken der Gesamtmenge des ausgeschiedenen Magensaftes gegenüber dem am Tage vorher angestellten Versuch ohne Insulin. Andere Versuche mit Insulininjektion zeigen wiederum eine höhere Ziffer des Saftabflusses. Eine Hemmung der Magensaftsekretion wird jedoch auch bei Einführung größerer Dosen Insulin (50 Kaninchen-einheiten) nicht bemerkt.

Das Fehlen eines hypoglykämischen Schocks darf hierbei nicht verwundern, da die Verminderung des Zuckers im Blute damit augenscheinlich nicht zusammenhängt. Einige Autoren (*Krawkow*, *Wiechowsky*) sind der Meinung, daß das Insulin in reinem Zustande als solches keine Nebenwirkung haben darf und daß der hypoglykämische Schock in keinem direkten Zusammenhang mit der Fähigkeit des Insulins, den Zuckergehalt im Blute herabzudrücken, steht, sondern auf die bei Bearbeitung des ursprünglichen Produkts erhaltenen Nebenbestandteile zurückzuführen ist.

In der Tat hat Dr. *Kusnezow*<sup>1)</sup> in Prof. *N. P. Krawkows* Laboratorium das dem Insulin ähnliche Pankreastoxin erhalten, welches bei Kaninchen den Zuckergehalt im Blute auf Null herabdrückt, ohne dabei hypoglykämische Krämpfe hervorzurufen. Der Einfluß des Insulins auf die Magensekretion muß also auf Grund obiger Ausführungen in negativem Sinne entschieden werden. Die quantitative Seite der Magensaftsekretion, die von einer ganzen Reihe physiologischer Faktoren abhängt, können wir feststellen, indem wir uns dieselbe als eine Variationskurve, welche die Veränderlichkeit einer Reihe unserer Versuche charakterisiert, vorstellen.

<sup>1)</sup> *Schkawera*, Fortschr. d. exper. Biol. 1925, H. 1 und 2.

Wenn wir die Variationsreihe für normale Magensekretion und eine Reihe Versuche mit Insulininjektion prüfen, so finden wir, daß die Medien der Variationsreihen ( $M$  und  $M_1$ ) wie auch ihre Standardabweichungen ( $\sigma$  und  $\sigma_1$ ) nur um eine in den Fehlergrenzen der Versuche liegende Größe voneinander abweichen.

Aus der Gleichung:

$$M = M' + \frac{\Sigma p\alpha}{n}$$

folgt, daß  $M = 14,27$  ccm und

$$M_1 = M + \frac{\Sigma p\alpha}{n} = 13,75 \text{ ccm}$$

ist; ebenso folgt aus der Gleichung:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\Sigma p\alpha}{n} - \left(\frac{\Sigma p\alpha}{n}\right)^2} = \pm 3,52; \sigma_1 = 3,40,$$

wo  $n = 39$ ;  $pa = + 63$ ;  $pa^2 = 575$ ;  $M' = 12,67$  für die Variationsreihe Norm + Insulin;  $n_1 = 28$ ;  $pa = + 32$ ;  $pa^2 = 352$ ;  $M'' = 12,61$  für die Variationsreihe Norm.

Obgleich die einer genauen Prüfung unterzogene Anzahl Versuche zur Anwendung der statistischen Methode formell als nicht genügend betrachtet werden muß, so gestattet der hierbei zutage tretende gute Einklang dennoch, das erhaltene Resultat als durchaus wahrscheinlich anzusehen.

Bezüglich der Magensaftsekretion auf andere Arten Speise habe ich schon früher eine Variationsreihe auf Liebigextrakt erhalten.

*J. A. Collazo* und *M. Dobreff* sind, ohne Serien von Kontrollbeobachtungen vorgenommen zu haben, zu dem Resultat gekommen, daß Insulin die Magensekretion hemmt. Die in ihrer Arbeit angeführten Versuche beziehen sich ausschließlich auf intravenöse Insulininjektion.

*Dudley*, *Klemperer*, *Strigower*, *Isaak* u. a. haben jedoch gefunden, daß das Insulin, und besonders das rohe (*Dudley*), eine Blutdrucksenkung hervorruft<sup>1)</sup>. *W. Ssawitsch*<sup>2)</sup> hat andererseits gefunden, daß eine Blutdrucksenkung gleichzeitig eine Senkung der Magensaftsekretion erzeugt. Viele Forscher sind wiederum der Meinung, daß Insulin ein Vagusmittel ist. *Dr. Tschetschulin* und *Dr. Pawlenko*<sup>3)</sup> haben im Laboratorium des Instituts für allgemeine Pathologie ebenfalls gefunden, daß die periodische Tätigkeit des hungrigen Magens unter dem Einfluß einer Insulininjektion (*Kahlbaum*) gehemmt wird, jedoch erst am Tage der Injektion<sup>4)</sup>. Demnach ließe sich bezüglich der Sekretion nach Analogie der Vaguswirkung des Insulins eine Zunahme der Magensekretion erwarten.

<sup>1)</sup> Auf dem letzten Physiologenkongreß in Petersburg, Mai 1926, hat mir *K. Funk* mitgeteilt, daß *Collazo* im Jahre 1923 von ihm Insulin erhalten hatte, das zu jener Zeit nicht genügend rein war.

<sup>2)</sup> Russ. Journ. f. Physiol. 1925.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. Endokrinologie 1926, Nr. 5.

<sup>4)</sup> *Carlson* und *Bulataw* haben jedoch gefunden, daß Insulin die hungrige Tätigkeit des Magens erhöht, *Pawlow-Festschrift* 1925.

**Zusammenfassung.**

1. Die Insulinpräparate *Boots*, *Norgine*, *Allen* und *Kahlbaum*, in Dosen von 15 bis 50 Kanincheneinheiten einem Hunde von 16 bis 18 kg *subkutan* appliziert, rufen sowohl in quantitativer wie auch in qualitativer Hinsicht keine Veränderung in der Magensaftsekretion hervor.

2. Die Magensaftsekretion stellt eine Variationskurve dar, deren Abhängigkeit von einer Reihe auf die Sekretion wirkender Faktoren, ebenso wie auch ihre korrelativen Eigenschaften Gegenstand der Untersuchung sein müssen.

Ich erachte es für eine angenehme Pflicht, dem hochverehrten Prof. Dr. *G. P. Ssacharow* für Gewährung der Möglichkeit, vorliegende Arbeit auszuführen, wie auch für sein ständiges Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

---

## Über die Zustandsform des Calciums im Serum.

Von

A. Nitschke und H. J. Freyschmidt.

(Aus der medizinischen Abteilung des städtischen Krankenhauses, Altona.)

(Eingegangen am 16. Mai 1926.)

Der eine von uns [*Nitschke* (1)] hat in früheren Untersuchungen die Bedeutung des Donnangleichgewichts zur Bestimmung der Ionisierungsgrenze von Salzen darzulegen versucht. Das dabei angewandte Prinzip war folgendes: In Dialysierversuchen von Serum gegen Salzlösung muß sich, entsprechend dem Donnangleichgewicht, ein ionisiertes Salz — im untersuchten Falle das Ca — zwischen Serum und Salzlösung ungleichmäßig verteilen. Das Verteilungsverhältnis ist für jedes bestimmte  $p_H$  konstant, ändert sich aber mit der Reaktion in dem Sinne, daß mit zunehmender Alkaleszenz (diesseits des isoelektrischen Punktes der Eiweißkörper) das Verhältnis Serum-Ca zu Dialysat-Ca größer wird. Halten wir in einer Versuchsreihe die Konstanz der Reaktion inne, so muß sich bei zunehmender Erhöhung der Kalkkonzentration das Ca nach dem durch die betreffenden  $p_H$  bedingten Verteilungsverhältnisse einstellen, solange es ionisiert ist. Von der Konzentration an, bei der molekulares Ca auftritt, wird sich dieses, da es dem Donnangleichgewicht nicht unterliegt, nicht mehr in dem betreffenden Verhältnis, sondern gleichmäßig verteilen.

Diese Konstanz des Verteilungsverhältnisses bei Ca-Zusätzen unterhalb der Ionisierungsgrenzen ist auch in den Versuchen von *Brehme* und *György* (3) zu beobachten, wenn ihnen auch die Autoren eine andere Deutung verliehen. Sie dialysierten konstante Serum- gegen konstante Dialysatmengen, wobei das  $p_H$  (nicht angegeben) praktisch konstant und etwas alkalischer als  $p_H$  7,4 anzunehmen ist. Sie berechneten den undialysablen Kalk aus der zwischen Serum und Dialysat beobachteten Kalkdifferenz, berücksichtigten die Wassereinströmung ins Serum in der Weise, als ob durch sie die undialysable Ca-Verbindung verdünnt sei, und setzten den so korrigierten Wert in Beziehung zum Serumausgangswert vor der Dialyse. Die so errechneten Werte, in Prozenten des ursprünglichen Serumkalks ausgedrückt, betragen bei Kalkzusatz in drei Versuchsreihen: 28, 42, 50 Proz., 16, 36, 41, 52 Proz., 66, 52, 50 Proz. Gegen diese Art der Berechnung läßt sich einwenden, daß sie zur Voraussetzung hat, daß die undialysable Ca-Verbindung in keiner Beziehung zum dialysablen Kalk steht. Die Enge dieser Beziehung glaubt aber der eine von uns (*Nitschke*) inzwischen nach-

gewiesen zu haben. Gleichzeitig hat er darauf hingewiesen, daß Verdünnungen innerhalb der hier gegebenen Grenzen infolge stärkerer Dissoziation der Eiweißkörper zu keiner Änderung des Gleichgewichts führen. Nach seinen Anschauungen muß das Verhältnis Serumkalk zu Dialysatkalk innerhalb der Versuchsreihen trotz der Ca-Zusätze das gleiche bleiben. Die Differenz der Kalkwerte in Prozenten des Serumkalks am Ende der Dialyse beträgt: 42, 36, 39 Proz., 27, 37, 37, 37 Proz., 37, 36, 68 Proz.

Beim dritten Wert der dritten Reihe könnte es sich um einen Bestimmungsfehler handeln, da es sich im Dialysat um einen Wert von 1,3 mg Ca handelt und hierbei die Methode von *Kramer* und *Tisdall* zu niedrige Werte ergeben kann.

Sonst zeigt sich mit einer Ausnahme die von uns geforderte Konstanz der Beziehungen von Serum-Ca zu Dialysat-Ca.

Im Serum erwiesen sich die Bedingungen dadurch noch kompliziert, daß für das Ca nicht ein einfaches Donngleichgewicht vorliegt. Es besteht neben dem ionisierten Ca noch eine undialysable, nicht ionisierte, wahrscheinlich Eiweißcalciumverbindung, die ihrerseits wieder zum ionisierten Ca in einem konstanten Verhältnis steht, das analoge Beziehungen zum  $p_H$  aufweist: Zunahme bei steigender Alkaleszenz.

Die mit dieser Methodik ermittelte Ionisierungsgrenze für das Calciumcarbonat liegt bei 19 mg (bei 18°,  $p_H$  7,4,  $HCO_3$ , 67 Vol.-Proz.).

Da gegen die früheren Untersuchungen der Einwand erhoben werden kann, daß — bei Gültigkeit der *Ronaschen* Konstanten (2) — bei den gewählten Ca- und  $HCO_3$ -Konzentrationen von vornherein in übersättigten Lösungen gearbeitet wurde und infolgedessen die Ableitung nicht gültig sei, haben wir zunächst das Gleichgewicht gegen wässrige, praktisch  $HCO_3$ -freie Lösungen beobachtet. Es wurden hierbei 5 ccm Serum gegen 600 ccm Kochsalzlösung mit  $CaCl_2$ -Zusatz dialysiert und  $p_H$  mit der Gaskette, Ca nach *Kramer* und *Tisdall* bestimmt. (Da die Ca-Werte in den wässrigen Lösungen gelegentlich schwankende Werte ergaben, setzten wir meist 2 ccm mit Oxalat entkalktes Serum zu.)

Tabelle I.

	I	II	III
Serum			
Ca . . .	14,4	12,7	15,3
Dialysat			
Ca . . .	8,7	7,1	8,6
$p_H$ . . .	7,85	8,52	8,63

Drücken wir die Differenz der Kalkwerte in Prozenten des Serumkalkes aus, so betragen sie 40, 44 und 44 Proz.

Die in den früheren Versuchen beobachtete Differenz betrug für  $p_H$  7,9 etwa 41 Proz., stimmt also vollkommen mit den in rein wässriger



Lösung beobachteten Werten überein. Das Ca in wässriger Lösung können wir als praktisch vollkommen ionisiert ansehen. Da das Verteilungsverhältnis des Ca in  $\text{HCO}_3$ -haltiger und wässriger Lösung das gleiche ist, so können wir — unter der in der früheren Arbeit bewiesenen Voraussetzung, daß dieses Verteilungsverhältnis durch das Donnan-Gleichgewicht bedingt ist — das Ca auch in den zitierten Bicarbonatversuchen als vollkommen ionisiert betrachten.

Die folgenden Untersuchungen gelten der Bestimmung der Ionisierungsgrenze des Serum-Ca bei Gegenwart von Phosphaten und Carbonaten. Die dabei angewandte Technik war folgende: Um den Bedingungen im Organismus möglichst nahe zu kommen, wurde Serum (5 ccm) mit Expirationsluft ins Gleichgewicht gebracht und gegen Ringerlösung (40 ccm, enthaltend physiologische Mengen Bicarbonat, Phosphat und Kochsalz), die ebenfalls durch wiederholtes Durchblasen von Expirationsluft auf physiologische Kohlensäurespannung gebracht war, dialysiert (24 Stunden). Die dabei verwendeten Glasgefäße waren mit Gummistöpseln verschlossen. Als Ca-Zusätze wurden geringe Mengen einer konzentrierten  $\text{CaCl}_2$ -Lösung benutzt. Bestimmung des Ca nach *Kramer* und *Tisdall*,  $\text{HCO}_3$  mit dem Apparat von *v. Slyke*,  $p_{\text{H}}$  kolorimetrisch mit m-Nitrophenol unter Paraffin, *P* nach *Bell* und *Doisy*.

Zur Bestimmung der Ionisierungsgrenze war derselbe Gedanke maßgebend, wie bei den früheren Untersuchungen: Bei Zusätzen von  $\text{CaCl}_2$  muß sich bei konstanter  $p_{\text{H}}$  das Verteilungsgleichgewicht des Ca zwischen Serum und Dialysat bei der Konzentration ändern, bei der zuerst molekulares Ca auftritt. Bezeichnen wir in einer Versuchsreihe die Ca-Werte im Serum und Dialysat mit  $\text{Ca}_1$  ser. und  $\text{Ca}_1$  dial. bzw. mit  $\text{Ca}_2$  ser. und  $\text{Ca}_2$  dial. und liegt  $\text{Ca}_1$  unterhalb,  $\text{Ca}_2$  oberhalb der Ionisierungsgrenze, so gilt:

$$\text{Ca}_1 \text{ ser.} : \text{Ca}_1 \text{ dial.} = (\text{Ca}_2 \text{ ser.} - x) : (\text{Ca}_2 \text{ dial.} - x),$$

wobei  $x$  den molekularen, unbekanntem Anteil bezeichnet. In der folgenden Tabelle II sind die Versuche wiedergegeben.

Tabelle II.

	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3		Versuch 4			Versuch 5		
Serum												
Ca .	8,9	16,9	11,2	20,6	9,3	14,3	10,4	14,3	20,1	10,2	16,4	
Dialysat												
Ca .	6,0	12,4	7,3	15,3	5,6	8,9	5,4	9,0	14,2	5,6	11,9	
$\text{HCO}_3$	71,0	73,0	69,0	67,0	72,0	70,5	64,0	67,0	63,0	59,0	59,0	
P . .	3,3	3,3	3,4	3,4	3,5	3,5	3,7	—	—	3,7	—	
$p_{\text{H}}$ .	7,38	7,43	7,36	7,36	7,39	7,39	7,60	7,52	7,57	7,36	7,39	
$\text{Ca}^{++}$	—	9,3	—	9,9	—	8,2	—	5,7	—	—	5,8	
											[6,8]	

Die letzte Rubrik enthält die nach der gegebenen Gleichung errechnete Ionisierungsgrenze. Wir sehen, daß dieser maximal ionisierbare Anteil in den ersten drei Versuchareihen gut übereinstimmende Werte zeigt. Im vierten Versuch muß sich eine niedrigere Ionisierungsgrenze finden, weil durch die Erhöhung des Phosphatgehalts und die stärkere Alkaleszenz die Ionisierung des Ca-Phosphatsalzes vermindert werden muß. Die näheren Beziehungen sollen unten noch gegeben werden. Nur der Versuch 5 zeigt ein stärker abweichendes Verhalten, was wir aber, da die Ca-Differenzen trotz gleicher  $p_H$  wesentlich größer sind als in den Versuchen 1 bis 3, auf einen technischen Fehler zurückführen möchten (Ca im Dialysat zu niedrig?) Wenn wir das Verteilungsverhältnis von Versuch 3, in dem das Ca im Dialysat den gleichen Wert hat, zugrunde legen, so berechnet sich der maximal ionisierbare Anteil zu 6,8 mg, bei einem Phosphatgehalt von 3,7 mg-Proz.]

Der Mittelwert der Versuche 1, 2, 3 liegt dann bei 9,1 mg-Proz. Ca als Ionisierungsgrenze beim  $p_H$  7,38 und einem Phosphorwert von 3,4 mg-Proz. im Mittel.

Betrachten wir jetzt die Größe des nicht dialysierenden Kalkanteils bei vollkommener Dissoziation des Ca im Dialysat, so beträgt diese, in Prozenten des Serumkalks ausgedrückt, in Versuch 1, 2, 3 (jeweils nur die erste Reihe) 32, 35, 40 Proz. ( $p_H$  etwa 7,4). Unter den gleichen Bedingungen, aber beim Fehlen von Phosphaten, beträgt der nicht dialysierende Kalkanteil 25, 25, 27 Proz. ( $p_H$  etwa 7,4), wie der eine von uns nachgewiesen hat (*Nitschke*). Von dieser Differenz sind 16 Proz. durch das Donnangleichgewicht festgehaltenes, ionisiertes Ca, die übrigen 9 Proz. undialysables, wahrscheinlich Eiweißcalcium. Da das Donnangleichgewicht in beiden Versuchen das gleiche ist, so muß der etwa 10 Proz. höher liegende Wert in den Phosphatversuchen durch eine außerdem vorhandene neue, vom P-Gehalt abhängige, undialysable, nicht ionisierte Verbindung bedingt sein, deren Veränderlichkeit unter dem Einfluß der  $p_H$  noch weiterer Untersuchungen bedarf. Es ist anzunehmen, daß für sie ebenfalls eine konstante, nur vom  $p_H$  abhängige Beziehung zum ionisierten Kalk besteht.

Unter den Bedingungen des menschlichen Organismus können wir also den nicht dialysablen Ca-Anteil mit 2 mg-Proz. in Rechnung setzen. Addieren wir ihn zu dem maximal ionisierbaren Ca-Wert, so erhalten wir 11,1 mg-Proz., einen Wert, der sehr nahe dem wirklich beobachteten Serum-Ca-Gehalt liegt. Eine wahrscheinlich geringe, im Sinne einer Erniedrigung der Ionisierungsgrenze liegende Korrektur ist durch die Berücksichtigung der Temperatur (37° statt 20°) zu erwarten, deren Einfluß noch untersucht werden soll.

Bei der Zusammenfassung dieser Versuche ergibt sich also, daß man mit Hilfe des Donnan-Gleichgewichts unter physiologischen Bedingungen eine Ionisierungsgrenze für die Calciumphosphate erreicht, die unter Berücksichtigung der undialysablen Ca-Verbindungen mit den im Serum vorhandenen Ca-Werten übereinstimmt. Dies würde besagen, daß wir im Serum eine gesättigte Lösung von Ca-Phosphat vor uns haben, daß eine Vermehrung von Ca oder Phosphat *bz.w.* Abnahme der  $p_H$  zum Auftreten von molekularem Ca-Phosphat führen muß, während die Bicarbonate unter den gleichen Bedingungen keinen Einfluß auf die Ca-Dissoziation haben. Um die Ca-Ionisation aus gegebenen P- und  $p_H$ -Werten berechnen zu können, können wir uns an die folgende, aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleitete Gleichung halten [vgl. auch *Kugelmass* und *Shohl* (4)]:

$$[Ca^{++}] \cdot [HPO_4^-] = K.$$

Bei der Serumreaktion von  $p_H$  etwa 7,4 sind die Phosphate als primär und als sekundär ionisierte Salze vorhanden. Das jeweilige Verhältnis hängt von der Reaktion der Lösung ab und kann aus den Pufferdiagrammen von *Sørensen* abgelesen werden.

Für das  $p_H$  7,38 beträgt  $HPO_4 = 80$  Proz. des Gesamtphosphatgehalts.

Nehmen wir Ca und Phosphat als quantitativ dissoziiert an, und drücken wir sie in molarer Konzentration aus, so berechnet sich für Versuch 1 bis 3  $K = 2,0$ , für Versuch 4  $K = 1,5$ , für Versuch 5  $K = 1,6$ . Im Mittel  $K = 1,8$ ;  $Ca^{++} = 8,0$  mg (bei  $p_H$  7,38, P 3,5 mg-Proz.). Der von *Kugelmass* und *Shohl* (bei 37°) angegebene Wert liegt erheblich niedriger und beträgt  $K = 67 \cdot 10^{-8}$ .

Eine Erklärung dieser Differenz kann bis jetzt noch nicht gegeben werden.

#### Zusammenfassung.

Bei Anwendung der *Donnanschen* Theorie auf phosphathaltige, mit Carbonaten gepufferte Lösungen kommen wir zu folgenden Resultaten:

Bei einem Gehalt von etwa 10,0 mg-Proz. Ca im Serum, bei alveolarer  $CO_2$ -Spannung,  $p_H$  etwa 7,4 und einem P-Gehalt von 3,5 mg stellt das Serum bei 20° eine etwa 8,0 mg-Proz. ionisiertes Ca enthaltende gesättigte Lösung von Ca-mono- und -diphosphat dar, das im Gleichgewicht mit etwa 2 mg nicht dialysierendem, nicht ionisiertem Ca steht, das etwa zur Hälfte aus Ca-Eiweiß, zur Hälfte aus einer unbekanntem Ca-Phosphatverbindung besteht. Die Sättigungsgrenze

für die Ca-Phosphate liegt also um mehr als die Hälfte niedriger als die der Bicarbonate (19 mg) unter gleichen Bedingungen.

Für die Ca-Phosphate gilt die Gleichung

$$[\text{Ca}^{++}][\text{HPO}_4^-] = K.$$

Der Wert der Konstanten beträgt  $K = 1,8_{(200)}$ . Demnach muß Vermehrung von Phosphat oder Ca und Abnahme der  $p_{\text{H}}$  zum Auftreten molekularer Ca-Phosphatsalze führen.

#### Literatur.

1) Diese Zeitschr. 165, 1925. — 2) Ebendasselbst 49, 1913. — 3) Ebendasselbst 157, 1925. — 4) Journ. of biol. Chem. 58, 1924.

---

## Beiträge zur Frage der Glykolyse.

VI. Mitteilung:

Über die Verteilung des Phosphors im Blute.

Von

P. Rona und Ken Iwasaki.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität,  
Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 16. Mai 1926.)

Mit 12 Abbildungen im Text.

Bei dem Studium des Zuckerabbaues im Blute ist in neuerer Zeit dem Verhalten des Phosphors bzw. der Phosphate während der Glykolyse eine erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt worden. Ohne zunächst auf die bereits umfangreiche Literatur in dieser Richtung einzugehen, seien in der vorliegenden Mitteilung nur unsere eigenen experimentellen Untersuchungen über diesen Gegenstand mitgeteilt.

### Methodisches.

Die Kaninchen wurden aus der Carotis entblutet (zu einem Versuch wurden gewöhnlich drei große Tiere benutzt), das Blut wurde mit sterilen Glasperlen defibriniert und bei 37° mehrere (bis 8) Stunden lang gehalten. Die einzelnen Proben wurden dann nach *Schenck* enteiweißt (z. B. 50 g Blut, 50 ccm Wasser, 100 ccm 2proz. HCl, 100 ccm 5proz. HgCl<sub>2</sub>), nach 16 bis 20 Stunden wurde abgenutscht, das Filtrat mit H<sub>2</sub>S behandelt, filtriert, 200 bis 220 ccm Filtrat im Luftstrom von H<sub>2</sub>S befreit, bis zur schwach sauren Reaktion NaOH zugefügt, auf dem Wasserbad bis etwa 30 ccm eingeengt, schließlich auf 50 ccm aufgefüllt („Versuchsflüssigkeit“). Die P-Bestimmung erfolgte nach *Lieb* oder nach *Embden*. Bei dem Sammeln des Phosphormolybdatniederschlags nach *Lieb* erwiesen sich Asbestglasfilter von nebenstehender Form als sehr geeignet (Abb. 1). Bei der Hydrolyse wurde eine etwa 1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> entsprechende Menge [meist 3 ccm<sup>1)</sup>]

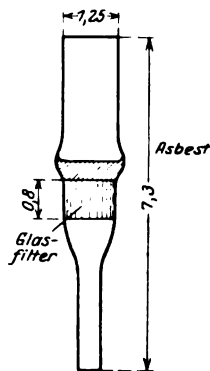


Abb. 1.

1) Die niedrigste bestimmte Menge war 0,5 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

in kleinen Gefäßen zunächst gegen Lackmus genau neutralisiert, dann 5 ccm n HCl und Wasser bis 10 ccm hinzugefügt. Die Erhitzung (während der in den Versuchen angegebenen Dauer) erfolgte (nach Angaben von Prof. *Suto*) im Dampfraum auf dem mit einer Glasglocke bedeckten Wasserbad in der in Abb. 2 skizzierten Weise. Der untere Rand der

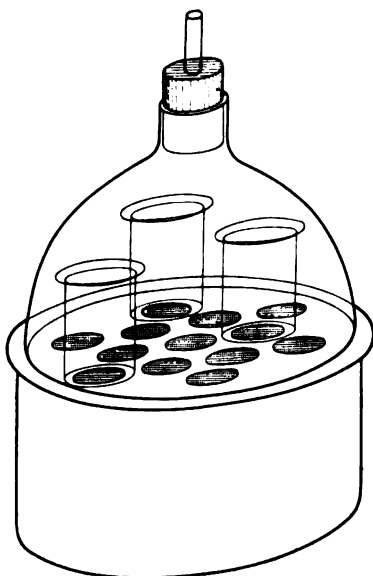


Abb. 2.

Glasglocke ist vorteilhaft noch mit Leinwandlappen zu umgeben, zum besseren Abschluß des Dampfraums. (In der Abb. 2 nicht gezeichnet). Die Veraschung des enteweißten Blutes zur Bestimmung des Gesamt-P erfolgte in einer etwa 1 mg  $P_2O_5$  entsprechenden Menge. Diese wurde auf dem Wasserbad getrocknet, mit Salpetermischung eine Schmelze bereitet; die Schmelze wird im Porzellantiegel mit  $HNO_3$  (etwa 7 ccm, 1,2 D) übergossen, sofort mit Porzellandeckel bedeckt, nach 30 bis 60 Minuten in ein Reagenzglas gespült, das  $NO_2$  durch Kochen verjagt, dann weiter nach *Lieb* verfahren. Die Zuckerbestimmung erfolgte nach *Hagedorn-Jensen*. (Auch hier erwies sich als vorteilhaft, die Reduktion der Ferricyanidlösung im Dampfraum auf dem Wasserbad unter der Glasglocke vorzunehmen.) Die Milchsäurebestimmung nach *Hirsch-Kauffmann*.

## I.

Betrachten wir zunächst zur ersten Orientierung das Verhalten des anorganischen Phosphats (also des mit dem Molybdänreagens fällbaren Phosphats), so nimmt dieses, wie bereits bekannt, im Blute während des Stehens in vitro (bei  $37^0$ ) zu. Mit der Glykolyse direkt hat diese Zunahme jedoch nichts zu tun, da sie auch in den Fällen zu beobachten ist, wo die Glykolyse durch FNa-Zusatz oder durch Herstellung einer ungünstigen  $H^+$ -Ionenkonzentration<sup>1)</sup> aufgehoben ist. Einige Beispiele hierfür geben folgende Tabellen:

Tabelle I.

Defibriertes Kaninchenblut,  $p_H$  7,4,  $37^0$ .

	Anfangswert	10'	25'	60'
Zucker . . . . Proz.	0,128	0,123	0,122	0,092
Milchsäure . . . "	0,0770	0,0675	0,0689	0,0821
Anorg. P ( $P_2O_5$ ) "	0,0160	0,0159	0,0174	0,0241

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu *Rona und Wilenko*, diese Zeitschrift 62, 1, 1914.

Tabelle II.

Defibriniertes Kaninchenblut,  $p_H$  7,4, 37°.

	Ausgangswert	30'	1h	2h	4h
Zucker . . . . Proz.	0,111	0,099	0,096	0,092	0,065
Milchsäure . . . "	0,0459	0,0525	0,0578	0,0675	—
Anorg. P ( $P_2O_5$ ) "	0,0183	0,0175	0,0185	0,0194	0,0224

Tabelle III.

Defibriniertes Kaninchenblut, mit Essigsäure versetzt,  $p_H$  6,0, 37°.

	Anfangswert	1h	2h	3h	4h
Zucker . Proz.	{ 0,113 0,111 } 0,112	{ 0,113 0,111 } 0,112	—	{ 0,108 0,108 } 0,108	{ 0,111 0,108 } 0,110
Anorg. P ( $P_2O_5$ ) Proz.	{ 0,0205 0,0199 } 0,0202	{ 0,0237 0,0234 } 0,0236	{ 0,0266 0,0262 } 0,0264	{ 0,0287 0,0287 } 0,0287	{ 0,0306 0,0307 } 0,0307

Tabelle IV.

Kaninchenblut mit FNa (0,4proz.), 37°,  $p_H$  7,4.

	Anfangswert	1h	3h	5h
Zucker . . Proz.	{ 0,125 0,124 } 0,125	—	—	{ 0,124 0,125 } 0,125
Milchsäure Proz.	{ 0,0566 0,0550 } 0,0553	{ 0,0579 0,0579 } 0,0579	{ 0,0590 0,0579 } 0,0585	{ 0,0652 0,0667 } 0,0660
Anorg. P ( $P_2O_5$ ) Proz.	{ 0,0176 0,0170 } 0,0173	{ 0,0177 0,0173 } 0,0175	{ 0,0211 0,0211 } 0,0211	{ 0,0240 0,0244 } 0,0242

Diese Versuche zeigen deutlich die Vermehrung des „anorganischen Phosphors“ beim Stehen des Blutes bei 37°. Diese Zunahme ist viel stärker bei  $p_H$  6 als bei  $p_H$  7, obgleich bei  $p_H$  6 eine Glykolyse nicht mehr statthat.

## II.

Die Zunahme des „anorganischen Phosphors“ kann entweder aus höheren kolloidalen Phosphorverbindungen (Eiweiß, Phosphatide) stammen, die während des Stehens des Blutes durch autolytische Prozesse zerfallen, oder die Blutflüssigkeit enthält noch organische aber „nicht kolloidale“ (d. h. bei der Enteiweißung nicht fällbare) Phosphorverbindungen, aus denen (fermentativ) allmählich der anorganische (molybdänfällbare) Phosphor abgespalten wird. Daß die letztere Annahme zutrifft, zeigt zunächst orientierend die folgende Tabelle:

Tabelle V.

Menge des anorganischen P\*) (in Gramm Ammonphosphormolybdat).

	I. 6,5 ccm Versuchsfüssigkeit	II. 8,0 ccm Versuchsfüssigkeit
Vor der Veraschung . . .	{ 0,0227 } 0,0223 0,0220	{ 0,0227 } 0,0230 0,0232
Nach der Veraschung des enteiweißten Blutes	{ 0,0800 } 0,0803 0,0806	{ 0,1037 } 0,1036 0,1034

\*) Bestimmung nach *Lieb*. Versuchsanordnung: 40 g Blut, 40 ccm Wasser, 80 ccm 2proz. HCl, 80 ccm 5proz. HgCl<sub>2</sub>; 170 ccm Filtrat, dieses eingeengt auf 50 ccm („Versuchsfüssigkeit“).

Wie man sieht, ist die Menge des anorganischen Phosphors nach der Veraschung der enteiweißten Blutflüssigkeit über das Vierfache der direkt nach *Lieb* fällbaren Menge. Das Blut enthält demnach organische, „nicht kolloidale“ Phosphorverbindungen (vorläufig P<sub>x</sub> genannt), die bei der Vermehrung des anorganischen Phosphors in Betracht kommen.

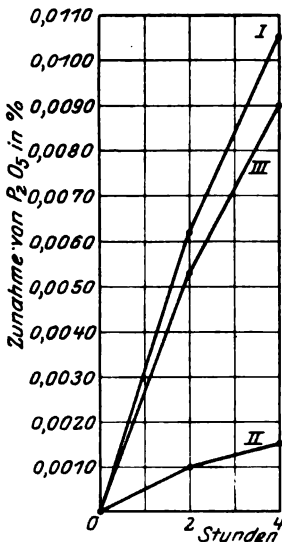


Abb. 3 zu Tabelle VI.

## III.

Um zu entscheiden, ob und wie weit autolytische Vorgänge in kolloidalen Phosphorverbindungen für die Zunahme des anorganischen Phosphors berücksichtigt werden müssen, sind die folgenden vier Versuchsreihen angestellt worden. In diesen wurde zu verschiedenen Zeiten des Aufenthalts des Blutes in vitro bei 37° der anorganische Phosphor nach *Lieb* bestimmt, wie auch gleichzeitig jedesmal die Gesamtphosphormenge des enteiweißten Blutes.

Tabelle VI. (Abb. 3.)

Defibriniertes Kaninchenblut (mit Essigsäure versetzt), p<sub>H</sub> 5,88. 37°.

	Anfangswert *)		2h		4h	
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
I. Anorg. P . . .	{ 0,0227 } 0,0205 0,0220 } 0,0199	{ 0,0205 } 0,0202 0,0199	{ 0,0295 } 0,0266 0,0290 } 0,0262	{ 0,0266 } 0,0264 0,0262	{ 0,0359 } 0,0306 0,0360 } 0,0307	{ 0,0306 } 0,0307 0,0307
II. Gesamt-P im enteiweißten Blute (nach Veraschung)	{ 0,0246 } 0,0722 0,0247 } 0,0725	{ 0,0722 } 0,0724 0,0725	{ 0,0250 } 0,0734 0,0249 } 0,0731	{ 0,0734 } 0,0733 0,0731	{ 0,0265 } 0,0735 0,0268 } 0,0742	{ 0,0735 } 0,0738 0,0742
II minus I (P <sub>x</sub> )	—	0,0522	—	0,0469	—	0,0431

\*) Alle Bestimmungen nach *Lieb*. Unter g sind in dieser wie auch in allen folgenden Tabellen die Gewichtsmengen des Ammonphosphormolybdat-Niederschlags angegeben, unter Proz. P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> die aus dem Niederschlag berechnete Menge g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> auf 100 g Blut. Nd. = Niederschlag.



*Tabelle VII.* (Abb. 4.)  
Defibriertes Kaninchenblut (mit Essigsäure versetzt)  $p_H$  6,09. 37°.

	Anfangswert		1h		3h		5h		8h ( $p_H$ 6,05)		
	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	
I. Anorg. P	nach Lieb	{ 0,0296 0,0298 } 0,0213 0,0215	{ 0,0377 0,0377 } 0,0243 0,0243	{ 0,0404 0,0400 } 0,0291 0,0288	{ 0,0490 0,0486 } 0,0353 0,0350	{ 0,0557 0,0562 } 0,0402 0,0405	nach Embden	{ 0,0241 0,0236 } 0,0135 0,0133	{ 0,0446 0,0448 } 0,0271 0,0269	{ 0,0545 0,0545 } 0,0331 0,0331	{ 0,0670 0,0666 } 0,0375 0,0373
	II. Gesamt-P im entweißen Blute (nach Veraschung, Methode Lieb)	{ 0,0326 0,0329 } 0,0770 0,0777	{ 0,0329 0,0336 } 0,0777 0,0779	{ 0,0326 0,0326 } 0,0770 0,0770	{ 0,0328 0,0330 } 0,0775 0,0779	{ 0,0331 0,0329 } 0,0782 0,0777		II minus I ( $P_x$ )	0,0560	0,0480	0,0425
		0,0640	0,0584	0,0499	0,0446						

*Tabelle VIII.* (Abb. 5.)  
Defibriertes Kaninchenblut.  $p_H$  etwa 7,4. P-Bestimmung nach Lieb. 37°.

	Anfangswert		1h		3h		5h		
	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	
I. Anorg. P	{ 0,0210 0,0221 } 0,0187 0,0196	{ 0,0208 0,0209 } 0,0208 0,0209	{ 0,0230 0,0224 } 0,0230 0,0224	{ 0,0248 0,0251 } 0,0248 0,0251	II. Gesamt-P im entweißen Blute (nach Veraschung)	{ 0,0354 0,0354 } 0,0785 0,0785	{ 0,0309 0,0312 } 0,0771 0,0778	{ 0,0314 0,0315 } 0,0783 0,0786	{ 0,0320 0,0318 } 0,0798 0,0793
	II minus I ( $P_x$ )		0,0592	0,0566		0,0558			0,0546

Die Versuche, zwei bei  $p_H$  6, zwei bei  $p_H$  7 angestellt, zeigen übereinstimmend, daß die Gesamtmenge des in der entweißten Blutflüssigkeit festgestellten Phosphors (nach dem Veraschen nach *Lieb* bzw. nach *Embden* bestimmt) konstant oder so gut wie konstant bleibt, obgleich die Zunahme des anorganischen Phosphors, namentlich in den Versuchen bei  $p_H$  6, ganz bedeutend ist. Diese Vermehrung kann demnach nicht aus höheren „kolloidalen“ Phosphorverbindungen stammen, sondern ihre Quelle muß in weit überwiegender Menge in den Verbindungen, die wir oben  $P_z$  nannten, gesucht werden. Nur

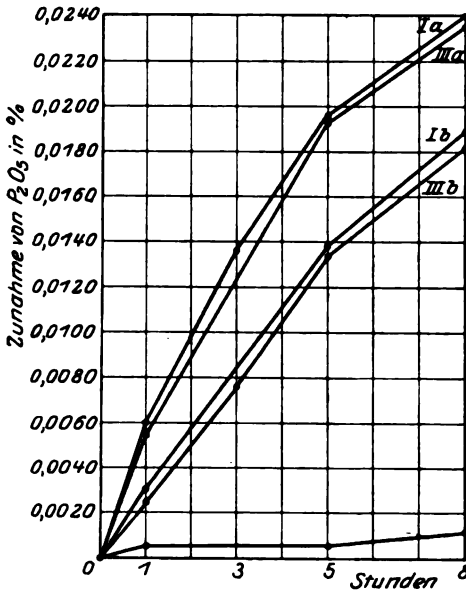


Abb. 4 zu Tabelle VII.

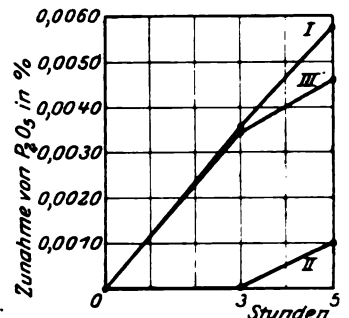


Abb. 5 zu Tabelle VIII.

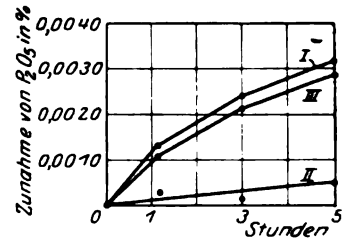


Abb. 6 zu Tabelle IX.

ein ganz kleiner Teil, entsprechend der ganz kleinen Vermehrung des Gesamt-P in der veraschenen Lösung im Verlauf des Versuchs hat ihren Ursprung in der Autolyse höherer phosphorhaltiger Komplexe. Nebenbei sei bemerkt, daß der anorganische Phosphor (ausgedrückt in  $P_2O_5$ ) nach der *Liebschen* Methode etwas höher ist als bei der *Embden*schen; diese letztere Methode ist also die schonendere, und die Gefahr, daß esterartige Verbindungen dabei hydrolysiert werden, ist viel geringer. Die mit der *Liebschen* Methode gewonnenen Ergebnisse werden in den wesentlichen Punkten hierdurch jedoch nicht berührt.

#### IV.

Die Verbindung  $P_z$ , die der organische Phosphor durch (fermentative) Zerlegung im aufbewahrten Blute liefert, ist, wie die folgenden Versuche zeigen, hydrolysierbar. Die Tabelle X gibt die Ergebnisse

Tabelle IX. (Abb. 6.) Defibriertes Kaninchenblut.  $p_H$  etwa 7,4. P-Bestimmung nach Lieb. 37°.

	Anfangswert		1h 15'		3h		5h	
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
I. Anorg. P . . . . .	0,0347	0,0200	0,0275 0,0280	0,0211 0,0215	0,0292 0,0290	0,0223 0,0224	0,0300 0,0304	0,0230 0,0233
II. Gesamt-P im entweißten Blute (nach Veraschung)	0,0562 0,0560	0,0801 0,0798	0,0418 0,0418	0,0802 0,0802	0,0418 0,0417	0,0802 0,0800	0,0416 0,0421	0,0798 0,0809
II minus I (P <sub>x</sub> ) . . . . .		0,0600		0,0589		0,0577		0,0572

Tabelle X. Hydrolyse von P<sub>x</sub>.

	Versuch I		Versuch II		Versuch III	
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Gesamt-P (nach Veraschung) . . . . .	0,0326 0,0329	0,0770 0,0777	0,0785 0,0785	0,0785	0,0801 0,0798	0,0800
Anfangswert des anorg. P (Methode Lieb)	0,0296 0,0298	0,0213 0,0215	0,0187 0,0196	0,0193		0,0200
Anorg. P nach der Hydrolyse (Kochen mit 2 Proz. HCl 8h)	0,0423 0,0420	0,0427 0,0424	0,0521 0,0519	0,0520	0,0490 0,0483	0,0487

Tabelle XI. Hydrolyse von P<sub>x</sub>.

Versuch:	I		II		III		Hydrolysiert. Anteil Proz.
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
Ammonphosphormolybdat in g nach der Veraschung	0,0358 0,0354	0,0433 0,0433	0,0433 0,0433	0,0433	0,0405 0,0405	0,0405	100
Ammonphosphormolybdat in g nach der Hydrolyse im Autoklaven*)	0,0310 0,0314	0,0312	0,0428 0,0427	0,0428			87,6
	0,0355 0,0353	0,0354			0,0402 0,0403	0,0403	99,4—99,5

\*) Versuchsanordnung. Versuch I: 175 g defibriertes Blut 175 ccm Wasser, 350 ccm 2 Proz. HCl, 350 ccm 5 Proz. Hg Cl<sub>2</sub>; Filtrat 800 ccm, eingeengt auf 200 ccm; davon werden 2,0 ccm versacht, weitere 2,0 ccm mit 3,0 ccm Wasser und 5,0 ccm n HCl bei 2,5 Atm. im Autoklaven behandelt. — Versuch II: 50 g defibriertes Blut, 50 ccm Wasser, 100 ccm 2 Proz. HCl, 100 ccm 5 Proz. Hg Cl<sub>2</sub>; Filtrat 220 ccm, eingeengt auf 100 ccm; davon werden 5,0 ccm versacht, weitere 5,0 ccm mit 5,0 ccm n HCl bei 2,5 Atm. im Autoklaven behandelt. — Versuch III: 40 g defibriertes Blut, 40 ccm Wasser, 80 ccm 2 Proz. HCl, 80 ccm 5 Proz. Hg Cl<sub>2</sub>; Filtrat 170 ccm, eingeengt auf 50 ccm; davon werden 3,0 ccm versacht; weitere 3,0 ccm werden mit 2,0 ccm H<sub>2</sub>O und 5,0 ccm n HCl im Autoklaven behandelt.

von drei Versuchen wieder, in denen die Versuchsflüssigkeit 8 Stunden mit 2proz. HCl gekocht wurde.

Ein Teil der  $P_x$ -Verbindung erwies sich demnach bei dieser Behandlung durch Säure spaltbar. Wurde die entweißte Lösung weiterhin 6 bis 8 Stunden lang mit  $n/2$  HCl bei 2,5 Atm. autoklaviert und dann sowohl in der autoklavierten Lösung als auch in einer anderen Probe der Versuchsflüssigkeit nach der Veraschung der Phosphor nach *Lieb* bestimmt, so erhielt man genau die gleichen Werte.

100Proz. (genauer 98,9 bzw. 99,5 Proz.) der Phosphorverbindungen der eiweißfreien Blutflüssigkeit ist hydrolysierbar und liefert das  $PO_4$ -Ion. Die  $P_x$ -Verbindung ist demnach in ihrer Gesamtheit ein Phosphorsäureester.

Mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit spricht die Tatsache, daß erst bei der energischen Hydrolyse im Autoklaven eine vollständige Hydrolyse zu erzielen ist, während bei einer kurzdauernden Hydrolyse (mit 2 Proz. HCl bei  $100^0$ ) nur ein Teil der Verbindung gespalten wird, dafür, daß man es hier mit zwei Arten von Estern zu tun hat, mit einem leicht und einem schwer hydrolysierbaren. Hierfür spricht auch der Gang der hydrolytischen Spaltung, der zunächst ziemlich steil verläuft, dann aber — etwa nach 1 Stunde — mehr oder weniger scharf in eine mäßig gekrümmte Kurve umbiegt. Der Verlauf dieses letzteren Teiles (nicht etwa der der ganzen Kurve vom Anfang der Hydrolyse) entspricht einer monomolekularen Reaktion. Dies zeigen die folgenden zwei Versuchsreihen.

Versuchsordnung: 100 g defibriniertes Kaninchenblut, 100 ccm Wasser, 200 ccm 2proz. HCl, 200 ccm 5proz.  $HgCl_2$ , Filtrat 470 ccm, eingeeengt auf 100 ccm; davon je 5 ccm bei  $100^0$  mit 5 ccm  $n/2$  HCl hydrolysiert. P-Bestimmung nach *Embden*. Die Berechnung der Umsätze in der folgenden Tabelle XII geht von dem Werte 1 Stunde nach Beginn der Hydrolyse aus. Die Hydrolyse verlief in mit Glaskappe bedeckten Reagenzgläsern, die im Wasserbad von  $100^0$  standen. Das Ganze ist mit einer Glasglocke wie in Abb. 2 bedeckt. Bei dieser Anordnung ist selbst nach 10 Stunden nicht die geringste Verdunstung und kein HCl-Verlust in den einzelnen Proben zu beobachten.

Tabelle XII.

$t$ (in Stunden)	Strychnin- Molybdänsäure- niederschlag g	$x$	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
0	0,0376		
1	0,0422	0,0046	0,0195
2	0,0472	0,0096	0,0203
3	0,0515	0,0139	0,0206
4	0,0549	0,0173	0,0196
5	0,0585	0,0209	0,0193
6	0,0616	0,0240	0,0188
$\infty$	0,1425	0,1049 = $a$	$k$ (im Mittel) 0,0197
	Autoklavenwert		

Versuchsordnung: 175 g defibriertes Kaninchenblut, 175 ccm Wasser, 350 ccm 2proz. HCl, 350 ccm 5proz. HgCl<sub>2</sub>; Filtrat 860 ccm, eingeengt auf 200 ccm; davon je 5 ccm bei 100° mit 5 ccm n/2 HCl hydrolysiert. Bestimmung nach *Embden*. Die Berechnung der Umsätze in der folgenden Tabelle XIII geht von dem Werte 2 Stunden nach Beginn der Hydrolyse aus. P-Bestimmung nach *Embden*.

Tabelle XIII.

t (in Minuten)	Strychnin- Molybdän säure- niederschlag g	x	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
0	0,0408		
60	0,0452 <sub>a</sub>	0,0044	0,0446 <sub>7</sub>
150	0,0610	0,0102	0,0432 <sub>7</sub>
240	0,0658	0,0150	0,0413
360	0,0619	0,0211	0,0408
∞	0,1143 Autoklavenwert	0,0735 = a	

## V.

Übersehen wir nach diesen Befunden die P-Verteilung im Blute, so müssen wir hier neben hochmolekularen, bei der Enteiweißung ausfällbaren P-Verbindungen auch „nicht kolloidale“ Verbindungen annehmen, von denen 10 bis 20 Proz. direkt mit dem Molybdänreagens fällbar sind, während die übrigen, etwa 80 Proz., von Phosphorsäureestern gebildet werden, und bei denen eine leicht und eine schwer hydrolysierbare Fraktion zu unterscheiden ist. Über die Natur dieses Esters sind weitere Untersuchungen im Gange.

Im folgenden seien eine Reihe systematischer Untersuchungen über die P-Verteilung in der enteiweißten Blutflüssigkeit mitgeteilt. Versuch XIV bis XVI ist bei  $p_H$  7, Versuch XVII bis XIX bei  $p_H$  6 angestellt, die in den Tabellen XIV bis XIX zusammengestellt sind.

Die Versuche bestätigen die oben mitgeteilten Befunde. Namentlich bei  $p_H$  6 ist die Zunahme des anorganischen Phosphors, der durch (fermentative) Spaltung der Phosphorsäureester entsteht, besonders groß. Das Optimum der Phosphatasewirkung muß also in diesem  $p_H$ -Bereich liegen, während das glykolytische Ferment am besten am  $p_H$  7 wirkt und bei  $p_H$  6 überhaupt wirkungslos ist. Der Wert nach der Veraschung wie auch nach der Autoklavierung bleibt bei der Aufbewahrung des Blutes sowohl bei  $p_H$  7 wie auch bei  $p_H$  6 (so gut wie) konstant.

Einige Besonderheiten zeigen die bei  $p_H$  7 angestellten Versuche im ersten Stadium. In einigen Fällen, z. B. in Versuch Tabelle XIV, Abb. 7, tritt die allmähliche Abnahme der Phosphorsäureester (und dementsprechend die Zunahme des anorganischen Phosphors) erst von

Tabelle XIV. P-Verteilung im entweißten Blute. Defibriertes Kaninchenblut.  $p_H$  etwa 7,4. 37°. (Abb. 7.)

	Anfangswert		2h		4h		7h	
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
I. Anorg. P [nach Embden*] . . .	{ 0,222 0,226	{ 0,105 0,107	{ 0,232 0,238	{ 0,110 0,113	{ 0,271 0,268	{ 0,128 0,126	{ 0,362 0,366	{ 0,171 0,173
Phosphorsäure- ester	{ 0,255 0,253	{ 0,255 0,253	{ 0,255 0,258	{ 0,255 0,258	{ 0,264 0,267	{ 0,264 0,267	{ 0,295 0,293	{ 0,295 0,293
		0,433		0,434		0,424		0,398
IV. Gesamt-P	{ 0,345 0,342	{ 0,690 0,684	{ 0,345 0,346	{ 0,692 0,690	{ 0,346 0,344	{ 0,692 0,688	{ 0,345 0,377	{ 0,690 0,694
	{ 0,344 0,344	{ 0,688 0,688	{ 0,344 0,346	{ 0,688 0,692	{ 0,347 0,348	{ 0,694 0,696	{ 0,347 0,347	{ 0,694 0,694

\*) Die übrigen P-Bestimmungen sind nach der Methode von Lieb ausgeführt.

\*\*) Hydrolyse mit n/2 HCl 2 Stunden bei 100°. (Dabei wird ein kleiner Teil des „schwer hydrolyisierbaren“ Esters auch hydrolysiert.)

\*\*\*) Differenz von IV und II. Die Autoklavierung erfolgte mit n/2 HCl während 8 Stunden bei 2,5 Atm.

Tabelle XV. P-Verteilung im entweißten Blute. Defibriertes Kaninchenblut.  $p_H$  etwa 7,4. 37°. (Abb. 8.)

	Anfangswert		2h		4h		7h	
	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	g Nd.	Proz. P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
I. Anorg. P	{ 0,358 0,364	{ 0,216 0,220	{ 0,340 0,350	{ 0,205 0,212	{ 0,400 0,401	{ 0,242 0,242	{ 0,474 0,481	{ 0,286 0,291
Nach Lieb	{ 0,433 0,433	{ 0,202 0,202	{ 0,371 0,367	{ 0,173 0,171	{ 0,450 0,453	{ 0,210 0,211	{ 0,573 0,577	{ 0,267 0,269
Nach Embden*)								
Phosphorsäure- ester	{ 0,236 0,234	{ 0,329 0,327	{ 0,222 0,221	{ 0,310 0,308	{ 0,239 0,235	{ 0,334 0,328	{ 0,267 0,265	{ 0,372 0,370
		0,458		0,476		0,457		0,422
IV. Gesamt-P	{ 0,428 0,427	{ 0,776 0,772	{ 0,431 0,429	{ 0,782 0,778	{ 0,428 0,428	{ 0,776 0,776	{ 0,432 0,428	{ 0,784 0,776
	{ 0,433 0,433	{ 0,786 0,786	{ 0,431 0,434	{ 0,782 0,787	{ 0,435 0,434	{ 0,789 0,787	{ 0,437 0,438	{ 0,793 0,795

\*) Die übrigen P-Bestimmungen sind nach der Methode von Lieb ausgeführt. Sonst Methodik wie in Tabelle XIV.

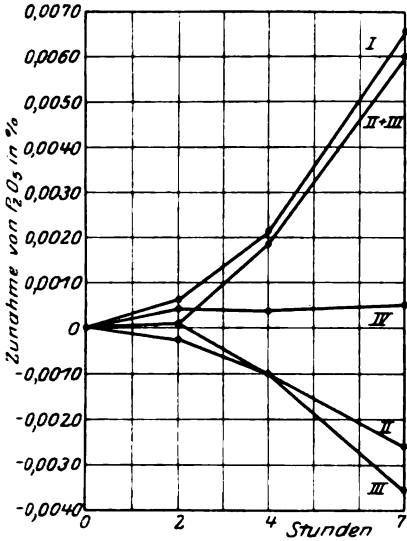


Abb. 7 zu Tabelle XIV.

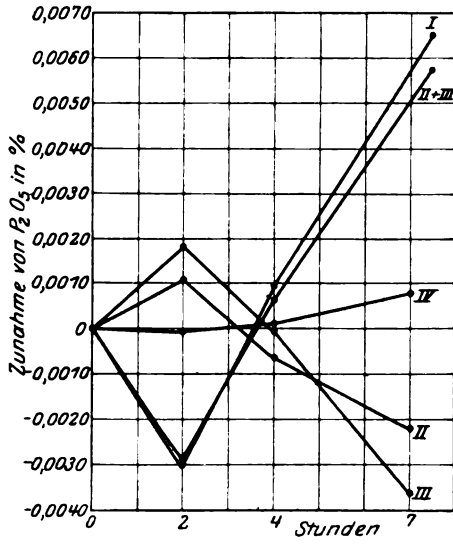


Abb. 8 zu Tabelle XV.

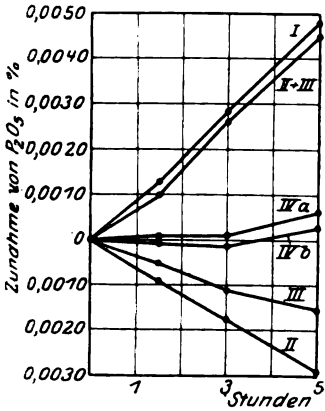


Abb. 9 zu Tabelle XVI.

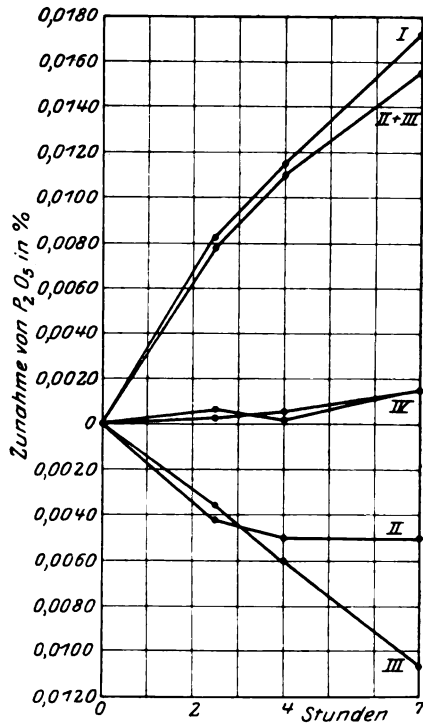


Abb. 10 zu Tabelle XVII.

Tabelle XVI. P-Verteilung im entweißen Blute\*). Defibriertes Kaninchenblut.  $p_H$  7,36. 37°. (Abb. 9.)

	Anfangswert		1h30'		3h		5h ( $p_H$ 7,22)	
	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$
I. Anorg. P . . . . .	0,0233 0,0236	0,0171 0,0172	0,0251 0,0250	0,0185 0,0184	0,0271 0,0269	0,0199 0,0197	0,0303 0,0300	0,0223 0,0222
Phosphorsäure- ester	0,0417 0,0415	0,0305 0,0306	0,0421 0,0422	0,0309 0,0310	0,0429 0,0428	0,0315 0,0314	0,0443 0,0443	0,0325 0,0325
Leicht hydrolysier- bar (II) + Anorg. P(I)				0,0477		0,0471		
Schwer hydrolysierbar (III)		0,0482						0,0466
nach dem Autoklavieren	0,0402 0,0402	0,0788 0,0788	0,0400 0,0403	0,0784 0,0789	0,0400 0,0403	0,0784 0,0788	0,0403 0,0405	0,0789 0,0793
IV. Gesamt-P nach dem Veraschen	0,0405 0,0405	0,0793 0,0793	0,0405 0,0406	0,0793 0,0793	0,0404 0,0404	0,0789 0,0797	0,0409 0,0405	0,0801 0,0793

\*) Alle Bestimmungen sind mit der Methode nach Lieb ausgeführt. Sonst Methodik wie in Tabelle XIV.

Tabelle XVII.

P-Verteilung im entweißen Blute\*). Defibriertes Kaninchenblut (mit Essigsäure versetzt).  $p_H$  6,24. 37°. (Abb. 10.)

	Anfangswert		2h30'		4h		7h ( $p_H$ 6,15)	
	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$
I. Anorg. P . . . . .	0,0227 0,0232	0,0167 0,0170	0,0338	0,0248	0,0385 0,0383	0,0283 0,0281	0,0464 0,0465	0,0341 0,0342
Leicht hydrolysier- bar (II) + Anorg. P(I)	0,0414 0,0416	0,0304 0,0306	0,0468 0,0467	0,0344 0,0343	0,0500 0,0502	0,0367 0,0369	0,0586 0,0584	0,0430 0,0429
Phosphorsäure- ester		0,0593		0,0515		0,0482		0,0437
Schwer hydrolysierbar (III)								
nach dem Autoklavieren	0,0389 0,0388	0,0762 0,0760	0,0391 0,0388	0,0766 0,0760	0,0392 0,0393	0,0764 0,0764	0,0398 0,0396	0,0780 0,0776
IV. Gesamt-P nach dem Veraschen	0,0392 0,0390	0,0768 0,0764	0,0393 0,0395	0,0770 0,0774	0,0392 0,0392	0,0768	0,0398 0,0400	0,0780 0,0784

\*) Alle P-Bestimmungen nach Lieb. Methodik sonst wie in Tabelle XIV.



*Tabelle XVIII.*  
P-Verteilung im entweißensten Blute \*). Defibriertes Kaninchenblut (mit Essigsäure versetzt).  $p_H$  5,98. 37°. (Abb. 11.)

	Anfangswert			2h			4h			6h ( $p_H$ 5,86)		
	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$	g Nd.	Proz. $P_2O_5$
I. Anorg. P	nach <i>Lieb</i>											
	{	0,0278	0,0194	0,0196	0,0278	0,0259	0,0260	0,0444	0,0310	0,0311	0,0499	0,0348
	{	0,0283	0,0198		0,0283	0,0260		0,0446	0,0311		0,0497	0,0348
Phosphorsäure-ester	nach <i>Embden</i> *)											
	{	0,0312	0,0168	0,0167	0,0477	0,0257	0,0258	0,0563	0,0303	0,0304	0,0647	0,0348
	{	0,0308	0,0166		0,0480	0,0258		0,0667	0,0305		0,0646	0,0348
IV. Gesamt-P im entweißensten Blute	Leicht hydrolysierbar (II) + Anorg. P(I)											
	{	0,0359	0,0407	0,0407	0,0378	0,0429	0,0430	0,0402	0,0456	0,0455	0,0419	0,0475
	{	0,0358	0,0406		0,0379	0,0430		0,0400	0,0454		0,0419	0,0475
IV. Gesamt-P im entweißensten Blute	Schwer hydrolysierbar (III)											
	{		0,0318			0,0286			0,0270			0,0251
IV. Gesamt-P im entweißensten Blute	nach <i>Veraschung</i>											
	{	0,0319	0,0723	0,0725	0,0320	0,0726	0,0726	0,0320	0,0726	0,0725	0,0320	0,0726
	{	0,0320	0,0726		0,0320	0,0726		0,0319	0,0723		0,0320	0,0726

\*) Die übrigen Bestimmungen sind nach der *Lieb*schen Methode angestellt.

*Tabelle XIX.*  
P-Verteilung im entweißensten Blute \*). Defibriertes Kaninchenblut (mit Essigsäure versetzt).  $p_H$  6,03. 37°. (Abb. 12.)

	Anfangswert		2h		6h ( $p_H$ 5,92)	
	g	Proz.	g	Proz.	g	Proz.
I. Anorg. P ( $P_2O_5$ )	0,0200	0,0140	0,0315	0,0220	0,0406	0,0383
	0,0203	0,0142	0,0315	0,0220	0,0406	0,0383
Phosphorsäure-ester	0,0236	0,0330	0,0262	0,0367	0,0292	0,0409
	0,0235	0,0329	0,0262	0,0367	0,0290	0,0406
IV. Gesamt-P d. entweißensten Blutes		0,0319		0,0286		0,0255
		0,0649		0,0653		0,0663

\*) Bestimmung nach *Lieb*. Sonst Methodik wie in Tabelle XIV.

etwa der zweiten Stunde von Versuchsbeginn an auf. Im Versuch 2 sinkt anfangs die Menge des anorganischen Phosphors deutlich, während die Menge der esterartigen Verbindungen zunimmt. Hier könnte man an synthetische Vorgänge während der Glykolyse denken, auf die bereits andere Autoren hingewiesen haben<sup>1)</sup>. Bei den Versuchen bei  $p_H$  6 wurde ausnahmslos in allen Stadien eine Zunahme des anorganischen Phosphors auf Kosten der Phosphorsäureester beobachtet.

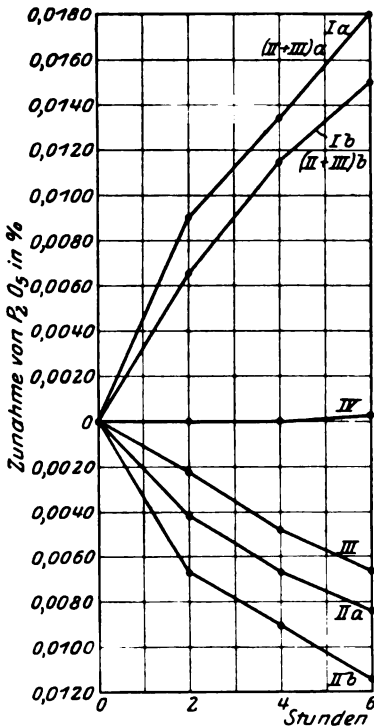


Abb. 11 zu Tabelle XVIII.

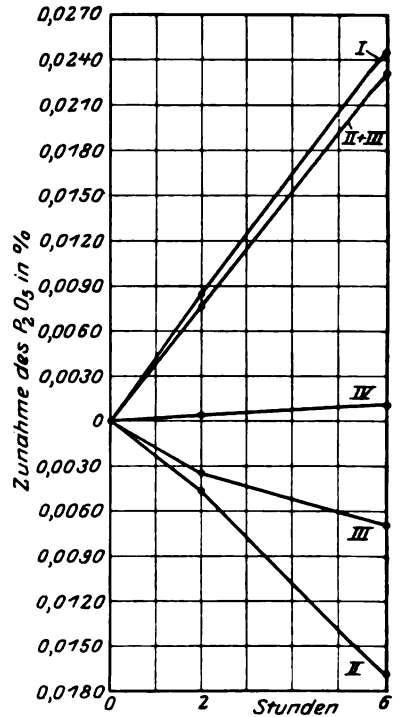


Abb. 12 zu Tabelle XIX.

#### Zusammenfassung.

1. Während des Aufbewahrens des Blutes *in vitro* bei 37° nimmt — wie bereits bekannt — die Phosphatmenge, d. h. der durch das Molybdänreagens fällbare Anteil des Gesamtphosphors, im Blute zu. Diese Zunahme hängt nicht mit glykolytischen Vorgängen zusammen, da sie auch dort, wo die Glykolyse durch FNa oder durch ungünstige H-Ionenkonzentration gehemmt ist, stattfindet.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu *Bierry und Moquet*, C. r. 90, 250, 1924; *Bierry, Rathery und Korilsky*, C. r. 90, 417, 1924; 92, 1925; *Bierry und Moquet*, C. r. 90, 116, 1924; *Briggs*, C. r. 59, 225, 1924.

2. Die Zunahme dieses anorganischen Phosphors ist nicht auf autolytische Vorgänge zurückzuführen, da die Menge des Gesamtphosphors in der enteiweißten Blutflüssigkeit während der Glykolyse bzw. des Stehens des Blutes *in vitro* nicht oder kaum nennenswert zunimmt.

3. Sie muß vielmehr auf den (fermentativen) Zerfall höherer, nicht kolloidaler (d. h. bei der Enteiweißung des Blutes nach *Schenck* nicht ausfällbarer) organischer Phosphorverbindungen zurückgeführt werden. Die Gesamtmenge des Phosphors, die außer dem direkt fällbaren anorganischen Phosphat in der enteiweißten Blutflüssigkeit zu finden ist, ist in Form esterartiger, säurehydrolysierbarer Verbindungen vorhanden. Die Versuche sprechen dafür, daß man zwischen einem leicht und einem schwer hydrolysierbaren Phosphorsäureester unterscheiden muß.

4. Die im Blute wirksame Phosphatase hat ihr Optimum bei etwa  $p_H$  6.

Weitere Untersuchungen über die Phosphorverteilung im Blute sind im Gange.

---

# Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinen.

VI. Mitteilung:

Säureglutine und Donnangleichgewicht.

Von

Wolfgang Pauli und Hugo Wit.

(Aus dem Institut für medizinische Kolloidchemie der Universität Wien.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

In einer vorausgegangenen Arbeit<sup>1)</sup> wurden in Untersuchungen am Ovalbumin und Seralbumin die Prinzipien zur Bestimmung der Aktivität und Konduktivität von Proteinsalzen in ihren Mischungen mit Säuren (Protein + steigendem Säurezusatz) entwickelt. Dabei fand sich mit wachsendem Säuregehalt eine Maximumbildung der Aktivität (und Konduktivität) mit folgendem Abfall, der bei weiterer Säurezugabe in eine schließlich vollständige Inaktivierung des Proteinsalzes übergeht. Da sich in älteren Versuchen ein ähnlicher Verlauf der Viskosität, der Hitzekoagulierbarkeit und Alkoholfällbarkeit gefunden hatte, dem auch ein analoger Gang der elektrophoretisch (kathodisch) überführten Eiweißmenge mit zunehmendem Säuregehalt entsprach (*Pauli* und *Samec*), so war der Zusammenhang aller dieser Erscheinungen evident, und man brauchte nur zu deren theoretischer Behandlung und zur Ergänzung der älteren *Paulischen* Vorstellung vom verschiedenen Verhalten des ionisierten und entionisierten Proteins, die neueren Anschauungen von der elektrostatischen Inaktivierung im Sinne von *Bjerrum-Lewis* anzuwenden, um auch auf diesem Gebiet den Übergang von der klassischen Dissoziationstheorie zur modernen Aktivitätstheorie zu vollziehen.

Für den Fall der osmotischen Druckmessung von Säureproteinen oder der Quellung von Eiweißgallerten in Säuren muß infolge des Festhaltens der Kolloidionen eine *Donnan*-Verteilung der übrigen vor-

---

<sup>1)</sup> *Frisch, Pauli* und *Valkó*, Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinen. V. Diese Zeitschr. 164, 401, 1925.

handenen Ionen resultieren, abhängig von den Aktivitäten der einzelnen Ionenarten, also auch der Proteinionen, eine Verteilung, die einen thermodynamisch notwendigen, aber für den Zustand des Proteins, wie sich zeigte, sekundären Vorgang darstellt. In der Tat variieren nämlich Aktivität, Konduktivität, Viskosität des Proteinsalzes und seine sonstigen Zustandseigenschaften, ähnlich wie der osmotische Druck und die Quellung, *ganz unabhängig davon, ob die Bedingungen für ein Donnangleichgewicht* — vor allem also behinderte Diffusibilität mindestens einer Ionenart — *gegeben sind oder nicht*. Damit erscheint der *Loeb'schen Lehre*, nach welcher das gesamte kolloidale Verhalten von Eiweißkörpern lediglich die Folge einer geänderten Verteilung der diffusiblen Ionen darstellt — selbst bei Anwendung auf den Fall der osmotischen Druckmessung in kolloidundurchlässigen Zellen —, der Boden entzogen.

Mit diesen Feststellungen sind jedoch die auf diesem Gebiete vorliegenden Probleme nur in ihren allgemeinen Zügen gegeben, während eine außerordentliche Zahl von vielfach auch grundsätzlich wichtigen Besonderheiten der Aufklärung harrt. Solche spezielle Fragen sind z. B. die quantitativen Beziehungen von Ladung (Aktivität) mit Hydratation und Viskosität, von Inaktivierung mit Flockbarkeit durch Alkohol und mit Hitzegerinnung und dergleichen. In dieser Hinsicht traten bemerkenswerte Einzelheiten bereits in der angeführten Untersuchung am Seralbumin und Ovalbumin hervor. So erhebt sich die Viskosität des Ovalbumins durch Säurezusatz im Maximum nur wenig über das Doppelte des Ausgangswertes, während die des Seralbumins unter den gleichen Umständen auf über das Zehnfache desselben ansteigt. Dagegen wird von der gleichen Ovalbuminmenge maximal nur um 20 Proz. weniger H aus der Säure aufgenommen als von Seralbumin.

Es schien nun zunächst angezeigt, die bisherigen Erfahrungen durch die Untersuchung eines weiteren wasserlöslichen Proteins zu ergänzen. Als solches wurde das Glutin gewählt, welches schon nach älteren Beobachtungen von *Pauli*<sup>1)</sup> mit *Handovsky*, mit *Matula* und mit *Falek*<sup>2)</sup> ein besonders günstiges Objekt für die in Betracht kommenden Messungen bildet. Ferner liegen hier neuere Angaben von *Loeb*<sup>3)</sup> und *Hückcock*<sup>4)</sup> vor, nach denen das Verhalten des Glutins im Widerspruch zu der Theorie *Pauli's* über den Zusammenhang von Hydra-

<sup>1)</sup> Literatur bei *Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden-Leipzig, Steinkopf, 1920.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 47, 269, 1912.

<sup>3)</sup> Die Eiweißkörper usw., S. 123. Berlin, J. Springer, 1924.

<sup>4)</sup> Journ. of gen. Physiol. 5, 383, 1923.

tation mit Ionisation (Aktivität) der Proteinsalze stehen soll, Angaben, deren Überprüfung wünschenswert war.

#### Versuchsmaterial und Methodik.

Gelatine „Goldmarke“ wurde 10 Tage lang in Mullsäcken unter Toluolzusatz bei täglich mehrmaligem Wasserwechsel vordialysiert, dann in einem großen Paulischen Elektrodialysierapparat zuerst unter Vorschaltung von zwei Kohlenfadenlampen, dann durch direkte Einschaltung in 220 Voltspannung bis zur Leitfähigkeitskonstanz elektrodialysiert. Die so hergestellte Lösung wurde, nachdem die obere wässrige Schicht abgehebert war, dem Apparat entnommen, vorsichtig am Wasserbad auf 45° erwärmt und durch ein gut vorgewaschenes Faltenfilter filtriert. Aus der so gewonnenen klaren, beim Erstarren leicht opalisierenden Lösung, deren Konzentration 5,66 Proz. betrug, wurden Stammlösungen hergestellt, welche bei Verdünnung auf das gleiche Volumen die Endkonzentrationen 1,415 und 0,707 Proz. lieferten. Die Leitfähigkeit dieser Lösungen stieg an der Luft etwas an, um dann schließlich die in den Tabellen angegebenen konstanten Werte zu erreichen. Die H-Ionenbestimmung ergab in den beiden Endkonzentrationen  $\alpha_{\text{H}} = 1,17 \cdot 10^{-5}$  bzw.  $\alpha_{\text{H}} = 5,97 \cdot 10^{-6}$ . Zur potentiometrischen H-Ionenbestimmung diente hierbei, wie bei allen übrigen H-Aktivitätsmessungen, die am Institute übliche Anordnung mit der rotierenden Elektrode von Pauli und als Bezugs elektrode eine n KCl-Kalomel elektrode. Als Zwischenflüssigkeit wurde eine 3,5 n und 1,75 n KCl-Lösung verwendet und der so gefundene Unterschied in Rechnung gebracht. Wir waren uns hierbei bewußt, daß dieses von Bjerrum angegebene Extrapolationsverfahren rein empirischer Natur ist und einer exakten theoretischen Grundlage entbehrt, ja, daß nicht einmal die Grenzen seines Anwendungsbereiches geprüft sind. Wir glaubten aber dennoch der Tatsache, daß die konzentrierte KCl-Lösung keineswegs imstande ist, zumal in den stark sauren Lösungen ( $p_{\text{H}} < 3$ ), mit denen wir arbeiteten, das Diffusionspotential vollständig zu vernichten, auf diese Weise besser Rechnung tragen zu können, insbesondere, wenn dieses Verfahren auf je zwei miteinander verglichene und nicht allzu weit verschiedene Lösungen angewendet wird (s. unten).

*Leitfähigkeit und Aktivität der reinen HCl.* Es wurde eine genau 0,1 n Stammlösung der HCl hergestellt, deren Titer mit Natriumcarbonat geprüft worden war. Aus dieser Stammlösung wurden die jeweiligen Verdünnungen bereitet und deren Leitfähigkeiten bei 25° gemessen. Die bezügliche Vergleichsmessungen bei derselben Temperatur fanden wir von Bray und Hunt<sup>1)</sup> ausgeführt, an deren Angaben wir die Reinheit unserer HCl prüfen konnten. In den so kontrollierten Lösungen wurden dann die H- und Cl-Aktivitäten bestimmt. Auch hier sind in der letzten Zeit zahlreiche Messungen besonders von amerikanischer Seite vorgenommen worden. In erster Linie interessierten uns die neuesten von George Scatchard<sup>2)</sup> ausgeführten, gesonderten Messungen der H- und Cl-Aktivitäten der reinen HCl. Scatchard mißt die EMK der Kette  $\text{Hg} | \text{HgCl}, \text{KCl} || \text{HCl}, \text{AgCl} | \text{Ag}$ , woraus

<sup>1)</sup> Bray und Hunt, Journ. Amer. Chem. Soc. **33**, 781, 1911; zitiert nach Landolt-Börnstein 1923.

<sup>2)</sup> George Scatchard, The Activities of Strong Electrolytes III. Eben-  
dasselbst 47, 696 (701), 1925.

die Aktivität des Cl-Ions berechnet werden kann. Aus der Differenz der Messungen dieser und der Kette Pt, H<sub>2</sub>|HCl, AgCl|Ag ergibt sich die Aktivität des H-Ions. *Scatchard* findet hierbei besonders in höheren Säurekonzentrationen Unterschiede der Aktivitäten  $a_{\text{H}}$  und  $a_{\text{Cl}}$ <sup>1)</sup>. Wir führen hier einige der *Scatchard*schen Daten für die Aktivitätskoeffizienten an (Tabelle a)

Tabelle a.

n HCl	$f a_{\text{Cl}}$	$f a_{\text{H}}$	$f a_{\text{HCl}}$
0,001	0,965	0,967	0,966
0,005	0,926	0,937	0,932
0,01	0,899	0,921	0,910
0,02	0,866	0,887	0,881
0,05	0,809	0,863	0,836
0,1	0,762	0,841	0,801
0,5	0,700	0,833	0,763
0,75	0,725	0,845	0,783

Die in der letzten Kolonne angegebenen Beträge sind aus den geometrischen Mitteln für  $a_{\text{H}} \cdot a_{\text{Cl}}$  abgeleitet. Unsere Cl-Aktivitäten wurden mittels einer Kalomel-Quecksilberkette gewonnen. Wir finden in Übereinstimmung mit *Scatchard*  $a_{\text{H}} > a_{\text{Cl}}$ . Obwohl die Unterschiede keineswegs groß sind, glaubten wir doch, auf deren Berücksichtigung nicht verzichten zu sollen (vgl. Tabelle I).

**Glutinsalz-Säuregemisch.** Die Mischung der Glutininlösung mit der Salzsäure geschah stets so, daß erstere im Wasserbad bei einer Temperatur von 45° vorsichtig zum Schmelzen gebracht, dann abkühlen gelassen wurde. Die Lösung, welche auch nach dem Erkalten noch längere Zeit flüssig blieb, konnte dann leicht mit gleichen Teilen der Säure vermischt werden.

**Viskositätsbestimmung.** Die Zähigkeitsbestimmungen des Glutinchlorides wurden im *Ostwald*schen Viskosimeter ausgeführt. Die Versuchstemperatur 35° C wurde wegen der starken Temperaturabhängigkeit der Proteinviskosität genauestens konstant gehalten. Besonderen Wert legten wir auch darauf, daß bei unseren Serienmessungen stets gleich vorbehandeltes Glutin zur Verwendung kam. Zu diesem Zwecke wurden die Mischungen der verschiedenen Konzentrationen knapp hintereinander hergestellt und 12 Stunden im Thermostaten bei 35° stehengelassen. Unter diesen Bedingungen konnten wir selbst Schwankungen der Ausflußgeschwindigkeit von  $\frac{1}{8}$  Sekunden vermeiden, wie überhaupt die Viskositätsmessungen am Glutinsalz, unter diesen Umständen gemessen, vorzüglich reproduzierbar sind, was sich schon in früheren Arbeiten aus dem Institut ergeben hat. Die Eigenviskosität des durch Elektrodialyse gereinigten Glutins erwies sich als etwas niedriger als die bei einfacher Reinigung und Dialyse. Da es sich um Vergleichsbestimmungen handelt, konnte die Messung mit dem Kapillarkosimeter vorgenommen werden. Die Temperatur von 35° C genügt, um in unseren Glutininlösungen Störungen durch Struktur- oder

<sup>1)</sup> Im Gegensatz zu *C. Drucker* und *G. Riethof*, Zeitschr. f. physik. Chem. 111, 31, 1924, welche  $a_{\text{H}} < a_{\text{Cl}}$  angeben.

Turbulenzreibung auszuschalten. *Loeb*<sup>1)</sup>, welcher bei 24° mißt, muß sich eines komplizierteren Verfahrens bedienen. Er geht so vor, daß er die Glutinsalzlösung rasch auf 45° erhitzt, 1 Minute bei dieser Temperatur beläßt und dann wieder schnell auf 24° abkühlt. Während dieser Vorgänge wird die Lösung ständig gerührt. Unmittelbar nachdem die Temperatur von 24° erreicht ist, wird die Viskosität mit dem *Ostwald*schen Viskosimeter bestimmt. Trotzdem gibt *Loeb* eine Schwankungsbreite der Ausflußzeit isoelektrischer Gelatine von 1 Sekunde an.

In unserer Tabelle XV bedeutet  $t/t^0$  das Verhältnis der Ausflußzeiten, wobei  $t^0$  den Wasserwert des Viskosimeters bei 35° C angibt.

Die *Leitfähigkeit* des Glutinsalzsäuregemisches wurde knapp nach der Herstellung einer jeden Verdünnung bei 25° C untersucht, obwohl sich bei den von uns verwendeten Säurekonzentrationen keine zeitliche Änderung durch Hydrolyse selbst bei längerem Stehen (bis zu 8 Tagen) feststellen ließ.

Die Messung der *H-Aktivität* wurde in der bereits früher erwähnten Weise ausgeführt. Dabei erwies sich erwartungsgemäß das nach *Bjerrum* ermittelte Diffusionspotential von der vorhandenen freien Säure abhängig. Das Potential der H-Elektrode konnte bis auf Zehntel Millivolt abgelesen werden.

Viel weniger genau waren die Messungen der *Chloraktivitäten*, welche mit einer Kalomelektrode vorgenommen wurden. Wir gingen hierbei so vor, daß das Kalomel mit der zu untersuchenden Flüssigkeit zweimal vorgewaschen wurde. Die Lösung blieb zur Erreichung der Sättigung 3 Stunden unter öfterem Schütteln im verschlossenen Kölbchen. Die Elektroden wurden hierauf in der vorgeschriebenen Weise gefüllt und in Abständen von je 2 Stunden dreimal gemessen. Jede Mischung wurde in sechs bis acht Elektroden gefüllt. Es erwies sich notwendig, eine größere Anzahl von Elektroden zu verwenden, da nicht nur mitunter einzelne Werte ganz ausfielen, sondern auch die verschiedenen Elektroden zwischen den einzelnen Messungen Schwankungen, gelegentlich bis zu  $\pm 1,25$  Millivolt, zeigten. Den Werten der Tabelle ist der jeweilige Mittelwert zugrunde gelegt.

Die weitere Auswertung des gemessenen Potentials zur Berechnung der H-Aktivitäten geschah gemäß der modifizierten *Nernst*schen Formel, indem an Stelle der Ionenkonzentration im *Arrhenius*schen Sinne immer die Aktivität gesetzt wurde<sup>2)</sup>.

$$\log \frac{1}{a_{\text{H}}} = \frac{\pi - a\pi_0}{0,0577}$$

Es bedeutet hier  $a\pi_0$  die der H-Aktivität 1 entsprechende EMK, welche bei 18° C, Atmosphärendruck und einer  $n/10$  KCl-Kalomelektrode 0,3357 Volt beträgt. In der ursprünglichen Fassung der *Nernst*schen Formel findet sich für  $a\pi_0$  die EMK einer Kette, welche einer H-Ionenkonzentration 1 n entspricht. Diese beträgt unter den gleichen Bedingungen wie oben 0,3380 Volt.

<sup>1)</sup> Die Eiweißkörper usw. 1922, S. 104.

<sup>2)</sup> Eine nähere Ausführung darüber findet sich in den *Ergebn. d. exakten Naturwissenschaften* 8, 234, 1924; *Hückel*, Zur Theorie der Elektrolyte; ferner bei *S. P. L. Sørensen* und *Linderström-Lang*, C. r. d. trav. du Labor. Carlsberg 15, Nr. 6, Kopenhagen 1924.



Für eine 1 n Bezugselektrode, wie wir sie verwendeten, erniedrigen sich die Werte von  $a\pi_0$  und  $\pi$  um je 0,052 Volt, so daß sich unter Berücksichtigung der jeweiligen Temperatur die gesuchte H-Aktivität aus folgender Gleichung ergibt:

$$\log \frac{1}{a_H} = p_{aH} = \frac{\pi - [a\pi_0 - 0,00024 (t^0 - 18)]}{0,0577 + 0,0002 (t^0 - 18)}.$$

$\pi$  ist das bei  $t^0$  gemessene Potential,  $-0,00024$  der Temperaturkoeffizient einer 1 n Kalomelektrode in Kombination mit einer 1 n H-Elektrode (nach den Angaben von *Sørensen* und *Linderström-Lang*, l. c., S. 312).

Die Berechnung der Cl-Aktivitäten geschah in ähnlicher Weise<sup>1)</sup>.

#### Berechnung der Messungen.

Die Prinzipien, nach denen die weitere rechnerische Auswertung der Messungen erfolgte, sind in den Hauptzügen bereits in einer vorausgegangenen Untersuchung an Albuminen<sup>2)</sup> entwickelt worden. Sie wurzeln in der Annahme, daß die Eiweißkörper mit Säuren nach dem Typus der Ammoniumsalze reagieren, also in ihren Salzen mit den Säuren als starke Elektrolyte im Sinne der neueren Theorien zu betrachten sind. Hier soll nur auf einige geringfügige Abweichungen in den Einzelheiten der Berechnungsweise hingewiesen werden. Zur näheren Bezeichnung diene in gleicher Weise wie früher ein oberer Index I, II, III, wobei I die Daten für reine Salzsäure, II die Werte der Salzsäure-Glutinmischung und III alle auf das (in dieser Mischung) gebildete Glutinsalz entfallenden Größen kenntlich macht.

Durch die Messung sind gegeben: Die Aktivitäten der reinen HCl,  $a_H^I$  und  $a_{Cl}^I$ , die Konzentrationen der Salzsäure  $n_{HCl}^I$ , ferner ihre Leitfähigkeit  $k_{HCl}^I$  und definitionsgemäß die Aktivitätskoeffizienten  $f_a^I$  und die Leitfähigkeitskoeffizienten  $f_\mu^I$ . Ferner wurden in der Protein-HCl-Mischung direkt bestimmt die Aktivitäten  $a_H^{II}$  und  $a_{Cl}^{II}$ , sowie die Leitfähigkeit  $k^{II}$ . Glutinhalt und HCl-Zusatz sind ebenfalls bekannt.

Diese Daten werden nun zur elektrochemischen Charakterisierung des Proteinsalzes, welche das nächste Ziel der Untersuchung bildete, benutzt, also zur Ableitung seiner Aktivität (in bezug auf die Cl-Ionen)  $a_{Cl}^{III}$  und der Leitfähigkeit  $k^{III}$ , indem im HCl-Glutinmischung auf Grund vereinfachender Annahmen eine gewisse Zuordnung der Cl-Ionen

<sup>1)</sup> Vgl. *Frisch, Pauli, Valkó*, l. c., S. 408. Für die Tabellen von *Matula* (bei Steinkopff, Dresden-Leipzig, 1917) bestand die Korrektur bei Anwendung der 1 n KCl-Bezugselektrode in einer Erhöhung des  $\pi$ -Wertes um 0,296 Volt.

<sup>2)</sup> l. c.

einerseits zu den H-, andererseits zu den Proteinionen vorgenommen wird. Bei den Untersuchungen an Albuminen (l. c.) bestand diese vereinfachende Annahme darin, daß im Gemisch von Proteinchlorid-HCl die gleichnamigen Proteinionen einen vernachlässigbaren Einfluß auf die Aktivität der H-Ionen üben, welche letztere also im wesentlichen wie in reiner Säure durch die elektrostatische Wechselwirkung mit den Cl-Ionen bestimmt wäre. Demnach war für die neben dem Proteinsalz vorhandene Säure der Aktivitätskoeffizient der gesamten dem Glutin zugesetzten HCl  $f_a^I$  entsprechend dem Gesamtchlorgehalt der Mischung gewählt worden. Für die Konzentration der im Gemisch vorhandenen „freien“ Säure ergab sich so

$$n_{\text{HCl}}^{\text{II}} = \frac{a_{\text{H}}^{\text{II}}}{f_a^I} \quad (1)$$

Wir wissen nun aus den vorausgegangenen Versuchen, daß die Inaktivierung des Cl durch die Proteinionen schließlich in eine vollständige Assoziation desselben bis zur Ausfällung des Albuminchlorids mit steigendem Säurezusatz übergeht. Im Grenzfall werden sich somit sämtliche zum Proteinsalz gehörigen Cl-Ionen nicht merklich an der Inaktivierung der H-Ionen im Gemisch beteiligen. Dann wird aber auch nicht der Aktivitätskoeffizient der gesamten zum Glutin gefügten HCl, sondern der etwas größere der freigebliebenen HCl  $n_{\text{HCl}}^{\text{II}}$  in die Formel (1) einzusetzen sein. In den folgenden Versuchen wurde, da dieses Verfahren bei den höheren Säurekonzentrationen den richtigen näheren Wert liefert, während bei den niedrigen keine wesentlichen Unterschiede hervortreten, eine graphische Ermittlung der zu den gemessenen  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  gehörigen  $f_{a_{\text{H}}}$ -Werte aus einem mittels unserer Salzsäuremessungen abgeleiteten Diagramm ( $a_{\text{H}}^{\text{I}}$ ;  $f_{a_{\text{H}}}$ ) vorgenommen und diese Aktivitätskoeffizienten in den Nenner der Formel (1) eingesetzt. Die Differenz der gesamten dem Glutin zugefügten HCl und der so ermittelten im Gemisch freigebliebenen HCl  $n_{\text{HCl}}^{\text{III}}$  gibt dann die vom Glutin gebundene Säure oder die Normalität des Glutinsalzes,

$$n^{\text{III}} = n_{\text{HCl}}^{\text{I}} - n_{\text{HCl}}^{\text{II}} \quad (2)$$

Wären in einer Salzsäure die Aktivitäten der H- und Cl-Ionen gleich, also  $a_{\text{H}}^{\text{I}} = a_{\text{Cl}}^{\text{I}}$ , dann würde sich aus den gemessenen Werten  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  und  $a_{\text{Cl}}^{\text{II}}$  in der Mischung Glutin-HCl, auf den gleichen Grundlagen wie bisher, für die Cl-Aktivität des Glutinsalzes ergeben  $a_{\text{Cl}}^{\text{III}} = a_{\text{Cl}}^{\text{II}} - a_{\text{H}}^{\text{II}}$ . Nun ist nach den neueren Messungen in Salzsäure  $a_{\text{H}} > a_{\text{Cl}}$  (vgl. Tabelle I). Wir müssen somit statt  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  einen etwas kleineren korrigierten Wert einsetzen. Die Korrektur ergibt sich z. B. aus unseren Messungen, und sie ist in unseren Berechnungen von  $a_{\text{Cl}}^{\text{III}}$  angebracht worden. Dann wird

$$a_{\text{Cl}}^{\text{III}} = a_{\text{Cl}}^{\text{II}} - a_{\text{H}}^{\text{II}} \text{ (korrigiert)} \quad (3)$$

Auf diesem Wege ergibt sich schließlich für den Aktivitätskoeffizienten des Glutinchlorids (in bezug auf das Cl):

$$fa_{\text{Cl}}^{\text{III}} = \frac{a_{\text{Cl}}^{\text{III}}}{n^{\text{III}}}. \quad (4)$$

Die Leitfähigkeit des Proteinsalzes wurde durch Abzug des Leitfähigkeitsanteils der freien Säure  $k_{\text{HCl}}$  von der gemessenen Leitfähigkeit des Glutin-HCl-Gemisches  $k^{\text{II}}$  erhalten.  $k_{\text{HCl}} = n_{\text{HCl}}^{\text{II}}(u_{\text{H}} + v_{\text{Cl}}) \cdot f_{\mu}^{\text{II}} \cdot 10^3$ . Aus analogen Gründen, wie für die  $fa$ -Werte wurde auch für  $f_{\mu}^{\text{II}}$  der graphisch aus einem Diagramm ( $f_{\mu}$ ,  $n_{\text{HCl}}$ ) entnommene Leitfähigkeitskoeffizient der im Glutin + HCl vorhandenen freien Säure eingesetzt. Dann ergab sich als Leitfähigkeit des Proteinsalzes  $k^{\text{III}} = k^{\text{II}} - k_{\text{HCl}}$ .

Die neue Theorie der starken Elektrolyte läßt sämtliche Ionen in dem vollständig dissoziierten Elektrolyten für die Aktivität und Leitfähigkeit wirksam werden, nur in ihrem Effekt herabgesetzt durch die interionischen Kräfte, was durch den Aktivitäts- bzw. Leitfähigkeitskoeffizienten zum Ausdruck gebracht wird. Sie kann aber auch diesen Vorgang so beschreiben, als ob nur ein Teil der vorhandenen Ionen, aber dieser vollständig, etwa für die elektrometrische Messung oder die Leitfähigkeit zur Wirkung käme. Diese wirksamen Ionenkonzentrationen lassen sich als Aktivität  $A$  bzw. Konduktivitätskonzentration (Konduktivität)  $K$  angeben. Die *Konduktivität* des Proteinsalzes  $K^{\text{III}}$  würde sich dann aus der Gleichung  $K^{\text{III}}(u_{\text{Prot.}} + v_{\text{Cl}}) = k^{\text{III}} \cdot 10^3$  mit  $K^{\text{III}} = \frac{k^{\text{III}}}{u_{\text{Prot.}} + v_{\text{Cl}}} \cdot 10^3$  ergeben. Die Aufstellung des Begriffs Konduktivität (vgl. *Frisch, Pauli, Valkó*, l. c.) hat den Vorzug, eine vergleichbare Darstellung des Verhaltens des Proteinsalzes in bezug auf zwei voneinander sonst unabhängige physikalisch-chemische Eigenschaften ( $A$  und  $K$ ) zu ermöglichen. Für  $u_{\text{Glutin}}$  bei 25° C wurde der Wert 30 r. O. gewählt. Daß mit der Annahme dieses Wertes, welcher für den Anfangsteil der Konduktivitätskurve wohl zu groß ist, eine gewisse Unsicherheit der Größe  $K^{\text{III}}$  zusammenhängt, ist schon in der vorausgegangenen Mitteilung ausgeführt worden.

#### Das Glutinchlorid.

Der Wiedergabe der Beobachtungen am Glutinchlorid schicken wir in der folgenden Tabelle I unsere Messungen an der verwendeten HCl voraus, welche wir mit Rücksicht auf die einheitliche Methodik unseren Berechnungen aus den Bestimmungen in HCl + Glutin zugrunde gelegt haben. Die Werte zeigen eine befriedigende Übereinstimmung mit den Beobachtungen von *Scatchard* (l. c.). In der letzten Kolonne sind die Differenzen  $a_{\text{H}} - a_{\text{Cl}}$  angegeben. Von der Anführung

der zu den Korrekturen verwendeten, graphisch gewonnenen Zwischenwerte wurde abgesehen.

Tabelle I.

Leitfähigkeit und Aktivitätsmessung an reiner Salzsäure.

n HCl	H-Aktivität					Cl-Aktivität				
	$k^{25^{\circ}} \cdot 10^3$	$f_a$	EMK	$a_H \cdot 10^3$	$f a_H$	EMK	$a_{Cl} \cdot 10^3$	$f a_{Cl}$	$(a_H - a_{Cl}) \cdot 10^3$	
0,005	2,076	0,9762	419,0	4,65	0,932	419,4	4,58	0,916	0,07	
0,01	4,116	0,9661	401,8	9,2	0,915	402,7	8,88	0,888	0,32	
0,02	8,134	0,9582	386,8	17,7	0,887	386,2	17,1	0,852	0,6	
0,03	12,15	0,9504	375,4	26,2	0,875	376,2	25,5	0,850	0,7	
0,04	16,08	0,9440	368,2	34,8	0,870	368,8	34,0	0,850	0,8	
0,05	19,92	0,9399	362,8	43,1	0,863	363,7	41,6	0,831	1,5	

Nun folgen in Tabelle II und III die Daten für die H- und Cl-Aktivitäten der Mischungen 0,707 Proz. Glutin + HCl, aus denen dann in der oben dargelegten Weise die Normalität des Glutinchlorids  $n^{III}$  und dessen Aktivität  $a_{Cl}^{III}$  hervorgehen (vgl. Abb. 1).

Tabelle II.

H-Aktivitäten in 0,707 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	EMK	$p_H^{II}$	$a_H^{II} \cdot 10^3$	$a_H^{II} / f a \cdot 10^3$	$n^{III} \cdot 10^3$
0,000	587,0	5,2238	0,005 97	—	—
0,005	482,5	3,4252	0,376	0,380	4,62
0,01	429,7	2,5163	3,05	3,25	6,75
0,0125	417,2	2,3012	5,02	5,373	7,13
0,015	408,0	2,1429	7,20	7,801	7,20
0,0175	401,0	2,0224	9,50	10,39	7,11
0,02	395,7	1,9312	11,7	12,91	7,09
0,03	381,4	1,6850	20,6	23,40	6,60
0,04	372,5	1,5319	29,4	33,59	6,31
0,05	366,1	1,4217	37,9	43,71	6,29

Tabelle III.

Cl-Aktivitäten, 0,707 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	EMK	$p_{Cl}^{II}$	$a_{Cl}^{II} \cdot 10^3$	$a_{Cl}^{III} \cdot 10^3$
0,005	423,0	2,4011	3,97	3,66
0,01	405,9	2,1068	7,82	5,09
0,015	394,5	1,9105	12,3	5,7
0,02	387,4	1,7882	16,3	5,2
0,03	377,0	1,6092	24,6	4,7
0,04	370,3	1,4940	32,1	3,6
0,05	365,7	1,4148	38,5	2,1

Mit Hilfe der aus  $\alpha_{\text{H}}^{\text{II}}$  abgeleiteten „freien“ Säure ermittelt sich dann die auf die letztere entfallende Leitfähigkeit  $k^{\text{HCl}}$ , welche, von der gemessenen Leitfähigkeit  $k^{\text{II}}$  subtrahiert, die Leitfähigkeit des Proteinsalzes  $k^{\text{III}}$  liefert. Dieser Wert, aus dem sich die an der Leitfähigkeit

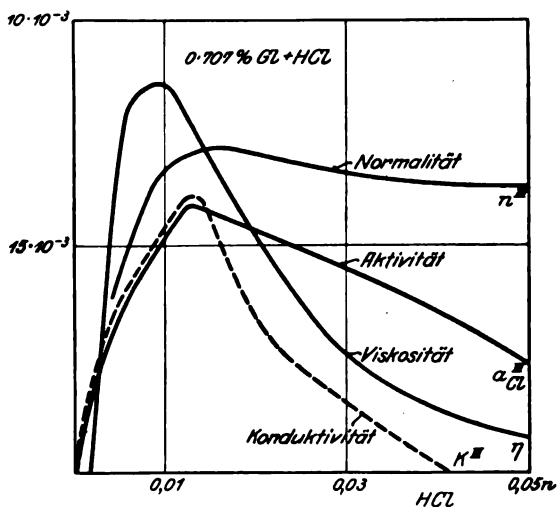


Abb. 1.

beteiligte Ionenkonzentration, die Konduktivität des Proteinsalzes  $K^{\text{III}}$  ergibt, hängt also in hohem Maße von der angenommenen Menge der freien Säure im Glutin-HCl-Gemisch ab. Die nächste Tabelle IV enthält die gemessenen Leitfähigkeiten  $k^{\text{II}}$  und die daraus abgeleiteten Konduktivitäten  $K^{\text{III}}$  (Abb. 1).

Tabelle IV.

Leitfähigkeiten, 0,707 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	$k^{\text{II}} \cdot 10^3$	$k_{\text{HCl}} \cdot 10^3$	$k^{\text{III}} \cdot 10^3$	$K^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,000	0,0115	—	—	—
0,005	0,5529	0,1617	0,391	3,68
0,01	1,917	1,357	0,560	5,16
0,0125	2,895	2,232	0,663	6,23
0,015	3,822	3,224	0,598	5,6
0,0175	4,740	4,274	0,466	4,3
0,02	5,755	5,448	0,307	2,89
0,03	9,702	9,520	0,182	1,7
0,04	13,59	13,60	0,00	—
0,05	17,60	17,55	0,00	—

Vor der Erörterung der Ergebnisse mögen noch die analogen Untersuchungen an dem doppelt so konzentrierten Glutin wieder-

gegeben sein. Tabelle V enthält die betreffenden  $a_{\text{H}^+}^{\text{II}}$ , Tabelle VI die  $a_{\text{Cl}^-}^{\text{II}}$ -Werte und die daraus gewonnenen Daten, Tabelle VII die Leitfähigkeiten in den gleichen Mischungen (vgl. Abb. 2).

*Tabelle V.*  
H-Aktivitäten, 1,415 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	EMK	$p_{\text{H}^+}^{\text{II}}$	$a_{\text{H}^+}^{\text{II}} \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+}^{\text{II}}/f_a \cdot 10^3$	$n^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,00	570,0	4,9312	0,0117	—	—
0,005	514,0	3,9675	0,108	0,108	4,89
0,01	474,5	3,2874	0,516	0,523	9,48
0,0125	457,7	2,9983	1,00	1,034	11,46
0,015	440,0	2,6936	2,02	2,113	12,39
0,0175	426,0	2,4527	3,53	3,775	13,73
0,02	415,0	2,2857	5,45	5,88	14,12
0,03	390,3	1,8382	14,5	16,2	13,8
0,04	378,5	1,6351	23,2	26,45	13,45
0,05	370,0	1,4888	32,4	37,18	12,82

*Tabelle VI.*  
 $a_{\text{Cl}^-}^{\text{II}}$ , 1,415 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	EMK	$p_{\text{Cl}^-}^{\text{II}} \cdot 10^3$	$a_{\text{Cl}^-}^{\text{II}} \cdot 10^3$	$a_{\text{Cl}^-}^{\text{II}} \cdot 10^3$
0,000	501,0	3,7435	0,181	—
0,005	425,6	2,4458	3,58	3,54
0,01	409,0	2,1601	6,92	6,72
0,015	398,5	1,9794	10,5	8,94
0,02	389,0	1,8158	15,3	10,45
0,03	378,9	1,6420	22,8	9,0
0,04	372,0	1,5232	30,0	7,7
0,05	366,7	1,4320	37,0	6,1

*Tabelle VII.*  
Leitfähigkeit, 1,415 Proz. Glutin + HCl.

n HCl	$k^{\text{II}} \cdot 10^3$	$k_{\text{HCl}} \cdot 10^3$	$k^{\text{III}} \cdot 10^3$	$K^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,000	0,0127	—	—	—
0,005	0,4398	0,0460	0,394	3,7
0,01	0,9260	0,2226	0,703	6,6
0,0125	1,316	0,4346	0,881	8,3
0,015	1,921	0,8835	1,038	9,8
0,0175	2,689	0,1575	1,114	10,5
0,02	3,656	2,527	1,129	10,6
0,03	7,375	6,632	0,743	6,98
0,04	11,00	10,72	0,280	2,6
0,05	15,05	14,91	0,14	1,3

Den Beobachtungen können wir zunächst die wichtige Tatsache entnehmen, daß analog wie bei den Albuminen (l. c.) die Aktivität und Konduktivität des Glutinchlorids mit steigendem Säurezusatz durch

ein Maximum geht, um dann abzusinken. In bezug auf seine Ionisationsverhältnisse (im Sinne der klassischen Theorie) schien nämlich nach den älteren Beobachtungen von *Manabe* und *Matula*<sup>1)</sup>, in denen zum ersten Male die Cl-Aktivitätsbestimmung für diese Frage ausgearbeitet wurde, mittels potentiometrischer Messungen kein Optimum der „Dissoziation“ nachweisbar zu sein. Diese Anomalie, die einer allgemeinen Gültigkeit der *Pauli*schen Lehre vom Zusammenhang der

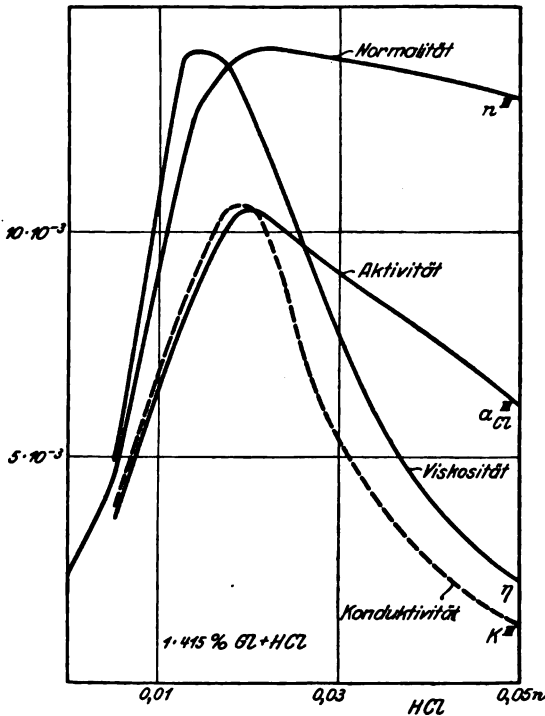


Abb. 2.

Eigenschaften der Proteine mit ihrer Ionisation (Aktivität) und Hydratation im Wege stehen würde, erscheint nunmehr beseitigt. Daß die Konduktivität des Glutinchlorids den allgemeinen Gang seiner Aktivitätskurve widerspiegelt und daß die Maxima in beiden Fällen bei der gleichen Säurekonzentration liegen, ist in Übereinstimmung mit den Beobachtungen an Albuminen. Auch der Umstand, daß im Anfangsteil der Kurve, solange die Aktivität des Proteinsalzes infolge der fortgesetzten Reaktion von immer neuem Amino-N mit der Säure ansteigt, die  $K^{\text{III}}$ -Kurve über der  $A^{\text{III}}$ -Linie liegt, entspricht allen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 52, 369, 1913.

sonstigen Erfahrungen an Elektrolyten. Dieses Verhalten kehrt sich scheinbar im absteigenden Kurvenabschnitt um, der einem zunehmenden Überschuß an freier Säure entspricht. Allein die  $K'''$ -Werte bleiben dann nur in bezug auf ihren allgemeinen Gang sicher, hängen aber in erheblichem Maße von der neben dem Glutinsalz angenommenen freien Säure und dem zugehörigen  $f_{\mu}$ -Werte ab.

Daß hier Schwierigkeiten vorliegen, zeigt nun sehr deutlich die Kurve der Normalität des Glutinchlorids  $n'''$ , welche zugleich die unter Bildung von ammoniumartigem Stickstoff von Eiweiß aufgenommene Säure darstellt. Die  $n'''$ -Kurve läßt nämlich bei höherem Säurezusatz einen merklichen Abstieg erkennen, während Konstanz oder ein sanftes Ansteigen bis zur Konstanz zu erwarten wäre. Denn ein Rückgang der Säureaufnahme durch das Glutin, also ein Freisetzen von einmal gebundenen H-Ionen mit weiterem Säurezusatz, ist äußerst unwahrscheinlich und widerspricht auch allen sonstigen Erfahrungen an den Proteinen. Die gleiche Erscheinung fand sich schon an der  $n'''$ -Kurve bei den Albuminen angedeutet, und die Möglichkeiten ihrer Erklärung sollen hier nur kurz gestreift werden.

Man könnte zunächst annehmen, daß wir tatsächlich höhere H-Aktivitäten  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  in der Mischung messen, als sie der Säure allein zukämen, wenn sie nicht neben dem Proteinsalz vorhanden wäre. Wollte man dieses höhere  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  einer starken Änderung in der Verteilung der Cl- und H-Ionen in der Proteinsalzsäuremischung zuschreiben, so würde dies bei unserer Berechnungsweise, welche ohnehin von einem inaktivierenden Einfluß der dem Glutinchlorid zugeordneten Cl- auf die H-Ionen ganz absieht, bedeuten, daß eine darüber hinausgehende „Überinaktivierung“ von Cl-Ionen in der Wirkungssphäre der Proteinionen stattfindet, wodurch notwendig der Aktivitätskoeffizient der freien Säure vergrößert würde. Ja, man könnte sogar eine beträchtliche elektrostatische, abstoßende Wirkung der starken Felder um die vielwertigen Proteinionen in Betracht ziehen, welche die Aktivität der gleichnamigen H-Ionen erhöhen sollte. Eine Reihe von orientierenden Versuchen über die H-Aktivität von verdünnter HCl in Anwesenheit von  $\text{ZnCl}_2$  und  $\text{AlCl}_3$ , also von zwei- und dreiwertigen positiven Ionen, zeigten wohl keine sichere Erhöhung, aber bemerkenswerterweise keinesfalls eine Erniedrigung der H-Aktivität, die nach der Theorie von *Debye-Hückel* zu erwarten wäre. Diese Theorie liefert als Grenzesetz in hoher Verdünnung (ohne die Korrektur für das Ionenvolumen) für den Aktivitätskoeffizienten der Ionensorte  $i$  den Ausdruck

$${}^{10} \log f a_i = -0,354 \cdot z_i^2 \cdot \sqrt{\Gamma},$$

worin  $\Gamma = \sum \gamma_i z_i^2$  die „ionale Gesamtkonzentration“ bedeutet, d. i. die Summe der Produkte der molaren Konzentrationen  $\gamma_i$  der verschiedenen



Ionen mit dem Quadrat ihrer Wertigkeiten  $z_i$ . Mit ihrer hohen Wertigkeit würden sich danach die Proteinionen nicht unerheblich an der ionalen Gesamtkonzentration beteiligen. Diese Vermehrung von  $\Gamma$  müßte zu einer Abnahme des Aktivitätskoeffizienten und von  $a_{\text{H}}^{\text{II}}$  führen. In Wirklichkeit bedarf es aber einer Erhöhung des Aktivitätskoeffizienten  $f a_{\text{H}}^{\text{II}}$  über den der reinen Säure gleicher Konzentration in der Gleichung  $n^{\text{III}} = n_{\text{HCl}}^{\text{I}} - \frac{a_{\text{H}}^{\text{II}}}{f a_{\text{H}}^{\text{II}}}$ , um das abnorm kleine  $n^{\text{III}}$  — die scheinbar geringer werdende H-Bindung an das Glutin mit steigendem Säurezusatz — zu beseitigen. Der Widerspruch, zu dem die Anwendung der *Debye-Hückelschen* Formel führt, den übrigens auch eine Berücksichtigung des Ionenvolumens nur etwas mildern, nicht aber beseitigen würde, zeigt nur, daß dieses Grenzgesetz für unseren Fall in seiner einfachen Form nicht anwendbar ist.

Rechnet man mit einem korrigierten, etwas höheren Koeffizienten  $f a_{\text{H}}^{\text{II}}$ , der die Umbiegung der  $n^{\text{III}}$ -Kurven zum Verschwinden bringt, dann wird auch der absteigende Ast der Konduktivitätslinie entsprechend gehoben, so daß sie in ein den sonstigen Erfahrungen angemessenes Verhältnis zur Aktivitätskurve kommt und das Negativwerden ihrer letzten Werte (Abb. 1 und 2) entfällt.

Da wir wohl das Bindungsäquivalent des Glutins für Salzsäure bei maximaler Säureaufnahme (mit etwa 960)<sup>1)</sup>, nicht aber das Molekulargewicht desselben kennen, so ist eine Aussage darüber nicht möglich, weshalb der in gleicher Weise etwas anomale Verlauf der H-Bindungskurve  $n^{\text{III}}$  bei den Albuminen derselben Gewichtskonzentration weniger stark ausgesprochen ist. Jedenfalls zeigen uns Aktivität und Konduktivität den Anstieg und die Lage des Maximums auch beim Glutinchlorid übereinstimmend an, während bei den Albuminen auch für den absteigenden Ast der *A*- und *K*-Kurve, wohl wegen des geringeren Krümmungseffektes von  $n^{\text{III}}$ , normale Verhältnisse zutage treten. Durch die Berücksichtigung dieses Krümmungseffektes lassen sich jedoch auch beim Glutinchlorid die Unterschiede ausgleichen, und zwar auf dem Wege einer kleinen Erhöhung des Aktivitätskoeffizienten der freien Säure im Glutiningemisch, ohne daß jedoch vorläufig eine Entscheidung<sup>2)</sup> unter den dafür möglichen Erklärungen getroffen werden kann.

<sup>1)</sup> Die nach älteren Versuchen ermittelten Werte liegen niedriger. Aus den Daten von *K. Manabe* und *J. Matula* (l. c., 1913) ergibt sich 830; *Procter* und *Wilson* fanden 768 (*Journ. Amer. leather chem. assoc.* 12, 108, 1917); *R. Wintgen* und *Krüger* 839 (*Kolloid-Zeitschr.* 28, 81, 1921).

<sup>2)</sup> Weitere Untersuchungen in dieser für die allgemeine Kolloidchemie unseres Erachtens überaus wichtigen Frage sind am Institut im Gange.

Bezüglich des Einflusses der Glutinkonzentration zeigen die Tabellen und die dazugehörigen Abb. 1 und 2 zunächst, daß die maximale Säurebindung praktisch mit der Verdoppelung der Konzentration verdoppelt wird, was sich mit guter Annäherung bereits aus älteren Versuchen von *Pauli-Hirschfeld*<sup>1)</sup> ergibt. Dagegen bleibt das Maximum der Aktivität und Konduktivität des Glutinchlorids mit Verdoppelung der Glutinsalzkonzentration merklich (um etwa 3 Proz.) gegenüber dem doppelten Werte zurück. Da die H-Aufnahme durch das Glutin in diesem Punkte sich genau proportional mit dessen Konzentration verdoppelt (vgl. Tabelle XIII), was eine Verdoppelung der gesamten Proteinionenladungen bedeutet, so würde sich ergeben, daß die begleitende Inaktivierung ein wenig, aber merklich schneller unter den gegebenen Umständen zunimmt als die Konzentration des Glutinsalzes. Ähnlich dürfte es auch zu verstehen sein, daß mit Verdoppelung der Glutinkonzentration das Aktivitätsmaximum in einen wesentlich kleineren als den doppelten Gesamtsäurezusatz fällt (0,707 Proz. Glutin + 0,0125 n HCl bzw. 1,415 Proz. Glutin + 0,02 n HCl). Die Inaktivierung der Cl-Ionen überwiegt im zweiten Falle bereits bei einem relativ geringeren Cl-Überschuß über die mit wachsendem Säurezusatz, wenn auch langsamer, ansteigende Aktivierung neuer Proteinladungen.

#### *Das Glutinsulfat.*

Die Kombination von Glutin und  $H_2SO_4$  gestattet keine Aktivitätsmessungen des Anions, wohl aber läßt sich, wie schon ausgeführt, aus der gemessenen H-Aktivität  $a_H^H$  und der Leitfähigkeit  $k''$  der Mischung die Konduktivität des Proteinsalzes  $K'''$  gewinnen, deren Gang uns ein gewisses Bild der Aktivitätsverhältnisse des Glutinsulfats liefert.

Zum Unterschied von den analogen Versuchen an Albuminen (l. c.) wurde hier bei der Messung das *Bjerrumsche* Eliminationsverfahren des Diffusionspotentials angewendet, das wohl zu höheren  $a_H$ -Werten führt und, wie (l. c.) gezeigt wurde, Aktivitätskoeffizienten der Schwefelsäure liefert, die größer sind als die *Kohlrauschschen* Leitfähigkeitskoeffizienten. Da jedoch in unserem Falle lediglich die Quotienten  $\frac{a_H^H}{fa}$ , das sind die aus der H-Aktivität abgeleiteten Säurekonzentrationen, benutzt werden, so fällt eine Einwendung gegen die zu hohen  $a_H$ -Werte beim *Bjerrumschen* Verfahren fort. Die folgende Tabelle VIII bringt die von uns gemessene H-Aktivität der  $H_2SO_4$  und die daraus abgeleiteten Aktivitätskoeffizienten, aus denen die in unseren Berechnungen benutzten  $fa_H$ -Werte durch graphische Interpolation

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 62, 245, 1914.

gewonnen wurden. Zum Vergleich sind die nur mit 3,5 n KCl als Zwischenflüssigkeit erhaltenen  $f_{a_H}$ -Werte (l. c.) daneben gestellt.

Tabelle VIII.

Leitfähigkeits- und Aktivitätsmessungen an reiner Schwefelsäure.

n H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	$k^{25^\circ} \cdot 10^3$	$f_u$	EMK	$a_H \cdot 10^3$	$f_{a_H}$	$f_{a_H}^*)$
0,005	1,775	0,8256	421,4	4,23	0,846	0,831
0,01	3,32	0,7721	405,0	8,10	0,810	0,773
0,02	6,228	0,7242	388,3	15,7	0,785	0,725
0,03	8,79	0,6814	379,2	22,5	0,750	0,690
0,04	11,26	0,6547	372,8	29,0	0,725	0,660
0,05	13,48	0,6270	368,2	34,8	0,696	0,646

\*) Nach Friesch, Pauli und Valkó bei 3,5 n KCl als Zwischenflüssigkeit.

Die nächsten Tabellen IX und X bringen die Daten für die H-Aktivitäten, die Glutinsalznormalität und die Konduktivitäten in der Mischung 0,707 Proz. Glutin + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Die zugehörigen Kurven zeigt die Abb. 3.

Tabelle IX.

$a_H^II$ , 0,707 Proz. Glutin + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

n H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	EMK	$p_H^II$	$a_H^II \cdot 10^3$	$a_H^II / a$	$n^{III} \cdot 10^3$
0,000	587,0	5,2238	0,00597	—	—
0,005	486,0	3,4854	0,327	0,327	4,67
0,01	434,4	2,5972	2,53	2,799	7,20
0,015	412,3	2,2168	6,07	7,358	7,64
0,02	400,5	2,0138	9,69	12,08	7,92
0,03	386,4	1,7710	16,9	21,95	8,05
0,04	377,9	1,6247	23,7	31,86	8,14
0,05	372,0	1,5232	30,0	41,67	8,33

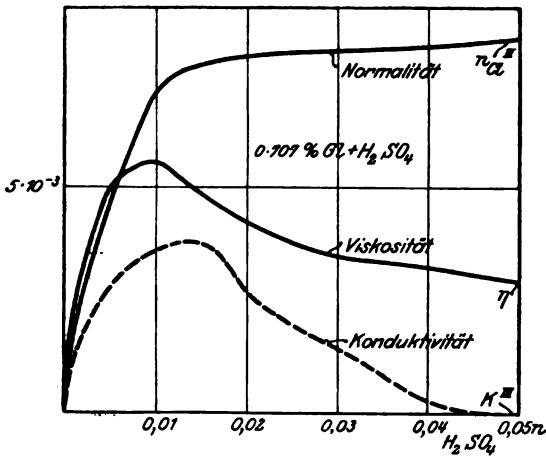


Abb. 3.

*Tabelle X.*  
Leitfähigkeit, 0,707 Proz. Glutin + Schwefelsäure.

$n \text{ H}_2\text{SO}_4$	$k^{\text{II}} \cdot 10^3$	$k_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 10^3$	$k^{\text{III}} \cdot 10^3$	$K^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,000	0,0115	—	—	—
0,005	0,4379	0,1406	0,297	2,8
0,01	1,469	1,083	0,386	3,6
0,015	2,973	2,572	0,401	3,8
0,02	4,250	3,959	0,291	2,7
0,03	6,916	6,757	0,159	1,5
0,04	9,310	9,275	0,035	0,3
0,05	11,66	11,65	0,01	0,1

Die weiteren Tabellen XI und XII zeigen die H-Aktivitäten  $a_{\text{H}^+}^{\text{II}}$ , die Glutinsalznormalität  $n^{\text{III}}$  und die Konduktivitäten in der Kombination 1,415 Proz. Glutin +  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Die Abb. 4 enthält die zugehörigen Kurven.

*Tabelle XI.*  
 $a_{\text{H}^+}^{\text{II}}$ , 1,415 Proz. Glutin +  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

$n \text{ H}_2\text{SO}_4$	EMK	$p_{\text{H}^+}^{\text{II}}$	$a_{\text{H}^+}^{\text{II}} \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+}^{\text{II}}/a \cdot 10^2$	$n^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,000	570,0	4,9312	0,0117	—	—
0,005	521,8	4,1016	0,0791	0,0791	4,92
0,01	482,0	3,4165	0,383	0,388	9,61
0,015	443,0	2,7452	1,80	1,93	13,07
0,02	418,8	2,3287	4,69	5,65	14,35
0,03	396,1	1,9380	11,5	14,5	15,5
0,04	384,2	1,7332	18,5	24,1	15,9
0,05	376,5	1,6006	25,1	33,9	16,1

*Tabelle XII.*  
Leitfähigkeit, 1,415 Proz. Glutin +  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

$n \text{ H}_2\text{SO}_4$	$k^{\text{II}} \cdot 10^3$	$k_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot 10^3$	$k^{\text{III}} \cdot 10^3$	$K^{\text{III}} \cdot 10^3$
0,000	0,0117	—	—	—
0,005	0,3400	0,034	0,306	2,9
0,01	0,6812	0,1047	0,516	4,8
0,015	1,427	0,755	0,672	6,3
0,02	2,553	2,009	0,544	5,1
0,03	5,048	4,683	0,365	3,4
0,04	7,503	7,340	0,163	1,5
0,05	9,760	9,758	0,002	—

Die Betrachtung der Resultate läßt erkennen, daß auch beim Glutinsulfat die Konduktivitätskurve durch ein Maximum geht, um darauf wieder abzufallen. Zur näheren Beurteilung ihres Verlaufs müssen zunächst die  $n^{\text{III}}$ -Werte, die den Gang der Glutinsulfatentstehung mit steigendem Säurezusatz darstellen, herangezogen werden. Die  $n^{\text{III}}$ -Kurve zeigt hier das zu erwartende Bild, erst rasch ansteigende

H-Bindung, dann allmählichen, der Konstanz zustrebenden Anstieg. Hier fehlt also die beim Glutinchlorid beobachtete scheinbare Krümmung der  $n'''$ -Kurve und man kann demnach auch den absteigenden Teil der  $K'''$ -Kurve ohne vorherige Korrektur als ein brauchbares Maß der allgemeinen Aktivitätsverhältnisse des Glutinsulfats ansehen. In der Tat kommt es auch hier nicht zum Auftreten negativer Werte der Konduktivität in hohen Säurekonzentrationen.

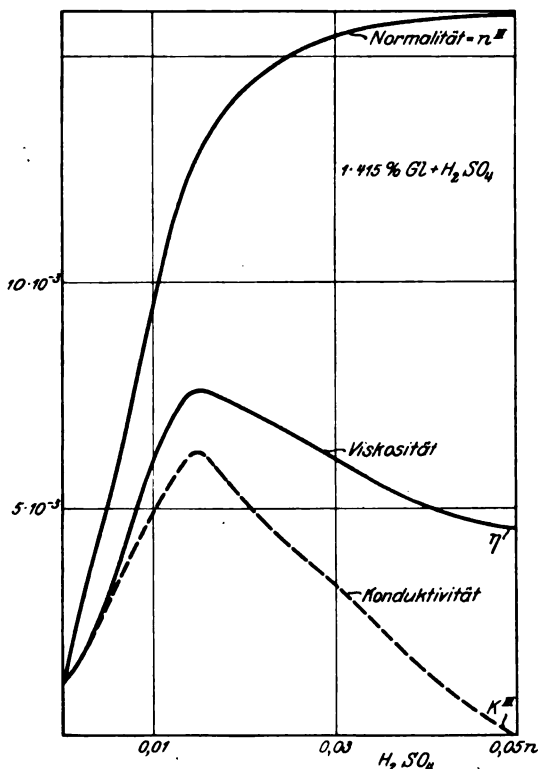


Abb. 4.

Das Konduktivitätsmaximum liegt für 0,707 Proz. Glutin bei  $0,015 \text{ n } H_2SO_4$ , für 1,415 Proz. Glutin bei fast der gleichen Konzentration  $0,015 \text{ n } H_2SO_4$ . (Abb. 3 und 4, Tabelle XIII.) Vergleicht man die  $n'''$ - und die  $K'''$ -Kurven, so zeigt sich, daß im  $K'''$ -Maximum bei 0,707 Proz. Glutin  $7,64 \cdot 10^{-3} \text{ n } H_2SO_4$ , bei 1,415 Proz. Glutin  $13,07 \cdot 10^{-3} \text{ n } H_2SO_4$ , im zweiten Falle also rund das Doppelte der Säure vom Glutin aufgenommen wurde. Die gleiche Erfahrung, also Proportionalität der vom Glutin im Optimum der Aktivität bzw. Konduktivität aufgenommenen Säure mit der Glutinkonzentration, konnte mit dem

Glutinchlorid gemacht werden. Unter der plausiblen, mit allen Erfahrungen harmonisierenden Voraussetzung, daß unter den gegebenen Bedingungen (Temperatur,  $p_H$ ) kein Abbau und keine Änderung der Assoziation im Glutin stattgefunden hat, darf man schließen, daß die *Aufladung (Wertigkeit) der Glutinteilchen* im Optimum von  $K^{III}$  in den *einfach und doppelt konzentrierten* Lösungen des Proteinsalzes nahe *die gleiche* ist. Sobald diese kritische Ladungszahl erreicht ist, beginnt das Überwiegen der Inaktivierung über das durch Entstehung von neuen Proteinladungen bewirkte Wachsen der Aktivität, und die Kurve wendet sich zum Abfall. Es ist bemerkenswert, daß dieser Umschlagspunkt für um das Doppelte auseinandergehenden Glutiningehalt bei fast der gleichen Schwefelsäure-, also Sulfationenkonzentration erreicht wird. Jedenfalls wirkt hier die Abnahme des Aktivitätskoeffizienten des Glutinsulfats mit der Konzentration kompensierend mit, so daß es in höherer Glutinkonzentration keines erheblich gesteigerten Überschusses der zweiwertigen  $SO_4$ -Ionen bedarf, um das Absinken der Konduktivität (und wohl ebenso der Aktivität) herbeizuführen.

Auch das Aktivitätsoptimum des Glutinchlorids wird, wie der Vergleich der  $n^{III}$ -Kurven zeigt, bei annähernd der gleichen Ladungszahl (Wertigkeit) der Proteinionen erreicht wie beim Sulfat (Tabelle XIII), und ebenso bleibt die Ladungszahl der Glutinteilchen im Konduktivitäts-(Aktivitäts-)Optimum von der Veränderung der Glutinchloridkonzentration praktisch unabhängig. Die folgende Zusammenstellung belehrt über die betreffenden Daten im Konduktivitäts-(Aktivitäts-)Maximum von Glutinchlorid und Sulfat (Tabelle XIII). Die Quotienten  $n^{III}/c$  (worin  $c$  ein Konzentrationsfaktor ist) dürfen hier der Ladungszahl (Wertigkeit) eines Glutinteilchens nahezu proportional gesetzt werden, wenn man die Annahme festhält, daß bis zum Aktivitätsmaximum keine Spaltung oder Aggregation der Teilchen in den angewendeten Säuren erfolgte. Sie bleiben konstant.

Tabelle XIII.

Werte im  $K^{III}$ -Optimum.

Glutin Proz.	Glutinsulfat				Glutinchlorid			
	$n SO_4$	$n^{III}$	$n^{III}/c$	$K^{III}$	$n Cl$	$n^{III}$	$n^{III}/c$	$K^{III}$
0,707	0,014	7,6	7,6	3,8	0,0125	7,1	7,1	6,23
1,415	0,015	13,07	6,5	6,3	0,019	13,8	6,9	10,6

Die Tabelle XIII zeigt, daß im Konduktivitätsoptimum die mittlere Ladungszahl der Glutinteilchen vom Sulfat zum Chlorid keine erhebliche Änderung erfahren hat.

Es ist nun von Interesse, diese Resultate mit den entsprechenden Beobachtungen beim Chlorid und Sulfat des Ovalbumins zu vergleichen. Dieselben finden sich in der nächsten Tabelle XIV nach den Versuchen der vorangegangenen Mitteilung zusammengefaßt. Sie lassen ganz ähnliche Verhältnisse wie die Glutinsalze erkennen.

Tabelle XIV.  
Werte im  $K^{III}$ -Optimum.

Eiweiß Proz.	Ovalbuminsulfat				Ovalbuminchlorid			
	$n\text{ SO}_4$	$n^{III}$	$n^{III}/c$	$K^{III}$	$n\text{ Cl}$	$n^{III}$	$n^{III}/c$	$K^{III}$
1,01	0,018	7,6	7,6	4,0	0,01	6,86	6,86	6,0
2,32	0,019	16,2	6,9	5,0	0,02	16,6	6,9	10,5

In Übereinstimmung mit dem Glutinsulfat liegen danach die Konduktivitätsmaxima des Ovalbuminsulfats bei nahe der gleichen  $\text{SO}_4$ -Konzentration, während der Eiweißgehalt von 1 bis 2,32 Proz. ansteigt. Ebenso findet sich beim Ovalbuminchlorid wie beim Glutinchlorid, daß mit zunehmendem Eiweißgehalt zur Erreichung des Aktivitätsoptimums eine wachsende Menge  $\text{HCl}$  zugesetzt werden muß. Ferner zeigt sich mit der erhöhten Eiweißsalzkonzentration kein Anstieg der Werte  $n^{III}/c$ , welche der pro Gramm Protein gebundenen Säure, also unter den oben angeführten Voraussetzungen, der Wertigkeit (L. Z.) der Teilchen proportional sind. Es ist somit die Gesamtladung eines Teilchens im Konduktivitäts-(Aktivitäts-)Optimum unabhängig von den Schwankungen der Albuminkonzentration die gleiche geblieben.

Schließlich ergab sich, daß die mittleren Ladungszahlen im  $K$ -Optimum bei den Ovalbuminen sowohl in den Sulfaten als auch in den Chloriden wie beim Glutin nicht nur von der Konzentration des Eiweißsalzes unabhängig, sondern auch untereinander praktisch gleich sind.

Man kann diese Tatsache etwa folgendermaßen darstellen: Der fortschreitende Säurezusatz aktiviert zunächst immer neuen N des Eiweißmoleküls zu ionogenem Aminostickstoff, gleichzeitig setzt aber eine mit der steigenden Wertigkeit der Proteinionen zunehmende Inaktivierung der auf der Teilchenoberfläche gebildeten Ladungen durch ihre Gegenionen ein, die besonders stark mit dem zweiwertigen  $\text{SO}_4$  erfolgen wird. Von dieser Inaktivierung, selbst bei ihrer Steigerung durch das  $\text{SO}_4$ , ist nun beim Ovalbumin wie beim Glutin das Ausmaß der Umwandlung des N in die ionogene Form — wenigstens bis zum Aktivitäts-(Konduktivitäts-)Maximum — so gut wie unabhängig.

*Viskosität der Glutinsalze.*

Die Viskosität des Glutins und seiner Salze hat insbesondere auch in einer Reihe früherer Arbeiten aus dem Institut (l. c.) ihre Bearbeitung gefunden. Dagegen ist die Frage nach den Beziehungen der inneren Reibung zur Aktivität und Konduktivität der Glutinsalze, die durch die vorausgegangenen Untersuchungen an Albuminen (l. c.) neue Bedeutung gewonnen hat, noch ungeklärt. Die Lehre *I. Loeb's*, nach welcher das kolloidale Verhalten der Proteine, vor allem der Gang ihrer Viskosität und der damit parallele (*Pauli*) Verlauf des osmotischen Druckes, das sekundäre Ergebnis einer Ionenverteilung nach dem *Donnanschen* Prinzip darstellt, kann bereits nach den Untersuchungen von *Frisch*, *Pauli* und *Valkó* für die Albumine als widerlegt angesehen werden. Diese Untersuchungen brachten hier eine volle Bestätigung der alten Anschauungen *Paulis*, nach welchen der Ionisationszustand des Proteins dessen Eigenschaften maßgebend bestimmt, wobei im Sinne der modernen Lehre dieser Zustand durch die Aktivität charakterisiert werden muß. Untersuchungen von *Hitchcock*<sup>1)</sup> und *Loeb*<sup>2)</sup> am Glutin schienen dieser Lehre zu widersprechen. *Hitchcock* bestimmte an Gelatine mittels potentiometrischer H- und Cl-Messungen, nach dem zuerst von *K. Manabe* und *J. Matula*<sup>3)</sup> am Institut geübten Verfahren, die Lage des Ionisationsmaximums von 1 Proz. Glutinchlorid. Er fand es bei  $p_H = 1,4$ . Wir berechnen zu diesem Werte aus unseren Glutinchloridmessungen einen HCl-Gehalt von etwas über 0,05 n, was auch mit den Daten von *Hitchcock* genügend übereinstimmt. Einem Zusatz von 0,05 n HCl zu seiner 1proz. Gelatine entspricht bei ihm ein  $p_H = 1,41$ . Das ist eine außerordentlich hohe Säurezugabe zur Herstellung des Ionisationsoptimums, für die sich bisher kein Analogon bei einem anderen Protein des gleichen Gehalts finden läßt. Sie ist mehr als dreimal so hoch wie in dem von uns beim Glutin gefundenen Aktivitätsoptimum.

Dagegen gibt *Hitchcock* für das Optimum der Viskosität bei dem gleichen Glutin  $p_H = 2,9$ , für das des osmotischen Druckes ein  $p_H = 3,4$  an, was einem Zusatz von 0,003 bis 0,0035 n HCl korrespondiert. Hier liegt wiederum ein ungewöhnlich niedriger Säuregehalt für das Viskositätsoptimum eines 1proz. Proteins vor, welcher etwas weniger als ein Drittel des nach unseren Versuchen am Glutin sich ermittelnden Wertes darstellt. Es gehen also in den Versuchen von *Hitchcock* die HCl-Konzentrationen im Maximum des osmotischen Druckes und der Viskosität auf der einen und der Ionisation auf der anderen Seite um mehr als eine Größenordnung auseinander. Da das gleiche von *Hitchcock*

<sup>1)</sup> Journ. of gen. Physiol. 5, 383, 1923.

<sup>2)</sup> Die Eiweißkörper usw., S. 133. Berlin, J. Springer, 1924.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. 52, 369, 1913.



auch bei anderen Proteinchloriden, darunter dem Ovalbuminchlorid, gefunden wird, erblicken *Hitchcock* und *Loeb* in diesem Ergebnis einen Gegenbeweis gegen die Theorie von *Pauli*.

Wie bei den Albuminen, bei welchen Viskositäts- und Aktivitäts-optimum (l. c.) zusammenfallen, so haben sich auch bei den Glutinsalzen die Resultate und damit die Schlußfolgerungen von *Hitchcock* und *Loeb* als nicht zutreffend erwiesen.

Im folgenden teilen wir zunächst die Viskositätsmessungen an den zwei Glutinchloriden und Glutinsulfaten mit (Tabelle XV).

Tabelle XV.

$\eta$ -Viskosität, 35° C, Glutin + HCl und H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  $t_{350}^0 = 260 \cdot \frac{1}{8}''$ .

n HCl	0,707 Proz. Glutin	1,415 Proz. Glutin	n H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,707 Proz. Glutin	1,425 Proz. Glutin
0,000	1,233	1,560	0,000	1,233	1,560
0,005	1,665	1,700	0,005	1,450	1,648
0,01	1,739	2,187	0,01	1,481	1,813
0,0125	1,683	2,319	0,015	1,439	1,886
0,015	1,631	2,331	0,02	1,408	1,862
0,0175	1,599	2,311	0,03	1,378	1,813
0,02	1,563	2,241	0,04	1,366	1,756
0,03	1,429	1,920	0,05	1,347	1,733
0,04	1,372	1,830			
0,05	1,338	1,620			

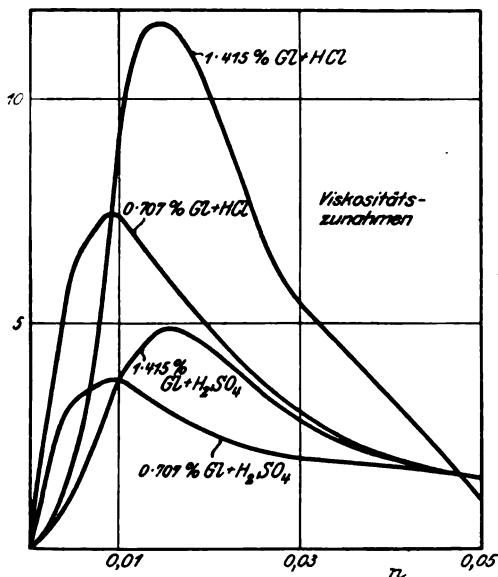


Abb. 5.

Die Resultate sind in der beistehenden Abb. 5 wiedergegeben, und zum Vergleich wurden die entsprechenden Konduktivitätskurven in

der Abb. 6 vereinigt. Die allgemeine Übereinstimmung im Verlauf der Kurven ist sehr deutlich, sie ist sogar für die Lage des Konduktivitäts- und Reibungsoptimums im 1,415proz. Glutin +  $H_2SO_4$  eine sehr vollkommene (vgl. Abb. 4), doch zeigen die Viskositätskurven sonst eine geringe, aber konstante Verschiebung des Maximums in etwas niedrigere

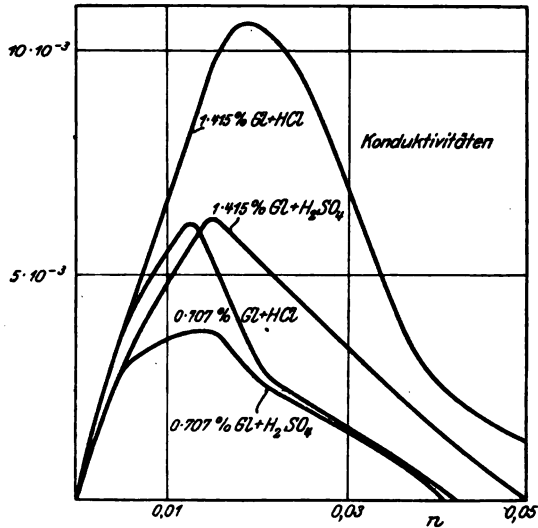


Abb. 6.

Säurekonzentrationen. So rückt das Optimum für die Viskosität bei 1,415 Proz. Glutin + HCl nach 0,015 n HCl, entsprechend einem  $p_H = 2,69$ , während das Konduktivitätsmaximum bei 0,018 n HCl ( $p_H = 2,37$ ) liegt. Die anschließende Tabelle XVI gibt eine Übersicht der  $p_H$ -Werte und des Säuregehalts in den Maximumpunkten der Konduktivität und Viskosität ( $\eta$ ).

Tabelle XVI.  
Glutinmischungen.

$K^{III}$ -Optimum			$\eta$ -Optimum	
Glutin Proz.	n HCl	$p_H$	n HCl	$p_H$
0,707	0,0125	2,30	0,01	2,52
1,415	0,019	2,37	0,015	2,69
Glutin Proz.	n $H_2SO_4$	$p_H$	n $H_2SO_4$	$p_H$
0,707	0,014	2,2	0,01	2,6
1,415	0,015	2,7	0,015	2,7

Es handelt sich also um Unterschiede in relativ engen Grenzen. Sie sind geringer als sie *Hitchcock* z. B. für das  $p_H$  im Optimum des osmotischen Druckes und der Viskosität angibt. Von den gewaltigen Abweichungen, wie sie sein „Ionisationsmaximum“ zeigt, kann keine Rede sein. Da jedoch in unseren Versuchen die Reibungsbestimmung des Glutins leicht auf das genaueste ausgeführt werden konnte und ferner insbesondere für die Auswertung des Konduktivitätsmaximums, das sich überdies mit dem bei den Chloriden ermittelten Aktivitäts-optimum deckt, nur die genau feststellbare  $H^+$ -Aktivität gemessen werden muß, während die weniger genaue  $Cl^-$ -Ionenbestimmung ganz wegfällt, scheint uns die geringe aber einsinnige Verschiebung des Viskositätsmaximums in niedere Säurekonzentrationen nicht notwendig in Fehlern der Methode oder der Berechnungsweise begründet.

Bezüglich der Deutung dieser merkbaren Verschiebung wird wohl die größte Vorsicht walten müssen. In den bisherigen Arbeiten wurde stets eine im Grunde elektrostatische Auffassung der Viskosität von Proteinsalzen als Ergebnis einer infolge der Aufladung der Proteinionen gesteigerten Hydratation festgehalten und von Versuchen einer Berechnung des Teilchenvolumens oder der Zahl der vom Eiweiß „aufgenommenen“ Wassermoleküle, wie sie anderweitig angestrebt wurde, grundsätzlich Abstand genommen, eine Berechnung, gegen die auch Bedenken *Smoluchovskis*<sup>1)</sup> angeführt werden können. Indessen hat die elektrostatische Auffassung der Ionenhydratation in neuerer Zeit namentlich durch *M. Born* eine festere theoretische Unterlage erhalten<sup>2)</sup>.

Allein schon die Aktivität und Konduktivität, welche nach den neueren Anschauungen und deren Formulierung durch *Debye-Hückels* Grenzgesetz den Ausdruck ganz verschiedener physikalischer Zusammenhänge darstellen, zeigen nur eine allgemeine Übereinstimmung des Verlaufs neben merklichen quantitativen Unterschieden. Daß in der Viskosität, zumal der Proteinsalze, wieder andere Zusammenhänge mit der Teilchenladung vorliegen werden, ist, trotz des Ausstehens einer zureichenden Theorie derselben, kaum zu bezweifeln, und schon dieser Umstand läßt mehr als symbate Bilder der  $A$ -,  $K$ - und  $\eta$ -Kurven nicht erwarten. Immerhin ist das Zusammenfallen der Lage der verschiedenen Maxima bei den Albuminen ein recht befriedigendes, während sich beim Glutin meist die angegebene geringe Verschiebung des Viskositätsmaximums in etwas niedrigere Säurekonzentrationen findet. Vielleicht spielt hier die verschiedene Meßtemperatur eine Rolle. Sie lag nämlich beim Glutin für die Reibung um  $10^0$  höher als

<sup>1)</sup> Kolloid-Zeitschr. 18, 194, 1916.

<sup>2)</sup> Vgl. dazu auch *Pauli*, Eiweißkörper und Kolloide, zwei Vorträge. Wien, J. Springer, 1926.

die der Leitfähigkeit, bzw. um 15° über der Temperatur der Aktivitätsmessung, und es wird noch zu prüfen sein, ob die theoretisch zu erwartende Änderung der Hydrolyse des Proteinsalzes mit der steigenden Temperatur, welche die freien Ladungen der Proteinionen herabsetzen würde, in genügendem Maße eintritt und im Sinne der beobachteten Verschiebung wirksam wird.

Diese Möglichkeit ließe gerade die gute Übereinstimmung des  $K$ - und  $\eta$ -Optimums in der höheren Glutinsulfatkonzentration (1,415 Proz. Glutin +  $H_2SO_4$ ) verstehen, in welcher die geringste Hydrolyse zu erwarten wäre. Eine sichere Entscheidung können jedoch nur weitere Untersuchungen bringen, desgleichen in der bedeutungsvollen Frage, weshalb so gewaltige Unterschiede in der Reibung der Proteinionen des Ovalbumins, Seralbumins und des Glutins im Sinne eines starken Anstiegs in dieser Reihenfolge hervortreten, während zugleich nur relativ geringe Verschiedenheiten in der pro Gramm Protein aufgenommenen maximalen Säuremenge bestehen. Für die nächstliegende Erklärung dieser Differenzen aus Schwankungen der Größe und Ladungsdichte der Proteinteilchen fehlen zurzeit noch die ausreichenden tatsächlichen Unterlagen.

---

# Über die Resorption von Calcium bei peroraler Verabreichung.

Von

Fritz Lasch und Karl Neumayer.

(Aus der biologischen Abteilung des pharmakognostischen Instituts der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

Über die Resorption von Calcium bei peroraler Verabreichung bei Tier und Mensch besteht heute noch keine volle Klarheit. Während die Mehrzahl der Untersucher, wie *Denis* und *Minot*<sup>1)</sup>, *Handovsky*<sup>2)</sup>, *Clark*<sup>3)</sup>, *Jansen*<sup>4)</sup> und *Jakobowitz*<sup>5)</sup> eine Aufnahme von Calcium aus dem Magen-Darmtrakt auf Grund von Untersuchungen des Blutkalkspiegels ablehnen, glauben *Richter-Quittner*<sup>6)</sup>, *Mason*<sup>7)</sup> und *Laws* und *Cowie*<sup>8)</sup> diese nachgewiesen zu haben. In jüngster Zeit konnte *Astanin*<sup>9)</sup> beim Kaninchen durch perorale Verabreichung von Calciumlösungen eine vorübergehende Hypercalcämie hervorrufen. Es dürfte jedoch schon in Hinsicht auf die therapeutische Wichtigkeit des Calciums von Bedeutung sein, klarzustellen, ob und unter welchen Bedingungen Calcium überhaupt aus dem Magen-Darmtrakt resorbiert wird.

Wir haben daher Versuche in dieser Richtung vorgenommen, und zwar ausschließlich an Karnivoren (Katzen und Hunde) und einige an Menschen. Es wurde in allen Versuchen der Nüchternwert des Calciums im Blutserum bestimmt, eine gemessene Menge Calcium (beim Tiere mit der Schlundsonde) verabreicht und anschließend weiterhin das Serumcalcium im 1/2- bis 1stündigen Intervall verfolgt. Aus einem Ansteigen konnte auf eine Resorption aus der verabreichten Calciumlösung in die Blutbahn geschlossen werden. In Kontrollversuchen

---

1) *Denis* und *Minot*, Journ. of biol. Chem. 41, 357, 1920.

2) *Handovsky*, Jahresber. f. Kinderheilk. 41, 432, 1920.

3) *Clark*, Journ. of biol. Chem. 43, 89, 1920.

4) *Jansen*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 145, 209, 1924.

5) *Jakobowitz*, Jahresber. f. Kinderheilk. 43, H. 6, 1921.

6) *Richter-Quittner*, diese Zeitschr. 114, 58, 1921.

7) *Mason*, Journ. of biol. Chem. 47, 3, 1921.

8) *Laws* und *Cowie*, Amer. Journ. of dis. of child. 13, 1917.

9) *Astanin*, diese Zeitschr. 168, 231, 1926.

wurde sowohl der Serumcalciumspiegel nüchtern während mehrerer Stunden verfolgt, um stärkere Schwankungen, eventuell durch die häufigen Blutentnahmen bedingt, ausschließen zu können, andererseits wurde beim Tiere statt der Calciumlösung eine entsprechende Menge gleichkonzentrierter NaCl-Lösung verabreicht, um durch Flüssigkeitsresorption mögliche Verschiebungen des Serumkalks feststellen zu können. Die Blutentnahmen erfolgten bei den Tieren aus den Ohr-, beim Menschen aus den Kubitalvenen. Die Bestimmungen des Calciums im Serum wurden nach der Methode von *de Waard*<sup>1)</sup> mit direkter Fällung im Nativserum vorgenommen; es wurden stets Doppelbestimmungen ausgeführt, und es sind alle Zahlen stets Mittelwerte von zwei gut übereinstimmenden Analysen. Auf die möglichen Fehlerquellen der Methode, namentlich auf das Festhaften des Calciumoxalatniederschlags an den Wänden des Zentrifugierröhrchens und dadurch entstandene Verluste beim Abheben der Waschflüssigkeit, worauf schon *Blühdorn* und *Genck*<sup>2)</sup> und *Hecht*<sup>3)</sup> hingewiesen haben, wurde stets geachtet.

Die peroral verabreichten Calciummengen waren 10proz. Calciumchloridlösungen aus kristallisiertem Calciumchlorid pro analysi *Kahlbaum* oder *Merck*. Ihr Calciumgehalt wurde ebenfalls nach *de Waard* bestimmt.

Nachstehend seien die Ergebnisse der Untersuchungen tabellarisch und in Kurvenform zusammengefaßt. Es wurden auch an einigen Tieren in gewissen Intervallen mehrere Versuche vorgenommen, um Zufallsbefunde möglichst ausschalten zu können. Allen Tieren wurde 24 Stunden vor dem Versuch keine feste Nahrung mehr, in den letzten 12 Stunden auch kein Wasser mehr gereicht.

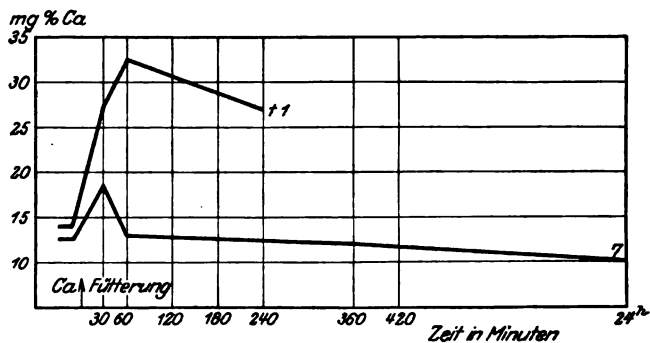


Abb. 1. Katze I und IV. Versuch 1 und 2.

<sup>1)</sup> *de Waard*, diese Zeitschr. 97, 176, 1919.

<sup>2)</sup> *Blühdorn* und *Genck*, ebendasselbst 185, 581, 1923.

<sup>3)</sup> *Hecht*, ebendasselbst 143, 342, 1923.

Aus Tabelle I ist gut ersichtlich, daß in allen Katzenversuchen nach Einführung einer 10proz. Calciumchloridlösung in den Magen eine bedeutende Steigerung des Calciumspiegels im Blutserum um etwa 69 bis 172 Proz. des Anfangswertes auftrat. Im allgemeinen war der höchste Wert bei den nicht letal verlaufenden Versuchen (2, 3, 5, 7) ungefähr 30 bis 60 Minuten nach der Fütterung erreicht, um dann gleichmäßig wieder abzufallen und nach 3 bis 24 Stunden dem Ausgangswerte wieder nahe zu kommen. Diese Befunde stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Astanin*<sup>1)</sup>, der bei Kaninchen nach peroralen Calciumgaben die höchsten Werte des Serumkalkes ebenfalls nach 30 bis 60 Minuten feststellen konnte. Bei den letal verlaufenden Versuchen (1, 4, 8) ist bemerkenswert, daß der

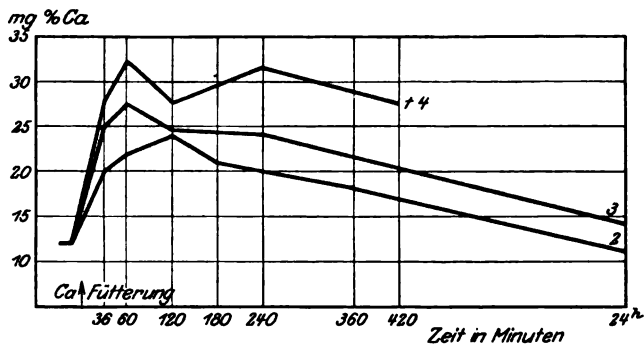


Abb. 2. Katze II. Versuch 2, 3 und 4.

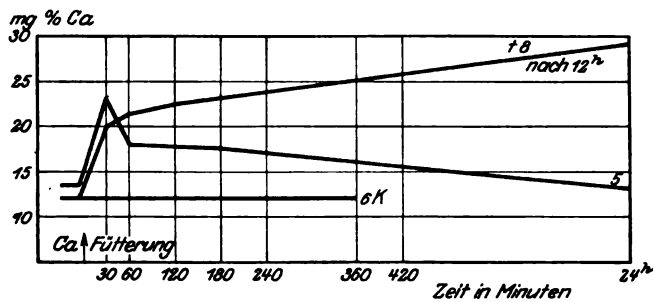


Abb. 3. Katze III und V. Versuch 5, 6 und 8.

Serumcalciumspiegel wohl auch nach 30 bis 60 Minuten beträchtlich erhöht ist, daß dieser erhöhte Wert aber nicht mehr abfällt, sondern entweder mit geringen Schwankungen bis zum Tode konstant bleibt (1, 4) oder sogar bis dahin noch weiter ansteigt (8). Die Kalkwerte vor dem Tode der Tiere sind ähnlich denen, wie sie von *Heubner*<sup>2)</sup> bei letalen Dosen nach intravenöser Einverleibung von Calciumsalzen gefunden wurden. Ebenso gleicht das Vergiftungsbild der verstorbenen Tiere vollkommen den von *Heubner* bei seinen Versuchen beschriebenen. Die Katzen wurden vorerst nach etwa 1 bis 3 Stunden somnolent, hatten starke Salivation, reagierten aber noch auf vorgehaltene Nahrung mit Schnappen. Dann traten Paresen

<sup>1)</sup> *Astanin*, l. c.

<sup>2)</sup> *W. Heubner*, diese Zeitschr. 156, 171, 1925; Klin. Wochenschr. 1923, S. 1603.

der hinteren Extremitäten mit Atonien auf, die Tiere taumelten wie bei einer cerebellaren Ataxie hin und her, und es entwickelte sich das Bild der „Taumellähmung“ Heubners. Der Tod erfolgte dann meist nach etwa 12 bis 14 Stunden unter allgemeinen Lähmungserscheinungen. Bei der Autopsie konnte makroskopisch nichts Pathologisches gefunden werden, der Magen war leer. Weshalb bei einigen Tieren das aufgenommene Calcium zur Vergiftung mit letalem Ausgang führte, während bei anderen die gleiche Dosis glatt getragen wurde, ist nicht eindeutig zu entscheiden. Vielleicht war die Ausscheidung in Niere, Gewebe usw. erschwert, obwohl pathologisch-anatomisch für diese Möglichkeit kein Anhaltspunkt gefunden werden konnte. Im Kontrollversuch (6) wurden nach Verabreichung der gleichen Menge einer 10proz. NaCl-Lösung keine wesentlichen Schwankungen des Serumkalkspiegels gefunden; sie hielten sich stets innerhalb der Fehlerquelle der Bestimmungsmethode des Calciums ( $\pm 5$  Proz.) Dieser Versuch zeigt auch, daß die wiederholten Blutentziehungen keine wesentliche Veränderung im Serumkalk hervorrufen.

Anschließend seien die Versuche an Hunden übersichtlich zusammengefaßt.

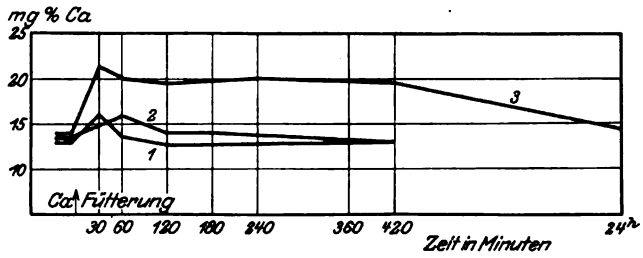


Abb. 4. Hund I. Versuch 1, 2 und 3.

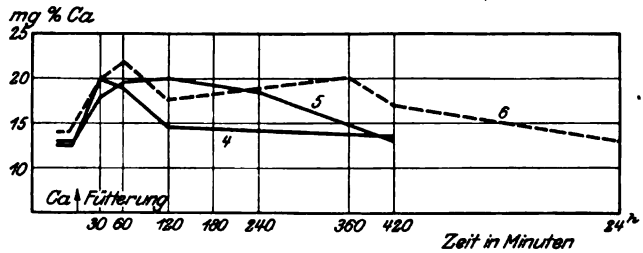


Abb. 5. Hund II. Versuch 4, 5 und 6.

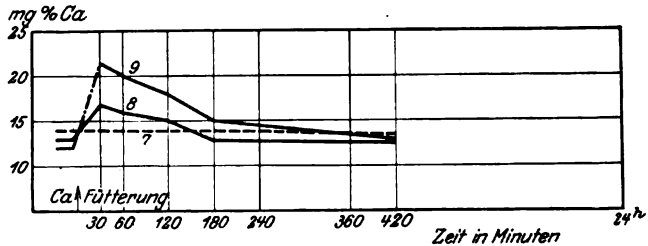


Abb. 6. Hund III. Versuch 7, 8 und 9.



Aus Tabelle II ersieht man, daß bei allen Hunden nach peroraler Verabreichung von Calciumchlorid in 10proz.Lösung der Serumkalkspiegel als Zeichen der Resorption ansteigt, und zwar je nach Größe der gegebenen Dosis. Wie bei den Katzenversuchen war etwa 30 bis 60 Minuten nach der Fütterung der höchste Serumwert erreicht, um dann im Verlauf von etwa 7 Stunden wieder zur Ausgangshöhe abzusinken. Irgendwelche Vergiftungssymptome konnten im Gegensatz zu den Untersuchungen bei Katzen nicht beobachtet werden. Das Erbrechen, das einige Zeit nach der Schlundsondenfütterung bei den meisten Tieren auftrat, dürfte wohl als reflektorisch auf die sehr bittere Calciumlösung angenommen werden. Auch beim Hunde zeigte der Kontrollversuch (7), daß sowohl die öfteren Blutentnahmen wie auch die Zufuhr der gleichen Menge einer 10proz. NaCl-Lösung keinen wesentlichen Einfluß auf den Serumkalkspiegel ausüben.

Im folgenden sei noch über einige Versuche an Menschen berichtet.

Diese sind alle an gesunden Erwachsenen ausgeführt worden. Es wurde nur ein Teil der im Tierversuch angewandten Dosis, auf Kilogramm berechnet, auf den Menschen übertragen. Alle Versuchspersonen blieben 12 Stunden vorher und während des Versuchs selbst völlig nüchtern. In einem gleich langen Kontrollversuch wurde in jedem Falle der Nüchternwert des Serumcalciums verfolgt. Auch hier seien die Versuche übersichtlich zusammengefaßt.

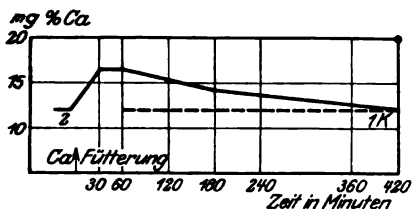


Abb. 7. Fall B. Versuch 1 und 2.

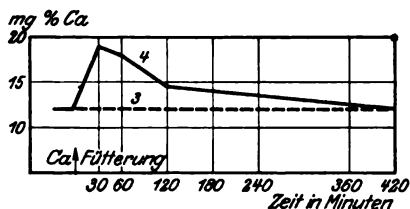


Abb. 8. Fall L. Versuch 3 und 4.

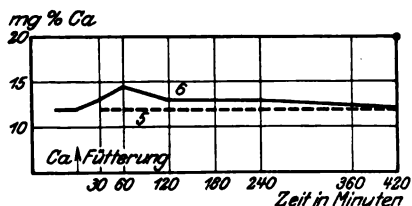


Abb. 9. Fall K. Versuch 5 und 6.

Die Tabelle III zeigt, daß in allen drei Versuchen am Menschen (2, 4, 6) nach peroraler Verabreichung von Calciumchloridlösungen eine Steigerung des Serumcalciumspiegels auftrat. Wie bei den Untersuchungen am Tiere, war der Höhepunkt des Anstiegs nach etwa 30 bis 60 Minuten erreicht, um innerhalb 7 Stunden zum Ausgangswert wieder zurückzukehren. Stärkere Vergiftungserscheinungen wurden nicht beobachtet, nur in zwei Versuchen (2, 4) trat ein sehr starkes Schwindelgefühl und zugleich beträchtliche Salivation auf; diese Erscheinungen dauerten 2 bis 6 Stunden

Tabelle I.

Versuchstier	Versuchsnummer	Datum 1926	Gewicht g	Von einer 10proz. CaCl <sub>2</sub> - Lösung wurden eingeführt		Serumcalcium			
				ccm	g Ca	vorher	nach der Ca		
							30'	60'	120'
Katze I ♀ . . . .	1	8. III.	3950	40	0,88	14,10	27,40	32,70	—
Katze II ♂ . . . .	2	11. III.	3520	40	0,88	11,90	20,20	22,00	24,00
	3	18. III.	3520	40	0,88	11,80	25,20	27,60	24,40
	4	22. III.	3520	40	0,88	11,92	28,80	32,40	27,50
Katze III ♂ . . . .	5	15. III.	940	20	0,44	13,60	23,00	18,20	—
	6 <sub>K</sub>	23. III.	960	20		12,18	12,20	12,20	—
Katze IV ♀ . . . .	7	16. III.	950	20	0,44	12,40	18,60	13,20	—
Katze V ♀ . . . .	8	19. III.	2600	40	0,88	12,00	20,20	21,42	22,40

\*) Herzblut ante mortem entnommen.

Tabelle II.

Versuchstier	Versuchsnummer	Datum 1926	Gewicht g	Von einer 10proz. CaCl <sub>2</sub> - Lösung wurden eingeführt		Serumcalcium			
				ccm	g Ca	vorher	nach der Ca		
							30'	60'	120'
Hund I ♀ . . . .	1	24. III.	2000	20	0,44	13,00	16,20	13,60	12,50
	2	26. III.	2000	20	0,44	13,40	15,00	16,00	14,20
	3	29. III.	2000	40	0,88	14,00	21,40	20,00	19,70
Hund II ♀ . . . .	4	25. III.	2000	20	0,44	12,30	20,20	19,00	14,60
	5	27. III.	2000	30	0,66	13,20	18,00	19,60	19,80
	6	30. III.	2000	50	1,10	13,80	20,00	22,10	17,60
Hund III ♀ . . . .	7 <sub>K</sub>	13. IV.	9300	40		14,10	13,80	14,00	—
	8	14. IV.	9300	40	0,88	13,20	17,00	16,00	15,00
	9	16. IV.	9300	100	2,20	12,20	21,60	20,20	18,00

Tabelle III.

Versuchsperson	Versuchsnummer	Datum 1926	Gewicht kg	Von einer 10proz. CaCl <sub>2</sub> - Lösung wurden getrunken		Serumcalcium			
				ccm	g Ca	vorher	nach der Ca		
							30'	60'	120'
B. 23 Jahr ♂ . . .	1 <sub>K</sub>	16. IV.	58	θ	θ	—	—	11,90	12,00
	2	17. IV.	58	200	4,4	11,90	16,60	16,40	—
L. 28 Jahr ♂ . . .	3 <sub>K</sub>	18. IV.	72	θ	θ	—	11,90	11,81	12,00
	4	19. IV.	72	350	7,7	11,90	19,00	17,80	14,90
K. 22 Jahr ♂ . . .	5 <sub>K</sub>	30. IV.	64	θ	θ	—	11,86	12,00	11,90
	6	3. V.	64	350	7,7	11,80	13,20	14,60	13,00

## Versuche an Katzen.

Dosis in mg-Proz.					Maximale Steigerung		Bemerkungen
Steigerung					mg-Proz.	in Proz. des Anfangswertes	
180'	240'	360'	420'	24h			
—	27,00	—	—	—	18,60	131	Nach 3h somnolent, nach 14h Exitus Autopsie o. B.
1,00	—	18,20	—	11,20	12,10	100	Völliges Wohlbefinden, nur Salivation
—	24,00	—	—	14,20	15,80	133	Völliges Wohlbefinden, nur Salivation
—	31,60	—	27,60	—	20,48	172	Nach 5–6h somnolent, starke Salivation, „Taubmähmung“, nach 12h Exitus, Autopsie o. B.
7,60	—	—	—	13,20	9,40	69	Nach 3h somnolent, dann völlige Erholung
2,18	—	12,20	—	—	θ	θ	Kontrollversuch
2,70	—	12,20	—	10,20	6,20	50	Völliges Wohlbefinden
—	—	—	—	28,80*)	16,80	140	Nach 4h Somnolenz, starke Salivation, „Taubmähmung“, nach 12h Exitus, Autopsie o. B.

## Versuche an Hunden.

Dosis in mg-Proz.					Maximale Steigerung		Bemerkungen
Steigerung					mg-Proz.	in Proz. des Anfangswertes	
80'	240'	360'	420'	24h			
—	—	—	13,20	—	3,20	24,6	Nach 14' Erbrechen, Salivation, sonst o. B.
1,00	—	—	12,90	—	2,60	19,4	Nach 6' Salivation, sonst o. B.
—	19,80	—	19,40	14,60	7,40	52,8	Nach 10' Erbrechen, sonst o. B.
—	—	—	13,40	—	7,90	64,2	Nach 10' leichtes Erbrechen, sonst o. B.
—	13,50	—	13,20	—	6,60	50,0	Nach 30' Erbrechen, sonst o. B.
—	18,80	20,00	17,00	13,00	8,30	60,1	Nach 10' Erbrechen, sonst o. B.
—	14,00	—	13,60	—	θ	θ	Kontrollversuch
3,00	—	—	12,60	—	3,80	28,0	O. B.
5,20	—	—	13,00	—	9,40	73,0	Nach 28' starkes Erbrechen (etwa 80 ccm schaumige Flüssigkeit), sonst o. B.

## Versuche an Menschen.

Dosis in mg-Proz.					Maximale Steigerung		Bemerkungen
Einnahme					mg-Proz.	in Proz. des Anfangswertes	
80'	240'	360'	420'	24h			
1,90	12,00	—	11,90	—	θ	θ	Kontrollversuch
1,00	—	—	12,10	—	4,70	38,3	Nach 2h starkes Schwindelgefühl und Salivation, 5h andauernd, dann Mattigkeit
—	11,92	—	12,00	—	θ	θ	Kontrollversuch
—	—	—	12,00	—	7,00	58,0	Nach 1h starkes Schwindelgefühl, Salivation, durch 12h hindurch sehr matt
—	12,00	—	11,91	—	θ	θ	Kontrollversuch
—	12,80	—	11,90	—	2,80	23,8	Vollkommenes Wohlbefinden

an und wichen dann einer starken Mattigkeit. Nach 6 bis 7 Stunden erfolgte heftiger Durchfall. Innerhalb 24 Stunden trat dann völliges Wohlbefinden wieder ein. Bemerkenswert ist, daß im Versuch 6, in dem die geringste Steigerung des Serumcalciums auftrat, diese Erscheinungen vollkommen fehlten. In den vorgenommenen Kontrollversuchen (1, 3, 5) konnten keine stärkeren Schwankungen der Serumkalkwerte gefunden werden. Sie blieben stets innerhalb der Fehlerquellen der Methodik.

Die hier gezeigten Versuche lassen alle vollkommen übereinstimmend den Schluß zu, daß Calcium bei Karnivoren (Katzen, Hunden) und bei Menschen bei peroraler Verabreichung in der Form einer 10proz. Calciumchloridlösung zur Resorption gelangt und in einer Erhöhung des Calciumspiegels im Serum nachweisbar ist. Das Serumcalcium zeigt die höchsten Werte nach ungefähr 30 bis 60 Minuten nach der Aufnahme des Calciums per os und fällt dann innerhalb 7 bis 24 Stunden wieder auf den Ausgangswert ab. Nur bei jenen Versuchstieren, bei welchen das Bild einer schweren Calciumvergiftung mit letalem Ausgang eintrat, blieb der Serumkalk bis zum Tode andauernd hoch. Diese Ergebnisse ergänzen die schon weiter oben erwähnten Versuche von *Astanin*<sup>1)</sup>, der bei Herbivoren (Kaninchen) ebenfalls bei Verfütterung von Calciumsalzen eine vorübergehende Hypercalcämie nach 30 bis 60 Minuten nachweisen konnte.

Für die interne therapeutische Verabreichung von Calcium sind die vorliegenden Versuche deshalb von Bedeutung, weil durch sie einwandfrei nachgewiesen werden konnte, daß Calcium vom Magen-Darmtrakt aus in die Blutbahn gelangt. Für die praktische Anwendung dürfte allerdings die Verordnung von so großen Mengen der sehr bitteren Calciumchloridlösung nicht empfehlenswert sein. Es muß weiterhin untersucht werden, ob nicht auch bereits kleinen Mengen Calcium eventuell durch Beigabe resorptionsfördernder Substanzen bei peroraler Einverleibung in den Organismus aufgenommen werden. Über solche Versuche am isolierten überlebenden Darm, wobei Saponinum purum albißimum *Merck* mit Erfolg zur Förderung der Calciumresorption verwendet wurde, hat der eine von uns<sup>2)</sup> vor kurzem berichtet. Untersuchungen am lebenden Tiere sind bereits im Gange.

#### Zusammenfassung.

Es wurde die Resorptionsmöglichkeit von Calciumchloridlösungen bei peroraler Verabreichung an Karnivoren (Katze, Hund) und an gesunden Menschen untersucht. Es konnte in allen Versuchen eine Aufnahme von Calcium in die Blutbahn, sichtbar in einer Steigerung des Serumkalkspiegels festgestellt werden. Der Höhepunkt des Anstiegs war nach 30 bis 60 Minuten, der Ausgangswert nach etwa 7 Stunden erreicht. Bei einigen Katzen, welche unter dem typischen Bilde einer Calciumvergiftung (Taumellähmung) zugrunde gingen, blieb der Anstieg des Calciums im Serum bis zum Tode bestehen.

<sup>1)</sup> *Astanin*, l. c.

<sup>2)</sup> *Lasch*, diese Zeitschr. 169, 301, 1926.

## Untersuchungen über den Jodstoffwechsel. II.

Von

Th. von Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes, Bern.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

### 1. Über den normalen Jodstoffwechsel.

Vor einiger Zeit<sup>1)</sup> ist über den normalen Stoffwechsel bei jodarmer Ernährung unter zeitweiligem Zusatz kleiner Joddosen in Form von Kaliumjodid, Lebertran, Sardinen und Bachkresse berichtet worden. An anderer Stelle<sup>2)</sup> wurde über die Jodausscheidung von Bewohnern einer nahezu kropffreien Gegend, Effingen, und zweier vom Kropf heimgesuchter Ortschaften, Kaisten und Hunzenschwil, berichtet und festgestellt, daß der Jodumsatz in Effingen bedeutend höher war als an den beiden anderen Orten.

Hier kann ich nun über eine kleine Fortsetzung dieser Untersuchungen berichten. Es handelt sich um eine Reihe von Harnproben von Forte dei Marmi an der ligurischen Küste, die mir im September 1924 durch Herrn Dr. *Eggenberger* von einer Reise mitgebracht worden sind. Jene Gegend ist kropffrei. Es wurde stets der Nachtharn aufgefangen und daraus die Ausscheidung in 24 Stunden berechnet.

Tabelle I bringt die erhaltenen Resultate. Die Werte sind in  $\gamma$  = Millionstel Gramm angegeben.

*Tabelle I.*  
Harnproben von der ligurischen Küste.

Nr.	Geschlecht	Alter Jahre	Wohnort	Jod in 24 Stdn. $\gamma$
1	♀	etwa 12	Forte dei Marmi	50
2	♂	12	" " "	53
3	♂	30	" " "	102
4	♂	30	Massa, 3 km von der Küste	94
5	♂	46	aus Zürich, seit 14 Tagen in Forte dei Marmi	50
6	♀	29	" " " 14 " " " " "	60
7	♀	41	" " " 8 " " " " "	30
8	♂	53	Florenz	140

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 142, 246, 1923.

<sup>2)</sup> Ebendasselbst 152, 149, 1924.

Die Jodausscheidungen sind hier im großen und ganzen ähnlich wie in Effingen. In Effingen hatten wir damals eine mittlere Ausscheidung von 64  $\gamma$  gefunden (in Kaisten 19 und in Hunzenschwil 17  $\gamma$ ). Der mittlere Wert aller Proben beträgt in Forte dei Marmi 72  $\gamma$ . Wenn wir aber eine gewisse Auslese treffen, ändert sich das Bild sehr zugunsten von Forte dei Marmi. Die drei Personen aus Zürich können wir ausschalten, weil sie, besonders die erst 8 Tage an der ligurischen Küste weilende Dame 7, noch nicht im Jodgeleichgewicht stehen. Ihre Jodaufnahme dürfte die Jodabgabe wohl stark übertreffen. Sie befinden sich einstweilen noch im Stadium der Jodspeicherung. Die Kinder 1 und 2 sind aus Gründen auszuschalten, die im folgenden erörtert werden sollen. Es bleiben noch die Personen 3, 4 und 8. Im Durchschnitt scheiden sie 112  $\gamma$  Jod aus, also nahezu doppelt so viel, wie die Bewohner von Effingen. Wir haben hier den Jodumsatz einer offenbar jodreichen Meeresgegend.

Es ist früher gezeigt worden, daß Effingen seinen hohen Jodgehalt den Gesteinen und der Erde verdankt. Wir hatten im dortigen Jura Proben von Gestein, Mergel und Erde mit 9 bis 15000  $\gamma$  Jod pro Kilogramm gefunden. Da *Eggenberger* mir ebenfalls einige Gesteinsproben aus der Gegend von Forte dei Marmi mitgebracht hatte, so konnte ich prüfen, ob auch die ligurische Küste ihren Jodreichtum ihrem geologischen Untergrund verdankt. Ich fand in drei Marmorproben folgende Gehalte:

	Jod im kg $\gamma$
Marmor Violetto, Ponte Stazzemese, Valle Versigliesi . . . . .	600
Marmor von Monte altissimo bei Carrara . . . . .	450
Marmor von Seravezza, Valle Versigliesi . . . . .	120

Die Werte sind überall niedrig.

Folgende Tabelle zeigt das gegenseitige Verhältnis zwischen Kropfhäufigkeit, 24stündiger Jodausscheidung im Harn und dem Jodgehalt der Gesteine und der Erde. Ich führe auch gleich das Dorf Hornussen an, obgleich ich von dort keine Harnproben besitze.

Tabelle II.

	Kropf Proz.	Jod im Harn von 24 Stunden $\gamma$	Jod im kg Gestein $\gamma$	Jod im kg Erde $\gamma$
Kaisten . . . . .	32	19	400	800—2000
Hunzenschwil . . . . .	56	17	300—700	600
Hornussen . . . . .	12	—	800	5 000
Effingen . . . . .	1	64	5000—9000	12 000
Forte dei Marmi . . . . .	0	112	120—600	6 000

Die Tabelle zeigt überall Beziehungen zwischen der Kropfhäufigkeit und dem Jodumsatz bei den Aargauerdörfern, ferner zwischen Kropf-

häufigkeit bzw. Jodumsatz einerseits und Jodgehalt der Erde und Gesteine andererseits. Bei Forte dei Marmi sind die letzteren Beziehungen weniger ausgeprägt. Die Gesteine sind sogar sehr jodarm; die Erde ist, obwohl jodreicher als die von Hornussen, mit 12 Proz. Kropf doch jodärmer als die von Effingen. Das vom Menschen umgesetzte Jod stammt also hier nicht, wie in Effingen, nur aus dem Boden, sondern hauptsächlich aus dem Meere (Fischnahrung), und auch die starke Anreicherung des Bodens mit Jod dürfte unter dem Einfluß der Meeresnähe zustande gekommen sein. Das geht auch aus folgendem hervor.

Eine Probe Tau von Forte dei Marmi enthielt 18  $\gamma$  Jod im Liter, während in Bern nur 5 bis 7  $\gamma$  gefunden worden waren. Der Taufall soll nach *Eggenberger* an der ligurischen Küste regelmäßig sehr ergiebig sein. Wenn er trotzdem noch so jodreich ist, so erhält das Land auf diesem Wege eine beträchtliche Jodmenge, die sich zum Teil in einem höheren Jodgehalt auch der Landnahrung auswirken muß.

Die Wirkung des Meeres scheint sich hier nur auf eine kurze Distanz zu erstrecken. In 6 bis 10 km Entfernung von der Küste, in den apuanischen Alpen, von wo die erwähnten jodarmen Marmorproben stammen, fanden *Dieterle* und *Eggenberger*<sup>1)</sup> bereits wieder Kropf.

Bei der Besprechung der Jodausscheidungen von Effingen, Kaisten und Hunzenschwil hatte ich angegeben, daß der Organismus in gleichen Zeiten gleiche Jodmengen ausscheidet und daß es daher erlaubt sei, aus der nächtlichen Ausscheidung, falls ihre Zeitdauer genau bekannt ist, auf diejenige von 24 Stunden zu schließen. Belegzahlen hatte ich damals noch nicht geliefert. Sie mögen hier folgen. Es handelt sich um einen Selbstversuch bei gewöhnlicher Ernährung. Sämtliche Harnfraktionen von 24 Stunden (fünf an der Zahl) wurden aufgefangen, gemessen und auf Jod untersucht. Der Zeitpunkt der letzten Harnentleerung vor Beginn des Versuchs war 6 Uhr 30 Minuten.

Tabelle III.

Normale Jodausscheidung während 24 Stunden.

Zeit	Harnmenge ccm	Jod im Harn $\gamma$	Jod pro Liter Harn $\gamma$	Pro Stunde ausgeschiedenes Jod $\gamma$
6h30—10h15'	323	2,90	9,0	0,77
10 15—13 15	250	2,25	10,0	0,75
13 15—18	250	3,62	10,5	0,76
18 —22	273	2,87	10,5	0,72
22 — 6 30	590	7,30	12,4	0,86
Summe . .	1686	18,9*)		

\*) Davon im Tagesharn von 15 $\frac{1}{2}$  Stunden 11,6, im Nachtharn von 8 $\frac{1}{2}$  Stunden 7,3  $\gamma$ .

<sup>1)</sup> *H. Eggenberger*, *Convegno per lo studio del Gozzo endemico*, *Rassegna di Studi Psichiatrici* 8. Fasc. 6, 1924.

Die Jodausscheidung ist merkwürdig regelmäßig. Man sieht nur abends 22 Uhr eine kleine Erhöhung in der stündlichen Ausscheidung. Sonst wird in gleichen Zeiten stets ungefähr gleich viel Jod ausgeschieden, während doch die Einnahme mit der Nahrung stoßweise erfolgt und auch die Verdauung zu gewissen Stunden arbeitet, zu anderen ruht. Die Jodausscheidung ist regelmäßiger als die Harnabsonderung, auf die Flüssigkeitsmenge bezogen. Auf gleiche Harnmengen bezogen, würde die Jodausscheidung in unserem Falle von morgens früh bis am nächsten Morgen stets zunehmen. Der Vormittagsharn ist am jodärmsten, der Nachtharn am jodreichsten. Wenn wir die in gleichen Zeiten mit dem Harn abgesonderten Jodmengen vergleichen, finden wir die wenig schwankenden Werte der letzten Kolonne. Auch so betrachtet, ist der Nachtharn etwas jodreicher als der Tagharn. Wir finden darin  $0,86 \gamma$  Jod pro Stunde, im Tagharn  $0,75 \gamma$  im Durchschnitt. Wenn wir aus dem Nachtharn die Ausscheidung während 24 Stunden berechnen, kommen wir auf

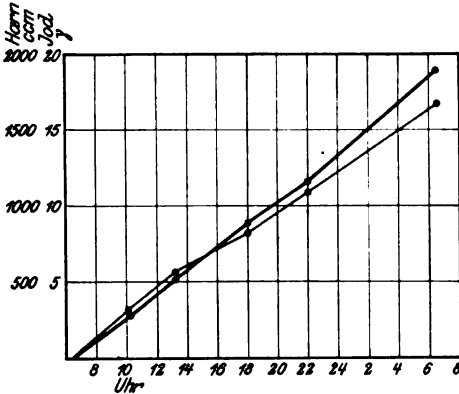


Abb. 1.

Jodausscheidung während 24 Stunden.

$20,6 \gamma$ , während die Summe der einzelnen Fraktionen  $18,9 \gamma$  ergeben hatte. Die Differenz ist gering und kann gut in Kauf genommen werden. Der Versuch zeigt, daß beim Erwachsenen tatsächlich in gleichen Zeiten ungefähr gleiche Jodmengen ausgeschieden werden.

Dieser Befund steht in einem gewissen Widerspruch mit einem Resultat, welches ich früher beim Hungern erhalten hatte<sup>1)</sup>. Dort war nachts bedeutend weniger Jod ausgeschieden worden als am Tage. Jener Versuch ist bei einer stärkeren Jodbelastung des Körpers ausgeführt worden. Man hatte in der Vorperiode jodreichere Nahrung eingenommen und eine leicht abspaltbare Jodreserve angelegt. Es läßt sich nun nicht sagen, ob an jenem abweichenden Resultat die stärkere Jodbelastung schuld ist, oder ob die größere körperliche Beanspruchung einen vermehrten Jodverbrauch und eine stärkere Ausscheidung am Tage bedingte.

Daß körperliche Beanspruchung die Jodausscheidung erhöhen kann, konnte nachgewiesen werden. In der nächsten Versuchsreihe soll gezeigt werden, daß auch seelische Beanspruchung dieselbe Wirkung ausüben kann.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 142, 255, 1923.



Der Versuch wurde im Monat Mai an einem 8½-jährigen Mädchen mit leichtem Kropf vorgenommen. Man beabsichtigte, dem Kinde die Milch einer jodreich gefütterten Kuh zu verabreichen, um die Ausnutzung des Jods dieser Milch festzustellen. Nachdem eine Vorperiode mit gewöhnlicher Milch verstrichen war und der Hauptversuch gerade hätte beginnen sollen, wurde das Kind von befreundeter Seite zu einem Tagesausflug eingeladen. Die Entscheidung, ob die Einladung angenommen werden dürfe oder nicht, wurde davon abhängig gemacht, ob die Versuchsmilch, die gerade in Arbeit war, einen normalen oder einen vermehrten Jodgehalt zeige. Im ersteren Falle konnte der Versuch als zwecklos abgebrochen werden.

Das Kind war von mittags bis abends im Ungewissen; dann folgte der Bescheid, daß es am Ausflug teilnehmen dürfe. Diese Erwartung spiegelt sich in deutlicher Weise im ausgeschiedenen Jod wieder, wie die Tabelle IV zeigt.

Tabelle IV.

Jodausscheidung im Harn beim Kind bei seelischer Erregung.

	Jod auf 12 Stunden berechnet $\gamma$		Jod auf 12 Stunden berechnet $\gamma$
Nacht 17./18. Mai	13,7	Nacht 19./20. Mai . . . . .	9,6
Tag 18. "	17,3	Tag 20. " } (In Spannung und	20,3
Nacht 18./19. "	10,8	Nacht 20./21. " } Erwartung)	33,0
Tag 19. "	16,0		

Die Spannung und Erwartung hatte das Jod am 20. Mai und in der darauffolgenden Nacht von 9,6 auf 20,3 und 33,0  $\gamma$  in 12 Stunden ansteigen lassen. Dabei war das Kind gesund. Es zeigte keine Merkmale von Fieber. Wohl aber wirkte sein Zustand auf die Jodausscheidung in ähnlicher Weise, wie das früher beim Fieber oder bei größerer körperlicher Anstrengung<sup>1)</sup> festgestellt worden war.

In unserer Tabelle interessieren uns aber nicht nur die beiden letzten Ziffern. Vergleichen wir die Ausscheidungen am Tage mit denen der Nacht (beides auf 12 Stunden berechnet), so sehen wir einen regelmäßigen Rhythmus. Tagsüber wird stets mehr Jod ausgeschieden als in der Nacht. Es zeigt sich also, daß das Resultat des vorherigen Versuchs, welches eine gleichmäßige Ausscheidung ergeben hatte, nicht allgemein gültig ist. Es dürfte wohl beim Erwachsenen den normalen Verhältnissen entsprechen, während beim Kinde die rhythmische Ausscheidung das Gewöhnliche sein dürfte. Darauf deuten wenigstens auch die beiden niederen Werte, welche im Nachtharn der Kinder von Forte dei Marmi erhalten worden waren. Die wirkliche Ausscheidung in 24 Stunden war beim Kinde dort vermutlich größer als die aus dem Nachtharn berechnete.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 142, 254, 1923.

Wenn also der Jodumsatz an einem Orte an Hand der Ausscheidungen durch den Urin bestimmt werden soll und man sich der Nachturine bedienen will, was praktisch von großem Vorteil ist, so scheidet man die Kinder lieber aus. Am besten beschränkt man sich auf männliche Versuchspersonen, denn, wie *Maurer* und *Diez*<sup>1)</sup> nachgewiesen haben, wechselt bei der Frau der Jodspiegel des Blutes mit der Periode und der Schwangerschaft beträchtlich, und diese Schwankungen werden sich jedenfalls auch auf die Jodausscheidungen erstrecken.

Es wäre von großem Wert, die tageszeitlichen Schwankungen in der Ausscheidung an möglichst vielen Personen verschiedenen Alters, und zwar an solchen mit normal funktionierender Schilddrüse und an solchen mit Hypo- oder Hyperfunktion nachzuprüfen. Es würde sich dann vielleicht herausstellen, daß die starken Tag- und Nachtausschläge speziell bei Personen auftreten, deren Schilddrüse durch die Tagese Tätigkeit besonders beansprucht ist, also wohl bei Kindern und Erwachsenen mit Hypofunktion der Drüse.

## 2. Erhöhter Jodstoffwechsel beim Kinde.

Während wir bisher die Ausscheidung bei normaler Ernährung betrachtet haben, beziehen sich die nächsten Versuche auf die Ausscheidungsverhältnisse beim Kinde nach Verabreichung von 300 und 600  $\gamma$  Jod pro Tag, also von solchen Jodmengen, wie sie etwa bei der Tablettenbehandlung in Frage kommen.

Die Versuche wurden im August und Anfang September an dem 8½-jährigen Mädchen mit leichtem Kropf ausgeführt, welches bereits zu dem soeben besprochenen Versuch gedient hatte. Die letzten 46 Tage vor Beginn des Versuchs wurden keinerlei Jodpräparate verabreicht, während vorher 4 Monate lang jodiertes Kochsalz gebraucht worden war.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Es wurde gewöhnliche Kost verabreicht. Die gesamte Nahrung wurde während der Versuchsperiode stets gewogen und jeweils ein Achtel davon für die Analyse beiseite gestellt. Man bestimmte außerdem den Jodgehalt im Harn und Kot. Der Versuch zerfällt in eine Vorperiode ohne Jodverabreichung, eine Periode mit 300 und eine mit 600  $\gamma$  Jod täglich. Jede Periode dauerte 3 Tage. Da nicht beabsichtigt wurde, die Übergänge zwischen den einzelnen Tagen zu studieren, wurde zwischen die Perioden Tage eingeschaltet, bei denen die Nahrung und die Ausscheidung nicht analysiert wurden.

Das Jod wurde als Kaliumjodid in drei gleichen Teilen zu den Mahlzeiten den flüssigen Speisen zugesetzt. Analysiert wurden Durchschnittsmuster der ganzen Perioden. Der Kot eines bestimmten Tages wurde jeweils als zum vorherigen Tag gehörig betrachtet.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

---

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschr. 17, 1926.

Tabelle V.

Jodbilanz ohne künstliche Jodzufuhr und nach Verabreichung von 300 und 600  $\gamma$  Jod in Form von KJ pro Tag.

	Tägliche Jodeinnahme			Tägliche Jodausscheidung			Bilanz Speicherung oder Verlust	
	In der Tages- nahrung	als KJ	Summe	im Harn	im Kot	Summe	$\gamma$	Proz.
	$\gamma$	$\gamma$	$\gamma$	$\gamma$	$\gamma$	$\gamma$		
22. bis 24. VIII. .	38	0	38	35	15	50	- 12	—
26. bis 28. VIII. .	40	300	340	132	7	139	+ 201	59
30. VIII. bis 2. IX.	90	600	690	270	10	280	+ 410	59

Da nur Harn und Kot untersucht worden sind, nicht aber die weniger wichtigen Ausscheidungsprodukte, wie Schweiß und Nasensekret, sind die gefundenen Ausscheidungen niedriger als die tatsächlichen. Es werden also zu hohe Werte für die Jodspeicherung gefunden. Der für beide Perioden berechnete Wert von 59 Proz. dürfte in Wirklichkeit etwa bei 50 Proz. liegen. Er ist höher als die Speicherung, die wir früher<sup>1)</sup> beim Erwachsenen (38 Proz.) gefunden hatten.

Die Jodaufnahme durch die Nahrung ist in der dritten Periode etwas hoch. An einem dieser Tage wurde Zungenwurst gegessen, und da ist es gut möglich, daß darin Schilddrüse oder ein anderes inneres Organ mit übernormalem Jodgehalt vorhanden war.

Die Jodausscheidung im Kot ist überall gering, wie es bei guter Verdauung stets der Fall zu sein pflegt.

In der Vorperiode hat die Versuchsperson etwas Jod verloren. Das zeigt uns, daß wir bei solchen Versuchen eben stets mit gewissen Schwankungen zu rechnen haben.

Um zu sehen, in welcher Weise die angelegte Jodreserve wieder abgegeben wird, wurde vier Tage nach der letzten künstlichen Jodeinnahme wiederum der Harn von 24 Stunden untersucht. Man fand darin 38  $\gamma$ , also ungefähr dieselbe Zahl, wie zu Beginn des Versuchs. Beim Kinde, wenigstens im untersuchten Falle, scheinen somit die Ausscheidungsverhältnisse der angelegten Jodreserve andere zu sein, als beim Erwachsenen. Während dort diese Reserve für die nächste Zeit eine erhöhte Ausscheidung mit sich gebracht hatte, wird hier das einmal aufgenommene Jod offenbar viel besser zurückgehalten. Wir wissen vorläufig nicht, ob diese Feststellung sich auf das Kindesalter überhaupt bezieht, oder ob es sich vielleicht um eine Reaktion speziell eines leicht strumösen Kindes handelt. Da aber der wachsende

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 142, 257, 1923.

Organismus überhaupt Jod speichern muß, da alle seine Organe, nicht nur die Schilddrüse, welches benötigen, dürfte es sich wohl um eine allgemein gültige Regel handeln.

Um die Jodausscheidung bei etwas größeren Jodgaben zu studieren, wurde dem Kinde 8 Tage nach Abschluß dieses Versuchs eine einmalige Gabe von 5000  $\gamma$  Jod in Form von KJ verabreicht. Die Ausscheidung ist in der folgenden Tabelle und der dazugehörigen Kurve wiedergegeben.

Tabelle VI.

Jodausscheidung bei einem achtjährigen Mädchen nach Einnahme von 5000  $\gamma$  Jod als KJ.

Datum, Stunde	Zeit nach der Einnahme Stdn.	Harnmenge ccm	Jodgehalt der einzelnen Harnproben $\gamma$	Summe des ausgeschiedenen Jods $\gamma$	Ausscheidung pro Stunde berechnet $\gamma$
Einnahme 10. IX. 8h	—	—	—	—	—
Ausscheid. 10. IX. 13 10'	5h 10'	278	1130	1130	219
10. IX. 15 50	7 10	112	480	1610	184
10. IX. 20	12	142	330	1940	78
11. IX. 6 45	22 45	551	870	2810	80
11. IX. 13 15	29 15	185	250	3060	33
11. IX. 14 50	30 50	107	67	3127	45
11. IX. 17 20	33 20	190	34	3161	13,6
11. IX. 20 15	36 15	183	26	3187	8,9
12. IX. 6 45	46 45	540	46	3233	4,4
12. IX. 19	59	561	49	3282	3,9
13. IX. 6 45	70 45	971	46	3328	4,1

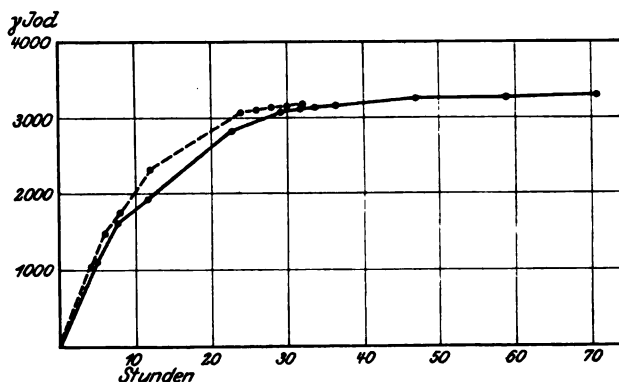


Abb. 2.

Jodausscheidung nach Einnahme von 5000  $\gamma$  Jod.

Im Kot wurden 16  $\gamma$  Jod gefunden. Somit ist auch hier das Kaliumjodid vollständig resorbiert worden.

Die Hauptausscheidung des Jods ist nach etwa 30 Stunden erreicht. Dann steigt die Kurve nur noch schwach an. Nach 50 bis 70 Stunden ist man auf einer vorläufig konstanten Ausscheidung von  $4 \gamma$  pro Stunde angelangt. Dieser Wert ist ungefähr fünfmal höher als unter normalen Verhältnissen. Wie rasch hier das Abklingen auf den normalen Wert erfolgt, ist leider nicht untersucht worden. Wir haben nach 70 Stunden eine Gesamtausscheidung von  $3330 \gamma$  oder 67 Proz.

*Veil* und *Sturm* haben Jodresorptionsversuche mit einer nahezu 100mal größeren Joddosis ( $500\,000 \gamma$  K J) ausgeführt. Wir haben nach ihren Werten die punktierte Kurve gezeichnet unter Verkleinerung des Maßstabes im Verhältnis 100 : 1. Merkwürdigerweise verlaufen die beiden Kurven sehr ähnlich; nur in der Mitte zeigt die unsrige eine Depression. Vielleicht liegt hier ein Analysenfehler vor, so daß unsere Kurve von dem Wert nach 12 Stunden an um  $300 \gamma$  aufwärts zu verlegen wäre.

Die prozentuale Ausscheidung des per os zugeführten Kaliumjodids ist also in gleichen Zeiten nahezu identisch, gleichgültig, ob 5 mg oder 500 mg verabreicht worden sind.

In der ersten Harnfraktion bestimmte man anorganisches und organisches Jod gesondert und fand nach zwei etwas verschiedenen Methoden übereinstimmend 44 Proz. anorganisches und 56 Proz. organisches Jod. Es ist auffallend, daß der größere Teil des Jods in organische Form übergeführt worden ist.

### 8. Jodausscheidung nach Schilddrüsenverabreichung.

Der nun zu besprechende Stoffwechselversuch wurde im Dezember 1923 durch *H. Eggenberger* in Herisau und seine Familie ausgeführt. Ich erhielt die Harnproben und das Schilddrüsenmaterial zur Untersuchung. Es standen Schilddrüsen von 10 dänischen Stieren im Alter von  $1\frac{1}{2}$  bis  $2\frac{1}{2}$  Jahren und im Gewicht von 230 bis 350 kg zur Verfügung. Die Schilddrüsen wogen 14 bis 23 g, im Durchschnitt 17,5 g.

Es wurden von fünf Versuchspersonen, die alle an stark jodiertes Salz gewöhnt waren, Schilddrüsen in abgewogenen Mengen eingenommen und der Urin während der folgenden 24 Stunden, in einem Falle während zweimal 24 Stunden aufgefangen.

Bei vier Versuchspersonen konnte *Eggenberger* schon nach 4 Stunden anorganisches Jod mit Hilfe der Jodstärkereaktion im Harn direkt nachweisen.

Drei Schilddrüsen im Gesamtgewicht von 42,9 g wurden zur Jodbestimmung verwendet. Man fand in einer guten Durchschnittsprobe  $806 \gamma$  J pro Gramm Drüse oder 14,1 mg auf das mittlere Drüsengewicht von 17,5 g.

Die Tabelle VII gibt die Resultate wieder.

Auffallend ist die hohe Jodausscheidung der Versuchsperson Nr. 1 am 5. Dezember, also schon vor Verabreichung der Schilddrüse. Diese

*Tabelle VII.*  
**Jodgehalt im Urin nach Schilddrüsenverabreichung.**

Nr.	Versuchs- person	Alter Jahre	Körper- gewicht kg	Harn		Verab- reichte Schild- drüse g	Jodge- halt der Schild- drüse %	Jod in 100 ccm Harn			Jod im Tagesharn			Jodausschei- dung des verabreich- ten Jods Proz.		
				Datum	Tages- menge ccm			anorg.	organ.	Summe	anorg.	organ.	Summe	anorg.	organ.	
1.	Mann	43	76	5. XII.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				6. XII.	1600	60	48 500	240	270	510	3850	4330	8180	47	53	16,9
2.	Mädchen	14	38	7. XII.	etwa 1600	—	—	17	88	105	—	—	—	—	—	—
				5. XII.	—	—	—	—	—	4,0	—	—	—	—	—	—
3.	"	6	23	6. XII.	690	18	14 500	188	145	333	—	—	—	—	—	—
				5. XII.	—	—	—	—	—	4,0	—	—	—	—	—	—
4.	Knabe	5	19,5	6. XII.	770	17	13 700	365	142	507	—	—	—	—	—	—
				5. XII.	—	—	—	—	—	4,5	—	—	—	—	—	—
5.	"	4	19,9	6. XII.	345	14	11 300	359	186	545	—	—	—	—	—	—
				5. XII.	—	—	—	—	—	4,5	—	—	—	—	—	—
				6. XII.	370	14,5	11 700	184	350	534	680	1300	1980	35	65	16,9

Versuchsperson hat öfters Jod in verschiedenen Formen zu sich genommen und besitzt infolgedessen eine starke aktuelle Jodreserve. Sie steht dauernd in starker Jodausscheidung.

Das anorganisch und das organisch ausgeschiedene Jod schwanken bei den verschiedenen Versuchspersonen ziemlich stark. Durchschnittlich halten sich die beiden Formen ungefähr die Wage. Wir haben also im allgemeinen ähnliche Verhältnisse, wie nach Verabreichung von 5 mg Jod als KJ. In zwei Fällen, bei den 5- und 6jährigen Kindern, überwiegt das anorganische Jod ziemlich stark (66 und 72 Proz.). Das letztere Kind zeichnet sich auch durch die beste Resorption des Jods aus.

Bei der ersten Versuchsperson erstreckt sich die Beobachtung auf 2 Tage. Das Verhältnis der beiden Bindungsarten hat sich am zweiten Tage stark geändert; wir haben nur noch 16 Proz. anorganisches Jod gegenüber 47 Proz. am ersten Tage. Die beiden Komponenten scheinen sich also im Verlauf der Ausscheidung in dem Sinne zu ändern, daß die anorganische mehr und mehr abnimmt. Das kommt wohl daher, daß das organische Jod weniger schnell ausgeschieden wird als das anorganische.

*Veil* und *Sturm*<sup>1)</sup> haben nach Verabreichung von Thyreoidintabletten eine trägere Ausscheidung gefunden, als nach Verabreichung anorganischen Jods. Das Verhältnis der beiden Bindungsarten bestimmten sie zu 67 Proz. anorganischem und 33 Proz. organischem Jod. Aus ihren Bestimmungen des Blutjodspiegels geht hervor, daß das Jod des Thyreoidins im Darm nicht ganz in anorganisches übergeführt wird, sondern daß auch eine direkte Resorption organischen Jods eintritt; denn der organische Jodspiegel des Blutes stieg nach Verabreichung der Tabletten stärker an als der anorganische.

Eine solche Resorption organischen Jods ergibt sich auch aus der physiologischen Wirkung der verabreichten Schilddrüsen- und Schilddrüsenpräparate.

Die Jodausscheidungen in 24 Stunden machen in vier Fällen ungefähr 16, in einem Falle 29 Proz. des eingenommenen Jods aus.

Über die Jodresorption geben unsere Zahlen keine direkte Auskunft. Stuhluntersuchungen wurden nicht gemacht. Wir können aber annehmen, daß den geringen Jodausscheidungen nicht etwa entsprechend hohe Jodspeicherungen gegenüberstehen, sondern daß die Ausscheidungen deshalb so gering sind, weil überhaupt nur wenig Jod resorbiert worden ist. Die Hauptmenge muß unverändert in den Stuhl gegangen sein. So betrachtet, geben uns also unsere Ausscheidungszahlen ein ungefähres, allerdings um einen gewissen Prozentsatz zu niedriges Maß für die Resorption. Wir können die Resorption auf ungefähr 20 bis 30 Proz. veranschlagen.

<sup>1)</sup> Deutsch. Arch. f. klin. Med. 147, 195, 1925.

#### 4. Über die geringe Resorbierbarkeit des in den grünen Pflanzenteilen enthaltenen Jods.

Wir haben soeben den Schluß gezogen, die Resorption von Schilddrüsenmaterial sei keine sehr gute. Bereits bei früheren Untersuchungen hatte ich beobachtet, daß das Jod in der gewöhnlichen Tagesnahrung nicht immer glatt verdaut wird. Ich hatte speziell bei Bachkresse eine ziemlich schlechte Resorption gefunden und geglaubt, dies mehr der mangelhaften Zubereitung des Gemüses und einer momentan ungünstigen Magendisposition zuschreiben zu müssen, als dem Material selbst. Später stellte es sich dann bei Versuchen an der Kuh<sup>1)</sup> heraus, daß auch dort das im Gras enthaltene Jod nur sehr mangelhaft ausgenützt wird und zum großen Teile in den Kot übergeht. Das legte den Gedanken nahe, daß das in den grünen Pflanzenteilen vorhandene Jod vielleicht zum Teil überhaupt in einer unresorbierbaren Form vorliege.

Die Sache wurde durch einen Selbstversuch mit Spinat geprüft. Bei im übrigen jodarmer Ernährung wurden 450 g gut zubereiteten Spinats zum Mittagessen eingenommen. Das ist eine Menge, die noch gut ohne Beschwerden bewältigt werden kann. Das Kochwasser wurde absichtlich nicht mitgenossen, da es das lösliche und somit resorbierbare Jod enthält, welches uns hier nicht interessierte. Am nächsten Tage wurde der Stuhl untersucht. Er war von vollkommen normaler Farbe und Konsistenz. Die Verdauung war hier zweifellos eine ausgezeichnete gewesen, obgleich die genossene Gemüsemenge um ein Drittel größer war, als bei dem erwähnten Versuch mit Bachkresse.

Der Jodgehalt des frischen Spinats betrug 25,6  $\gamma$ , wobei ein gewisser Anteil beim Kochen abging. Im Kot wurden 16,3  $\gamma$  Jod gefunden. Das ist zwei- bis dreimal mehr als man bei guter Verdauung sonst findet. Somit ist das im Spinat vorhandene Jod nicht vollständig resorbierbar.

Diese bei Brunnenkresse und Spinat am Menschen, bei Gras an der Kuh gefundene schlechte Resorbierbarkeit legt den Schluß nahe, daß ganz allgemein in den grünen Pflanzenteilen, also in den jodreichsten Vegetabilien, die wir im Innern der Kontinente genießen, neben resorbierbaren auch in ziemlicher Menge nicht resorbierbare Jodverbindungen vorkommen.

Dies Resultat ist von Bedeutung, weil es uns zeigt, daß wir aus dem Jodgehalt eines Nahrungsmittels noch nicht ohne weiteres schließen können, inwieweit es auch als Jodlieferant für Mensch und Tier in Betracht kommt. Erst der Stoffwechselfersuch kann darüber entscheiden.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 160, 223, 1925.



Bei der Ernährung des Milchviehes kommt noch der Umstand dazu, daß ihr Hauptfutter, das Heu, bei der Gewinnung oft verregnet wird. Welchen Einfluß dies auf den Gehalt an anorganischem und organischem Jod hat, zeigt folgender im Berner Oberland vorgenommene Versuch.

Frisch geschnittenes Gras blieb 4 bis 5 Tage bei häufigem Regenwetter im Freien. Eine kleine Probe von demselben Felde wurde bei trockenem Wetter geschnitten und unter Dach getrocknet. Man fand folgende Jodgehalte.

Tabelle VIII.

Einfluß des Verregnetwerdens beim Heu.

	Organisches Jod im kg $\gamma$	Anorganisches Jod im kg $\gamma$	In Prozenten	
			organisch	anorganisch
Heu, trocken geschnitten	402	45	89,9	10,1
Heu, verregnet . . . .	412	5	98,8	1,2

Durch den Regen ist die Hauptmenge des leicht resorbierbaren anorganischen Jods herausgeschwemmt worden, während das teilweise schlechter resorbierbare organische nicht abgenommen hat.

Daß man in den Meeresgegenden unter Umständen gewaltige Jodmengen mit pflanzlicher Nahrung zu sich nimmt, zeigte die Untersuchung zweier japanischer eßbarer Algen. Nach Angabe von Herrn Dr. *Kobori* heißen sie Nori und Kombu. Nori besteht aus dünnen, papierartig verfilzten Blättern. Sie enthielt 58 700  $\gamma$  Jod im Kilogramm. Die Alge Kombu, aus dicken, breiten Bändern bestehend, enthielt 2 640 000  $\gamma$ , wovon 2 200 000  $\gamma$  in anorganischer Form.

Hier ist natürlich an der Resorbierbarkeit des Jods nicht zu zweifeln. Es wurde schon vorgeschlagen, japanische Algen bei uns gegen Kropf als Gemüse einzuführen. Dies dürfte gerade bei der mit Kropf behafteten, an solche Jodmengen nicht gewöhnten Bevölkerung nicht un-gefährlich sein.

#### Zusammenfassung.

Es wird ein kropffreier Ort, Forte dei Marmi an der ligurischen Küste, mit einigen Kropforten in bezug auf die Jodausscheidung der Bewohner verglichen. Der Jodumsatz war in der kropffreien Gegend am höchsten.

Der normale Jodumsatz im Verlauf von 24 Stunden wird bestimmt. Beim Erwachsenen findet man in gleichen Zeiten nahezu gleich große Jodausscheidungen. Beim Kinde wurden tagsüber höhere Werte gefunden als in der Nacht. Seelische Beeinflussung (Spannung und Erwartung) vermehren beim Kinde die Jodausscheidung.

Nach Einnahme von 300 und 600  $\gamma$  Jod täglich trat beim Kinde eine Jodspeicherung auf, die ungefähr die Hälfte der Einnahme betrug. Bei einmaliger Jodgabe von 5000  $\gamma$  Jod fand man eine ähnliche Ausscheidungskurve, wie *Veil* und *Sturm* für 0,5 g KJ gefunden hatten. Das organische Jod überwiegt im Harn gegenüber dem anorganischen.

Bei Verabreichung von viel Schilddrüsenmaterial ist die Resorption eine mangelhafte. Die Ausscheidung erfolgt bald mehr in organischer, bald mehr in anorganischer Form. Am zweiten Tage überwog das anorganische Jod bei weitem.

Das Jod der grünen Pflanzenteile ist nur teilweise resorbierbar. Wird Heu verregnet, so nimmt sein anorganisches Jod stark ab, während das bei weitem überwiegende organische nicht merkbar herausgelöst wird.

---

## Versuche über die Jodspeicherung in den einzelnen Organen.

Von  
Th. von Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes, Bern.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Es ist seit langem bekannt, daß die Schilddrüse nicht das einzige Organ ist, welches Jod speichert. So hat *J. Justus*<sup>1)</sup> bereits 1903 in den meisten Organen Jod aufgefunden. Seine Zahlen sind aber derart hoch, daß es fraglich erscheint, ob sie nicht etwa durch jodhaltige Reagenzien beeinflußt worden sind.

Ich habe vor einigen Jahren<sup>2)</sup> bei zwei Süßwasserfischen gezeigt, daß das Jod im ganzen Körper verteilt ist, und daß die Schilddrüsen in jenen Fällen nur einen kleinen Teil des Gesamtjods enthielten.

Im folgenden möchte ich die Jodverteilung beim Rinde, beim Kaninchen und beim Meerschweinchen zeigen und bei letzterem Tiere über einen Versuch berichten, der nachweisen sollte, welche Organe bei experimenteller Jodfütterung Jod speichern. Sodann soll über die Jodverteilung beim Menschen nach Verabreichung großer Mengen einer organischen Jodverbindung und schließlich über den Jodgehalt von Schilddrüsen Neugeborener berichtet werden.

### 1. Jodverteilung beim Rinde und beim Kaninchen.

Die folgende Tabelle gibt den Jodgehalt einiger Organe von Rindern wieder.

Die Schilddrüse ist beim Rinde weitaus das jodreichste Organ. Bei den drei Tieren sind aber die Gehalte sehr verschieden. Milz, Muskel, Blut, Hoden enthalten unter sich ähnliche Mengen.

---

<sup>1)</sup> Virchows Arch. 170, 501; 176, 1; nach C. 1903, I, 405; 1904, I, 1281.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 139, 447, 1923.

Tabelle I.

## Jodverteilung beim Rinde.

	Dänischer Stier, geschlachtet am 20. Dez.			Dänischer Stier, 350 kg, geschlachtet am 24. März			Schweiz. Rind, 253 kg, geschlachtet am 24. März		
	Ge- wicht	Jodgehalt		Ge- wicht	Jodgehalt		Ge- wicht	Jodgehalt	
		im Organ	im kg		im Organ	im kg		im Organ	im kg
	g	γ	γ	g	γ	γ	g	γ	γ
Schilddrüse . .	20,08	47400	228000	37,9	2670	67200	55	7900	143500
Muskelfleisch .	—	—	—	—	—	89	—	—	53
Herzmuskel . .	etwa 2000	146	73	—	—	—	—	—	—
Blut . . . . .	—	—	—	15100	960	63	12900	830	64
Leber . . . . .	etwa 5000	285	57	—	—	87	—	—	46
Lunge . . . . .	etwa 4000	0	0	—	—	—	—	—	—
Milz . . . . .	etwa 1000	140	140	—	—	—	—	—	—
Nebennieren .	5,8	0	0	—	—	—	—	—	—
Fett . . . . .	—	—	—	—	—	65	—	—	59
Hoden, 1 Stück	42,3	2,4	55	—	—	—	—	—	—

Beim Muskelfleisch wurde bestimmt, wieviel Jod bei der küchenmäßigen Zubereitung in die Brühe geht und wieviel im Siedefleisch bleibt. Man wandte das Kochverfahren an, bei welchem man das Fleisch in das kalte Wasser gibt und so eine schmackhafte Brühe, dafür aber ein weniger schmackhaftes Fleisch erhält.

180 g Rindfleisch wurde in die fünffache Menge Wasser gegeben, erhitzt und 2½ Stunden lang im leichten Sieden erhalten. Das Gewicht des Fleisches ging dabei auf 110 g zurück. Man fand, auf frisches Rindfleisch berechnet:

	Jod im kg γ	Proz.
Brühe . . . . .	44	62
Fleisch . . . . .	27	38
Summe	71	—

Nahezu zwei Drittel des Jods sind somit in die Brühe gegangen und nur ein Drittel ist im Siedefleisch geblieben.

Gehen wir nun zum Kaninchen über. Es wurden zwei Tiere untersucht. Sie stammten von der Landwirtschaftlichen Versuchsstation Liebefeld, wurden beide normal gefüttert und zu einem serologischen Versuch benutzt. Das eine Tier hatte einen großen Kropf. Man fand folgende Gehaltszahlen.

Tabelle II. Jodverteilung beim Kaninchen.

	Nr. 1 mit Kropf			Nr. 2 ohne Kropf		
	Gewicht g	Jodgehalt		Gewicht g	Jodgehalt	
		im Organ γ	im kg γ		im Organ γ	im kg γ
Schilddrüse . .	6,74	48,1	7130	0,61	2,11	3400
Milz . . . . .	1,34	1,2	900	1,02	0,3	300
Hoden . . . . .	7,7	2,2	280	—	—	—
Eierstöcke . .	—	—	—	0,63	0,5	800
Leber . . . . .	77,1	28,7	370	70,0	7,2	102
Galle . . . . .	1,3	0,35	270	0,64	0,7	1100
Summe in den untersuchten Organen		80,55			10,8	

Das männliche, mit Kropf behaftete Tier, enthielt in seiner zehnfach schwereren Schilddrüse 24 mal mehr Jod als das weibliche, kropffreie Tier. Auch seine Milz und Leber sind jodreicher als beim Weibchen; hingegen überwiegt beim weiblichen Tiere der Jodgehalt, auf die Gewichtseinheit bezogen, in den Geschlechtsorganen und in der Galle.

Bei dem männlichen Tiere macht die Schilddrüse 56 Proz., beim weiblichen 19 Proz. des in den untersuchten Organen gefundenen Jods aus.

## 2. Jodretention nach Verabreichung von viel anorganischem Jod beim Meerschweinchen.

Bei früheren Versuchen über die Ernährung mit physiologischen Jodmengen beim Erwachsenen<sup>1)</sup> wurde es wahrscheinlich gemacht, daß der Organismus sein Jod mindestens in zwei Formen speichert, daß ein Teil fest zurückgehalten wird als potentielle Reserve, wie ich dies nannte, und ein anderer Teil nur lose, als aktuelle Reserve. Die aktuelle Reserve wird nach Beendigung der vermehrten Jodaufnahme ziemlich schnell wieder abgegeben, während die potentielle Reserve fester zurückgehalten wird.

Als Sitz der potentiellen Reserve wird man wohl in erster Linie die Schilddrüse ansehen, denn wir kennen sie ja als das eigentlich jodspeichernde Organ. Von der aktuellen Reserve war es ungewiß, ob sie ebenfalls in die Schilddrüse oder aber in ein oder mehrere andere Organe zu verlegen sei.

Durch die vorliegenden Versuche hoffte ich, zur Klärung dieser Frage beizutragen. Zwei Meerschweinchen erhielten 6 Tage lang mit der gewöhnlichen, aus Kleie, Hafer, Gras und Heu bestehenden Nahrung täglich 600 γ Jod in Form von K J. Das eine Tier wurde 3 Stunden nach der letzten Jodaufnahme getötet. Hier mußte die aktuelle Reserve noch weitgehend vorhanden sein. Das andere Tier tötete man 51 Stunden nach der letzten Jodgabe. Man durfte annehmen, daß in diesem Falle ein Teil der aktuellen Reserve verschwunden sei. Neben diesen beiden Tieren wurde ein gewöhnlich gefüttertes Kontrolltier untersucht.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 142, 260, 1923.

Die Tiere vertrugen die Jodgaben anscheinend gut, wie aus der normalen Gewichtszunahme zu schließen ist. Es wurden folgende Gewichte festgestellt.

Datum	Kontrolltier g	1. Versuchstier g	2. Versuchstier g
4. September, Anfangsgewicht	445	390	470
8. " . . . . .	475	410	490
10. " . . . . .	495	420	510
12. " . . . . .	515	—	530

Herr Tierarzt Dr. E. Schmid war so freundlich, die Tiere zu zerlegen.

Der Balg wurde mit kaltem Wasser gewaschen, um eventuell außen anhaftendes Jodid zu entfernen. Zur Trennung des Fleisches von den Knochen wurde beides im Autoklav erhitzt. In den Knochen bestimmte man in einem Falle organisches und anorganisches Jod getrennt. Die Knochen wurden zu dem Zwecke mit Kalilauge ausgekocht und der Rückstand nach den Methoden der Gesteinsanalyse nach der Auflösung in Salzsäure weiter verarbeitet.

Unsere Resultate sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle III. Jodgehalt von Meerschweinchenorganen nach Jodfütterung.

	1. Kontrolltier ohne Jod			2. 3 Std. nach der letzten Jodaufnahme getötet			3. 51 Std. nach der letzten Jodaufnahme getötet		
	Ge- wicht des Organs g	Jodgehalt		Ge- wicht des Organs g	Jodgehalt		Ge- wicht des Organs g	Jodgehalt	
		im Organ γ	im kg γ		im Organ γ	im kg γ		im Organ γ	im kg γ
Schilddrüse . . . . .	0,022	0,05	4500	0,036	1,50	41800	0,30	0,76	2540
Blut . . . . .	16,0	0,1	6,7	11,5	1,56	136	15,6	1,03	66
davon anorganisch . .	—	—	—	—	0,90	78	—	—	16
Speicheldrüse . . . . .	—	—	—	—	—	—	1,96	0,25	128
Großhirn . . . . .	2,72	0,5	18	2,86	0,25	870	2,64	0,1	38
Kleinhirn . . . . .	0,79	0,5	640	0,85	0,1	1180	0,82	0,05	60
Herz . . . . .	1,65	—	—	1,58	0,6	380	1,67	0,1	60
Leber . . . . .	7,01	0,95	134	17,39	1,0	58	28,45	—	—
Lunge und Trachea . .	4,12	0,05	12	4,46	14,0	3140	5,45	0,62	114
Nieren . . . . .	4,46	0,2	45	3,83	0,63	164	4,38	0	0
Nebennieren . . . . .	0,57	0,1	180	0,86	1,0	1160	0,49	0,2	410
Milz . . . . .	0,37	1,1	2950	0,35	1,9	5400	0,93	1,0	1070
Bauchspeicheldrüse . .	1,89	0,3	160	1,51	0,95	630	1,56	0	0
Euter . . . . .	3,47	0	0	0,61	0,3	490	2,15	0,62	290
Magen, leer, gewaschen.	7,88	0,35	45	6,86	0,1	15	7,5	0,44	56
Gedärme, leer, gewaschen	33,3	0,75	27	25	—	—	39,5	1,0	25
Augen . . . . .	1,39	0,3	220	1,00	0,25	250	1,43	0,25	180
Uterus . . . . .	3,89	0,6	160	2,74	1,0	366	4,84	0,1	21
Haut und Haare . . . .	77,4	0,5	7	67,5	12,2	181	78	9,72	12
Fleisch . . . . .	150	5,6	36	—	16,0	107	—	23,9	160
Knochen . . . . .	25,9	5,9	227	12,54	3,5	280	15,56	9,7	620
davon anorganisch . .	—	2,0	77	—	—	—	—	—	—
Summe		17,4			56,84			49,84	
Gesamtjod auf 1 kg ber.			33,8			134,4			94,0

In Anbetracht der Kleinheit der Organe können diese Resultate nicht eine allzu große Genauigkeit beanspruchen. Gelegentlich lagen die Reaktionen ganz an der unteren Grenze der Wahrnehmbarkeit (0,05  $\gamma$ ). Namentlich die Umrechnung auf 1 kg ist da mit der nötigen Reserve aufzufassen. Trotzdem läßt aber unsere Tabelle einige interessante Schlüsse zu.

Wenn wir die Summe des in allen untersuchten Organen gefundenen Jods auf 1 kg umrechnen, so sehen wir eine Vermehrung, die von 33,8  $\gamma$  bei dem Kontrolltier auf 134,4  $\gamma$  beim rasch geschlachteten Tiere steigt und bei dem später geschlachteten wieder auf 94  $\gamma$  sinkt. Es hat eine Vermehrung stattgefunden, die zuerst das 3,6fache macht und dann auf das 2,5fache des ursprünglichen herabsinkt. Bezogen auf das eingenommene Jod, 3600  $\gamma$ , macht der Mehrgehalt in den Organen nur wenig aus.

Wo befindet sich nun das aufgenommene Jod? Ist es in der Schilddrüse aufgespeichert? In den Schilddrüsen haben wir folgende Jodgehalte:

	Jod in der Drüse $\gamma$	Gesamtjod Proz.
1. Kontrolltier . . . . .	0,05	0,26
2. Rasch getötetes Tier .	1,50	2,6
3. Später „ „ . . . . .	0,76	1,52

Die nicht mit Jod behandelte Meerschweinchenschilddrüse enthält also nur 0,26 Proz. von dem Jod, welches im ganzen Körper vorhanden ist. Durch die Jodbehandlung wird der Gehalt allerdings auf 2,6 Proz. erhöht. Eine Speicherung findet statt, im Verhältnis zum ursprünglichen Schilddrüsenjod sogar eine sehr große; vom insgesamt gespeicherten Jod macht sie aber nur etwa 4 Proz. aus. Es sieht so aus, als ob ein wesentlicher Teil des in der Schilddrüse gespeicherten Jods innerhalb 51 Stunden wieder verschwinde. Wir wissen aber nicht sicher, ob das der Fall ist, da der Jodgehalt der Schilddrüsen ja überhaupt sehr schwankt.

Jedenfalls spielt die Schilddrüse als Jodspeicherorgan in unserem Falle nur eine kleine Rolle.

Einen erhöhten Jodgehalt beim zweiten Tiere gegenüber dem ersten sehen wir bei nahezu allen Organen. Nicht konstatieren können wir ihn bei Kleinhirn, Leber, Augen und Knochen; eine geringe Vermehrung ist erfolgt bei Blut, Milz, Euter, Uterus; stärker zugenommen hat das Jod bei Großhirn, Nieren, Nebennieren, Magen, Bauchspeicheldrüse, Fleisch, sehr stark bei Haut und Haaren und schließlich am allerstärksten bei der Lunge und Trachea. Beim Kontrolltier war der Jodgehalt hier 0,05  $\gamma$ , durch die Jodfütterung stieg er auf 14,0  $\gamma$ , also um das 280fache. Bei dem später getöteten Tiere finden wir nur noch 0,62  $\gamma$  oder den 12fachen Gehalt des ursprünglichen.

Diese starke Anreicherung in der Lunge war merkwürdig. Sie wurde bei einem anderen Tiere nachgeprüft. Diesmal erhielt das Versuchstier 5 mg KJ auf einmal. Es wurde nach  $2\frac{1}{2}$  Stunden getötet. Ich erhielt in Bestätigung des ersten Befundes 13,7  $\gamma$  in der 5,3 g schweren Lunge (diesmal ohne Trachaea).

Die Lunge reichert sich somit bei der Fütterung so stark mit Jod an, wie kein zweites Organ. Der Jodgehalt verschwindet aber sehr rasch wieder bis auf einen sehr geringen Rest, so daß nach 51 Stunden nur noch sehr wenig davon da ist.

Dies Verhalten legte den Gedanken nahe, das Jod werde vielleicht teilweise durch die Lungen ausgeschieden. Dies Organ wäre dann während der Fütterungsperiode ein Durchgangsort für Jod gewesen, und so wäre es verständlich, daß man 3 Stunden nach der letzten Fütterung noch eine starke Anreicherung darin findet. Der Ausscheidung durch die Lungen müßte dann wohl eine Oxydation zu elementarem Jod vorangehen, da gasförmige Jodverbindungen hier wohl kaum in Betracht kommen könnten.

Wenn diese Annahme zutrifft, muß man in der Ausatemungsluft Jod nachweisen können. Ich suchte diesen Nachweis durch einen Selbstversuch zu erbringen. Nach Einnahme von 5 mg KJ wurde die Ausatemungsluft 3 Stunden lang durch verdünnte Pottaschelösung geblasen und die Lösung auf Jod untersucht. Man fand darin Jod, aber nur 0,24  $\gamma$ , eine Menge, die auch sonst in 1 cbm Berner Luft vorhanden sein kann. Somit ließ sich eine Ausscheidung elementaren Jods durch die Lungen in diesem Falle nicht nachweisen. Die vorübergehende starke Speicherung in diesem Organ dürfte wohl einen anderen Grund haben.

Was sagen nun unsere Versuche über den Sitz der aktuellen und der potentiellen Jodreserve aus? Wir haben gesehen, daß der Schilddrüse beim Meerschweinchen keine Hauptrolle als Jodspeicherorgan zukommt. Die Frage, ob sie für den Jodstoffwechsel von ausschlaggebender Bedeutung sei oder nicht, wird dadurch nicht berührt, da wir hier ja nur die quantitativen Verhältnisse betrachten, ohne die Form der Bindung zu berücksichtigen. Obschon also die Thyreoidea auch beim Meerschweinchen das relativ jodreichste Organ im Körper ist, so enthält sie wegen ihrer Kleinheit längst nicht die Hauptmenge des Jods, sondern nur eine recht unbedeutende Menge. Das Jod findet sich vielmehr im normal gefütterten Tiere überall verteilt vor. Absolut am meisten enthalten die Körperteile, welche quantitativ am meisten vorherrschen, Fleisch und Knochen. Einen hohen relativen Gehalt finden wir bei der Milz. Das sind also neben der Schilddrüse auch Speicherorgane für die potentielle Jodreserve.

Als Speicherorgan für die aktuelle Reserve kommen solche Organe in Betracht, welche bei unserem Fütterungsversuch viel Jod aufgenommen haben und es, nachdem die Hauptausscheidung vorüber ist, ganz allmählich im Laufe längerer Zeit wieder abgeben. Der Balg und



das Fleisch wirken in dieser Weise, und zwar ist es wahrscheinlich, daß der Balg sein Jod mehr durch Transpiration, das Fleisch mehr mit dem Harn ausscheidet. Die Lunge enthält vorwiegend das Jod, welches den Körper innerhalb der nächsten 36 Stunden nach der Einnahme verläßt. Von einem Speicherungsorgan kann man hier wohl nicht reden, sondern eher von einem Durchgangsort.

Die Einflüsse, welche die Verteilung des Jods im Körper bedingen, dürften mannigfacher Art sein. Vielleicht spielt die Anwesenheit und Menge bestimmter Ionen in den einzelnen Organen eine gewisse Rolle. Ausschlaggebend dürfte wohl das endokrine System, vor allem die Schilddrüse sein.

### 3. Jodretention nach Verabreichung reichlicher Mengen organisch gebundenen Jods beim Menschen.

Während die soeben besprochenen Versuche anorganisches Jod betreffen, soll nun über eine Jodspeicherung beim Menschen berichtet werden, die nach Einnahme einer anorganischen Jodverbindung erfolgt ist.

Es handelt sich um einen jodhaltigen Acridinfarbstoff der Haco-Gesellschaft in Bern, Jodtrypoflavin, welcher bei Malariakranken in Rußland eine Zeitlang verwendet worden war.

Ein Patient hatte während 3 Wochen täglich acht Tabletten mit einem Gehalt von zusammen 40 mg Jod, also insgesamt 840 mg Jod in Form von Trypoflavin und außerdem nachträglich noch eine gewisse Menge Jodtinktur erhalten. Dann starb er.

Es wurden mir im April 1924 kleine, in Alkohol aufbewahrte Organstücke zur Analyse übergeben. Der Alkohol war gewechselt worden. Es handelte sich in allen Fällen um alkoholunlösliche organische Jodverbindungen, die hier bestimmt worden sind. Die Zahlen wurden auf 1 kg der betreffenden Organe bezogen. Man erhielt folgende Resultate:

Tabelle IV.

Jodgehalt von menschlichen Organen nach Verabreichung von Trypoflavin.

	Jod im kg $\gamma$		Jod im kg $\gamma$
Großhirn . . . . .	15600	Niere . . . . .	15600
Kleinhirn . . . . .	10000	Milz . . . . .	9000
Leber . . . . .	3800	Magen . . . . .	11800

Wir sehen, daß alle Organe gewaltige Jodmengen gespeichert haben, am meisten Großhirn und Niere. Diese beiden Organe hatten auch bei dem soeben beschriebenen Meerschweinchenversuch relativ sehr viel Jod aufgenommen; auch bei Kleinhirn und Milz ist die Speicherung hier wie dort eine ziemlich große, während die Leber, die beim Tierversuch nicht merkbar gespeichert hatte, hier gewissermaßen in Übereinstimmung damit an letzter Stelle steht. Etwas

verschieden verhält es sich bei den beiden Versuchen mit dem Magen. Beim Tierversuch hatte er nicht gespeichert und hier sehr stark. Bei der Verschiedenheit der eingenommenen Jodverbindungen und dem verschiedenen Gesundheitszustand der Versuchsobjekte müssen wir uns über eine so weitgehende Übereinstimmung wundern.

Das Hauptresultat dieser Untersuchung ist, daß auch hier in allen untersuchten Organen große Jodmengen abgelagert sind, und zwar in organischer Form.

#### 4. Jodgehalte von Schilddrüsen Neugeborener.

Es ist mehrfach behauptet worden, die Schilddrüsen Neugeborener seien gelegentlich jodfrei. Ich hatte Gelegenheit, einige Schilddrüsen neugeborener Berner Kinder vom Februar 1925 zu untersuchen, die ich der Freundlichkeit von Herrn Prof. *Wegelin* verdanke. Ich fand folgende Werte.

*Tabelle V.*  
Schilddrüsen Neugeborener.

Nr.	Gewicht der frischen Drüse g	Jod in der Drüse γ	Jod in 1 g frischer Drüse γ
1	1,05	0,4	0,4
2	2,31	6,3	2,7
3	3,79	7,0	1,9
4	3,70	8,8	2,4
5	6,13	11,3	1,8
6	3,44	46	13,4
7	6,50	53	8,2

Die Jodmengen sind überall gering. Sie stehen in keinem bestimmten Verhältnis zum Drüsengewicht. Bei Nr. 1 ist so wenig Jod vorhanden, daß man hier tatsächlich von einer beinahe jodfreien Drüse sprechen kann. Diese Drüse ist auch dem Gewicht nach die geringste.

Bei Nr. 4 wurde die Trockensubstanz bestimmt und 19,7 Proz. gefunden. Somit macht der Jodgehalt pro Gramm Trockensubstanz ungefähr fünfmal mehr aus als bei den frischen Drüsen.

Wenn wir das Körpergewicht des Neugeborenen zu 3 kg annehmen, so bekommen wir auf 1 kg Körpergewicht 0,13 bis 18 γ Schilddrüsenjod. Bei einem normalen Erwachsenen von 70 kg Gewicht können wir in Bern vielleicht ungefähr 3,5 mg Schilddrüsenjod annehmen. Auf 1 kg Körpergewicht würden hier also etwa 50 γ Schilddrüsenjod kommen. Diese Berechnung zeigt, daß das Jod beim neugeborenen Kinde weniger in der Schilddrüse konzentriert ist als beim Erwachsenen.

Es liegen Untersuchungen von *E. Maurer* und *St. Diez*<sup>1)</sup> über fötale Schilddrüsen aus München vor. Die genannten Autoren fanden in neun

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschr. 17, 1926.

Fällen 0,93 bis 14  $\gamma$  Jod pro Gramm frischer Drüse, im Durchschnitt 3  $\gamma$ , also ganz ähnliche Werte, wie ich bei den Neugeborenen in Bern festgestellt habe.

Der niedrige Jodgehalt der Schilddrüse braucht aber, wie unsere Versuche am Meerschweinchen zeigen, nicht unbedingt mit einem niedrigen Jodgehalt des ganzen Körpers parallel zu gehen. Im Gegenteil geben *Maurer* und *Diez* an, daß sie in anderen innersekretorischen Organen der Föten, in Milz, Hoden, Ovarien, höhere Jodgehalte gefunden hätten, als in der Schilddrüse.

#### Zusammenfassung.

Das Jod ist auf alle Organe des tierischen Körpers verteilt. Die Schilddrüse ist in der Regel das relativ jodreichste Organ. Es enthält aber trotzdem gelegentlich nur einen winzigen Bruchteil des Jods, welches im ganzen Körper vorhanden ist.

Jodfütterungsversuche beim Meerschweinchen ergaben eine Erhöhung des Jodgehalts bei den meisten Organen. In der Lunge fand sich 3 Stunden nach der letzten Jodfütterung eine sehr starke Jodanhäufung vor; 48 Stunden später war sie wieder nahezu verschwunden. Bleibender reicherten sich Haut und Haar und besonders das Fleisch mit Jod an. Sie bilden die Hauptspeicherorgane für die aktuelle Jodreserve, die ganz allmählich wieder abgegeben wird.

Organe eines nach Verabreichung von Jodtrypoflavin verstorbenen Malariakranken zeigten sehr hohe Jodgehalte. Es herrschte eine Übereinstimmung mit dem Meerschweinchenversuch in bezug auf die Reihenfolge der Jodspeicherung der Organe.

In Schilddrüsen Neugeborener wurde stets Jod gefunden, gelegentlich aber in außerordentlich kleiner Menge.

---

## Über jodiertes Kochsalz. III<sup>1)</sup>.

Von

Th. von Fellenberg.

(Aus dem Laboratorium des eidgenössischen Gesundheitsamtes, Bern.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es ist früher gezeigt worden, daß jodiertes Kochsalz nicht beständig ist, sondern einerseits direkt Jod verliert, andererseits durch Entmischung seinen Jodgehalt in den einzelnen Partien der gelagerten Menge ändert.

Den Vorgang der Jodierung können wir uns so vorstellen, daß wir das stets feuchte Salz des Handels als ein disperses System auffassen, bei welchem das Salz die disperse Phase, die Mutterlauge, welche nur wenige Prozente ausmacht, das Dispersionsmittel darstellt. Bei der Jodierung mischt sich die zugesetzte 1- bis 10proz. Jodidlösung mit dem Dispersionsmittel, wodurch beim Umschaukeln eine außerordentlich schnelle und gleichmäßige Verteilung des Jods im ganzen Salzhaufen gewährleistet wird. Das Jod befindet sich also in der Mutterlauge gelöst und umhüllt mit dieser alle einzelnen Salzkristalle.

Es bleibt aber nicht bei dieser anfangs gleichmäßigen Verteilung. Das Dispersionsmittel führt verschiedene Wanderungen aus, an welchen sich das Jodid ebenfalls beteiligt. Überläßt man einen feuchten Salzhaufen sich selbst, so setzt sich die Mutterlauge infolge ihrer Schwere allmählich etwas. Daher reichern sich die unteren Partien des Salzhaufens an Jod an, die oberen verarmen.

Ist der Versuchssalzhaufen nicht übermäßig groß und ist die Atmosphäre entsprechend wasserarm, so trocknet die oberste Salzschiebt nach einiger Zeit aus. Dabei zieht sie durch Kapillarität von den unteren Partien Feuchtigkeit nach, so daß auf einem beschränkten

---

<sup>1)</sup> Die beiden ersten Mitteilungen siehe unter: Untersuchungen über das Vorkommen von Jod in der Natur. I. Diese Zeitschr. 189, 380, 1923; Untersuchungen von jodierten Salzen. Ebendasselbst 142, 263, 1923.

Räume ein verhältnismäßig beträchtlicher Teil der Mutterlauge eindunstet. Das Resultat ist eine Anreicherung der obersten Schicht an Jod. Die mittleren Schichten verlieren nach unten und oben Jod, sie verarmen daran.

Wenn das Eintrocknen bis zu einem gewissen Punkte fortgeschritten ist, so verliert die Flüssigkeitssäule durch Dazwischentreten von Luft ihren Zusammenhang, die Kapillarwirkung hört auf, die Entmischung hat ihren Stillstand erreicht.

Neben dieser Entmischung findet ein Verlust an Jod statt. Es ist noch nicht ganz aufgeklärt, was für chemische Reaktionen ihn bedingen. Am wahrscheinlichsten dürfte folgender Vorgang sein.

Mit dem Jodid müssen auch die übrigen in der Mutterlauge gelösten Nebensalze die Kapillarwanderung mitmachen und sich mit diesem in der obersten Salzschiicht anreichern und sich an der Oberfläche der Salzkristalle ausscheiden. Die Salze schwacher Basen werden aber leicht hydrolysiert. Es mag sein, daß die Hydrolyse durch die große Oberfläche begünstigt wird, daß z. B. Magnesiumchlorid in Magnesiumhydroxyd und Salzsäure zerfällt. Die Salzsäure setzt sich dann teilweise mit dem HJ um, welche letztere als solche oder nach Oxydation zu freiem Jod entweicht.

Die Entmischung bei kleinen Salzhaufen wurde bereits früher gezeigt. Hier möchte ich einige Versuche bringen, welche ich gemeinsam mit Herrn Dr. *Paltzer*, Direktor der Vereinigten Schweizerischen Rheinsalinen, unternommen habe, um die Entmischung in Säcken sowohl, wie in den großen Haufen der Saline, den Silos, festzustellen. Die Salze wurden in der Saline Ryburg im Siedeverfahren gewonnen, dort jodiert und gelagert. Die Versuche wurden in der zweiten Hälfte des Jahres 1923 durchgeführt.

Zuerst bringen wir einige Zahlen, die beim Lagern jodierten Salzes in großen Haufen in verschiedenen Schichten erhalten worden sind. Die beabsichtigte Jodierung war 5 mg im Kilogramm. Man fand in drei Silos folgende Gehalte:

Lagerzeit	1 Monat mg im kg	1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub> Monat mg im kg	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Monat mg im kg
Oben . . .	4,6	3,8	3,7
Mitte . . .	4,8	4,9	4,5
Unten . . .	6,0	7,1	9,9

Man findet, wie erwartet, nach oben eine Abnahme, nach unten eine Steigerung des Jodgehalts, und zwar nimmt die Entmischung bei längerem Lagern zu.

Folgende Abbildung veranschaulicht diese Entmischung.

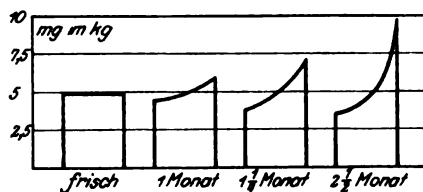


Abb. 1.

Dieser Versuch entspricht natürlich durchaus nicht den Verhältnissen der Praxis. Man nimmt im Salinenbetrieb die Silos von der Seite her in Angriff. Beim Abfüllen rutscht das Salz der oberen Schichten beständig über die unteren herab, so daß im ganzen eine mehr oder weniger gründliche Mischung des ganzen Querschnitts erfolgt und die Entmischung einigermaßen wieder ausgleicht.

Aus dem ersten dieser drei Silos wurden Proben aus verschiedener Höhe in Säcke abgefüllt. Die Säcke wurden im Salzmagazin aufgestellt und nach 1, 2 und 3 Wochen in verschiedenen Schichten untersucht.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die erzielten Resultate.

Tabelle I.

Salzproben aus einem Silo in verschiedener Höhe entnommen und in Säcken gelagert.

Lage im Silo	Lage im Sack	Nach 1 Woche		Nach 2 Wochen		Nach 3 Wochen	
		mg KJ im kg	Durchschnitt	mg KJ im kg	Durchschnitt	mg KJ im kg	Durchschnitt
Oben	Oben	4,8	4,9	4,9	4,9	3,9	4,3
	Halbe Höhe, Mitte	4,9		5,2		4,0	
	Halbe Höhe, Sackrand	—		5,1		4,5	
	Unten, Mitte	5,1		4,9		4,5	
	Unten, Sackrand	—		4,8		4,5	
Mitte	Oben	4,7	4,8	5,1	5,0	3,4	4,6
	Halbe Höhe, Mitte	4,9		4,9		4,6	
	Halbe Höhe, Sackrand	—		4,9		3,9	
	Unten, Mitte	4,9		4,9		5,1	
	Unten, Sackrand	—		5,5		5,0	
Unten	Oben	4,4	4,6	6,3	6,3	5,6	5,6
	Halbe Höhe, Mitte	4,6		6,3		5,1	
	Halbe Höhe, Sackrand	—		6,3		5,5	
	Unten, Mitte	4,8		6,6		6,0	
	Unten, Sackrand	—		6,2		5,9	

Die Durchschnittsproben nehmen nach 2 bis 3 Wochen Lagerzeit im Sack nach unten etwas zu. Nach einer Woche Lagerzeit haben wir jedoch in der untersten Schicht nicht den erwarteten höchsten Wert, sondern sogar einen etwas niedrigeren als in der Mitte und oben. Das

muß mit irgend einer Zufälligkeit, vielleicht mit einem Irrtum beim Abfüllen des Sackes zusammenhängen.

Eine starke Entmischung ist nirgends feststellbar, immerhin finden wir im allgemeinen eine schwache Erhöhung des Jodgehalts in den untersten Schichten, und zwar bald mehr in der Mitte des Sackbodens, bald mehr am Rande.

Bedeutender könnte die Entmischung in den Säcken sein, wenn die Säcke nicht in großer Anzahl in einem Salzmagazin gelagert worden wären, wo ein Austrocknen ja nicht stattfinden kann, sondern einzeln in beliebigen, großen Räumen.

Zur Zeit dieser Versuche wurde die Jodierung in einer Schüttelrinne vorgenommen, über welcher die Jodidlösung versprüht wurde. Man fand bei beliebigen, direkt aus der Schüttelrinne kommenden Salzproben folgende Jodgehalte in Milligrammen pro Kilogramm: 4,5, 5,3, 4,9, 4,6, 6,4, 5,0, 5,1 4,4, 4,9.

Der niedrigste Gehalt bei diesen zehn Proben beträgt 4,4, der höchste 6,4, der Mittelwert 5,0 mg.

Es ist klar, daß sich der Gehalt des frisch jodierten Salzes nach kurzer Zeit einigermaßen ausgleicht; gleichzeitig fängt aber die Entmischung durch stärkeres Niedersinken der Mutterlauge an. Die Versuche lehren uns also, daß das zu jodierende Salz nicht zu feucht sein soll und daß es nicht länger als unbedingt notwendig gelagert werden darf.

Es sollte nun nachgeprüft werden, wie sich die Jodabnahme in einer Salzbütte gestaltet. Der Versuch wurde Ende 1923 und Anfang 1924 am eidgenössischen Gesundheitsamt vorgenommen. Die Analysen führte Herr *H. Dumartheray* aus.

400 kg jodiertes Siedesalz der Rheinsalinen wurden in eine alte, viele Jahre lang in einem Spezereigeschäft benutzte Salzbütte gebracht. Sie wurde dadurch gerade bis zum Rande gefüllt. Die Bütte stand in einem wenig benutzten, nach Süden gerichteten Raume von 250 cbm Inhalt. Der Jodgehalt in den vier Säcken wurde gefunden zu 5,05, 5,08, 5,21 und 5,04 mg KJ im Kilogramm.

Mit Ausnahme der Sonntage und der Weihnachtsfeiertage wurden nahezu täglich 5 kg Salz aus der Bütte entnommen. Man bestimmte darin den Jodgehalt und den Wassergehalt. Außerdem wurde die Temperatur und die Feuchtigkeit des Raumes festgestellt.

Bei der Salzentnahme verfuhr man so, daß man die Oberfläche der Bütte in 16 Felder einteilte und jeden Tag ein Feld bis zu der Tiefe aushob, die nötig war, um die 5 kg Salz zu erhalten. Nach Entnahme der obersten Schicht ging man zur nächsten über usf.

Dieses Vorgehen war bei einem wissenschaftlichen Versuch geboten. Es entspricht aber wieder nicht der Praxis, indem hier aus der Mitte geschöpft wird, und zwar gleich in die Tiefe, so daß durch das Nachrutschen der Ränder wiederum fortdauernd eine Mischung erfolgt.

Die folgende Tabelle und die Kurventafel enthalten die gewonnenen Resultate.

Tabelle II. Jodgehalte von nach und nach aus einer Salzbutte entnommenen Salzproben.

Nr.	Datum	Luft-	Luft-	Wasser-	mg KJ im kg Salz	
		temperatur °C	feuchtigkeit Proz.	gehalt des Salzes Proz.		
1	20. XII. 23	13,5	57	5,36	5,1	Anfangsgehalt
2	21. XII.	14,0	59	4,97	5,2	
3	22. XII.	13,5	59	4,40	5,3	
	23. XII.	—	—	—	—	
4	24. XII.	12,0	67	3,76	5,8	
5	26. XII.	12,5	67	3,90	5,4	
6	27. XII.	14,0	70	4,13	5,5	
7	28. XII.	14,5	71	4,43	5,5	
8	29. XII.	14,0	68	3,94	5,7	
	30. XII. 23 bis 2. I. 24	—	—	—	—	
9	3. I.	14,5	68	3,56	5,6	
10	4. I.	14,5	66	3,67	5,4	
11	5. I.	14,5	65	3,54	5,4	
	6. I.	—	—	—	—	
12	7. I.	14,5	59	—	5,0	
13	8. I.	14,5	58	3,28	5,0	
14	9. I.	15,0	60	3,42	5,5	
15	10. I.	14,5	61	3,31	5,2	
16	11. I.	14,5	61	3,13	—	
17	12. I.	14,5	62	3,28	5,4	
	13. I.	—	—	—	—	
18	14. I.	14,5	57	3,19	—	
19	15. I.	13,5	57	3,74	5,2	
20	16. I.	14,5	56	3,62	—	
	17. I.	—	—	—	—	
21	18. I.	14,5	60	3,00	—	
	19.-20. I.	—	—	—	—	
22	21. I.	15,5	63	3,30	3,6	
23	22. I.	16,5	62	2,96	3,6	
24	23. I.	16,5	63	2,99	3,5	
25	24. I.	15,5	59	3,01	3,5	
26	25. I.	15,5	59	2,67	3,7	
27	26. I.	15,5	60	2,95	4,1	
	27. I.	—	—	—	—	
28	28. I.	15,0	59	3,21	3,8	
29	29. I.	15,0	60	3,43	3,8	
	30. I.	—	—	—	—	
30	31. I.	15,5	53	2,71	3,5	
31	1. II.	15,5	54	2,98	3,4	
32	2. II.	15,0	53	2,65	3,6	
	3. II.	—	—	—	—	
33	4. II.	15,0	57	2,67	3,7	
	5. II.	15,5	58	3,01	3,6	
34	6. II.	15,0	60	2,98	3,7	
35	7. II.	15,5	62	3,47	3,8	
36	8. II.	15,0	62	3,67	3,8	
37						Dritte Schicht



Tabelle II (Fortsetzung).

Nr.	Datum	Luft-	Luft-	Wasser-	mg K J im kg Salz	
		temperatur ° C	feuchtigkeit Proz.	gehalt des Salzes Proz.		
	9.-10. II. 24	—	—	—	—	
38	11. II.	15,0	63	3,46	3,7	Dritte Schicht
39	12. II.	15,0	62	3,55	3,9	
40	13. II.	15,5	62	3,01	3,7	
41	14. II.	15,0	58	3,22	3,5	
42	15. II.	15,0	56	2,98	3,5	
43	16. II.	14,5	56	3,39	3,6	
	17.-18. II.	—	—	—	—	
44	19. II.	14,0	56	3,08	3,5	
45	20. II.	15,0	54	3,14	3,4	
46	21. II.	16,5	52	3,41	3,5	
47	22. II.	17,0	50	3,44	3,5	
48	23. II.	15,5	55	2,99	3,8	
	24. II.	—	—	—	—	
49	25. II.	16,0	54	3,33	3,8	
50	26. II.	16,0	54	3,33	3,7	
51	27. II.	15,0	53	3,17	3,7	
52	28. II.	15,5	53	3,30	3,8	
53	29. II.	16,0	54	2,94	4,2	
	1.-2. III.	—	—	—	—	
54	3. III.	17,5	55	3,23	4,2	Vierte Schicht
55	4. III.	16,0	53	3,63	4,1	
56	5. III.	16,5	56	3,74	4,4	
57	6. III.	16,5	58	3,11	4,5	
	7. III.	—	—	—	—	
58	8. III.	16,0	55	3,01	4,5	
	9. III.	—	—	—	—	
59	10. III.	16,5	52	2,95	4,3	
60	11. III.	16,5	55	2,92	4,2	
61	12. III.	16,0	53	3,16	4,3	
62	13. III.	16,0	55	3,23	4,4	
63	14. III.	16,0	54	3,69	4,4	
64	15. III.	15,5	52	3,20	4,2	
	16. III.	—	—	—	—	
65	17. III.	16,0	54	3,42	4,5	
66	18. III.	16,0	54	3,39	4,4	
67	19. III.	16,0	53	3,42	4,3	
68	20. III.	16,0	54	3,60	4,5	
69	21. III.	17,0	53	3,70	4,7	
70	22. III.	16,0	55	3,90	4,8	

Unsere Jodkurve zeigt ziemlich Unregelmäßigkeiten. Ihr Hauptverlauf läßt sich aber gut erklären. In den ersten Tagen steigt sie etwas an und bleibt einige Zeit ungefähr auf der Höhe von 5,4 mg. Der Anstieg rührt vom Austrocknen der obersten Schicht und Nachsaugen von jodhaltiger Mutterlauge her. Sobald die erste Schicht abgehoben ist, sinkt der Gehalt plötzlich auf 3,5 bis 4 mg und bleibt lange Zeit un-

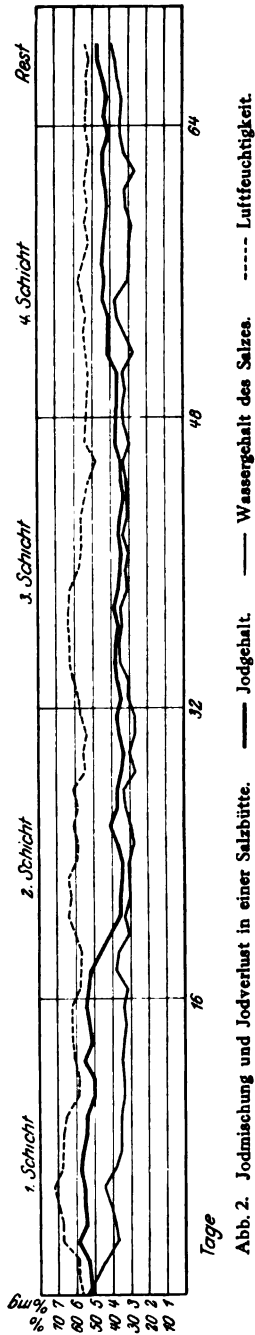


Abb. 2. Jodmischung und Jodverlust in einer Salzblüte.

gefähr auf dieser Höhe. Außer der ersten Probe zeigen die ganze zweite und dritte Schicht ungefähr diesen Gehalt. Bei der untersten Schicht sehen wir wieder ein Ansteigen auf ungefähr 4 bis 4,5 mg. Der Rest, der nur noch fünf Salzentnahmen gestattete, steigt noch weiter an. Der Durchschnitt der einzelnen Schichten ist: erste Schicht = 5,39, zweite Schicht = 3,77, dritte Schicht = 3,64, vierte Schicht = 4,20, Rest 4,54 mg.

Wir sehen also ganz ähnlich, wie bei den Versuchen in kleinen Töpfen früher gezeigt worden ist, nach oben und nach unten eine Zunahme — nach unten allerdings hier nur eine relative —, in der Mitte eine Verminderung an Jod.

Man hätte einen anderen Verlauf der Kurve erwarten können. Da die oberste Schicht viel Jod nachgesaugt hat, so hätte nach deren Entfernung die zweite Schicht, die nun die oberste war, sich in gleicher Weise auf Kosten der dritten, die dritte nach Abheben der zweiten auf Kosten der untersten anreichern müssen, falls die Kapillarwirkung ununterbrochen fortgedauert hätte. Dies ist aber nicht eingetreten. Zur Entfaltung der Kapillarwirkung ist es notwendig, daß eine zusammenhängende Wassersäule nach oben reicht. Eine solche war beim ursprünglichen Wassergehalt von etwas über 5 Proz. vorhanden. Bald ist sie aber durch dazwischentretende Luftbläschen unterbrochen worden und die Saugwirkung hörte auf. Die Kapillarwirkung konnte sich daher nur in der obersten Schicht geltend machen.

Der Wassergehalt des Salzes sinkt in den ersten Tagen ziemlich stark; dann bewegt sich die Kurve zickzackförmig auf und ab, und zwar folgt sie einigermaßen der Luftfeuchtigkeitskurve. Es scheint sogar eine leichte Beziehung zwischen dem Jodgehalt einerseits, dem Wassergehalt des Salzes und der Luftfeuchtigkeit andererseits zu bestehen. Ein Steigen und Fallen der Jodkurve an einzelnen

Abschnitten deckt sich öfters mit einer gleichsinnigen Richtungsänderung der beiden anderen Kurven. Das wäre so zu erklären, daß an feuchten Tagen, bei erhöhtem Wassergehalt des Salzes, wieder etwas Jod nach oben steigt.

Die Temperaturkurve haben wir nicht eingezeichnet, da sie keine deutlichen Beziehungen zu den anderen Kurven erkennen läßt und somit weiter kein Interesse bietet.

Das Mittel aus unseren 66 Bestimmungen ergibt 4,29 mg KJ im Kilogramm, während der Anfangsgehalt 5,10 Proz. gewesen war. Somit macht der Jodverlust während der 3 Monate dauernden Versuchsperiode 0,71 mg im Kilogramm oder 14 Proz. aus.

Das Jod muß in die Luft entwichen sein. Von dem Holz der Salzbutte ist es kaum aufgenommen worden; denn dieses war durch jahrelangen Gebrauch schon so vollständig mit Salz imprägniert, daß es nicht mehr imstande war, bei diesem Versuch noch etwas von der Mutterlauge aufzunehmen. Dieser einigermaßen an die Verhältnisse der Praxis sich anlehende Versuch zeigt uns viel deutlicher als die früheren Versuche im kleinen, wie groß der Verlust durch Entweichen von Jod in die Luft bei unserem Rheinfeldener Salz etwa zu bewerten ist.

Man suchte sich nun noch direkt über den derzeitigen Stand der Salzjodierung in der Stadt Bern Rechenschaft zu geben durch Untersuchung einiger jodierter Konsumsalze.

Man verlangte in 13 Geschäften der Stadt Bern offenes jodiertes Salz. In fünf dieser Geschäfte war das Salz nur in  $\frac{1}{2}$ -kg-Packung vorrätig. Die Ladeninhaber erklärten übereinstimmend, daß ihre Kundschaft sehr wenig jodiertes Salz mehr verlange, viel weniger, als früher. In einem Falle wurde bemerkt, daß der Konsum auf einen warnenden Zeitungsartikel hin mit einem Schlage aufgehört habe, so daß der offene Verkauf zwecklos geworden sei. Dies ist sehr zu bedauern.

Von den acht Geschäften, welche das jodierte Salz offen hielten, waren zwei Privatgeschäfte, vier waren Filialen ein und desselben ausgedehnten Lebensmittelgeschäftes und zwei Filialen des Konsumvereins. Nur in den Filialen des Konsumvereins und in einer in einem bescheideneren Quartier gelegenen Filiale des Lebensmittelgeschäftes wurde ein ziemlich guter Verkauf des jodierten Salzes hervorgehoben. Sonst wurde überall angegeben, daß 100 kg des Salzes für einen bis mehrere Monate ausreichen.

Es scheint demnach, daß es in Bern beinahe nur die weniger bemittelte Bevölkerung ist, welche dies Salz verbraucht; möglicherweise hängt dies damit zusammen, daß jener alarmierende Artikel nicht in ihre Presse vordringen ist.

Die folgende Tabelle gibt den Jodgehalt der untersuchten Salze wieder.



## Die Bestimmung der Lipase in keimenden Kiefern Samen<sup>1)</sup>.

Von

H. W. Nicolai.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin, Charité.)

(Eingegangen am 19. Mai 1926.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Die Keimung des Samens ist neben den morphologischen Veränderungen, die dabei in Erscheinung treten, von einer großen Zahl von chemischen Vorgängen begleitet, die für jene überhaupt erst die Voraussetzung sind. Die in den Keimblättern gespeicherten Reservestoffe werden mobilisiert, indem sie in möglichst kleine und möglichst wasserlösliche Moleküle aufgespalten und dann zu den Orten stärksten Wachstums durch die Gefäße transportiert werden. Das auslösende Moment für diese Spaltungen sind Fermente aus der Gruppe der Hydro-lasen, die offenbar aus einem inaktiven Zustand während der Ruhe in eine aktive Form übergehen, sobald bestimmte Vegetationsbedingungen, wie Licht, Feuchtigkeit und Wärme, in genügendem Maße vorhanden sind. Diese Fermente, die in der Hauptsache Eiweißkörper, Fette und Kohlehydrate hydrolysieren, sind begleitet von Atmungsfermenten, wie z. B. der Katalase, die indessen mehr in den Wachstumszonen und den embryonalen Geweben eine Rolle spielen, wo die Spaltungen gegenüber den synthetischen Prozessen, wie z. B. der Kohlehydratsynthese der chlorophyllhaltigen Gewebe während der Belichtung, zurücktreten. Über die Bestimmung des Katalaseferments sind bereits eine Reihe von Arbeiten mitgeteilt<sup>2)</sup>. Die folgenden Untersuchungen wurden zum Zwecke der Ermittlung der Samenlipase angestellt.

### Methodik.

Als Versuchsmaterial wurden Kiefern Samen verwandt, die in beliebiger Menge zur Verfügung standen und auf ihre Keimfähigkeit untersucht waren.

---

<sup>1)</sup> Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft und der Rockefellerstiftung angefertigt.

<sup>2)</sup> *Oparin; Gračanin*, diese Zeitschr. 168, 429; *Schmidt*, Forstarchiv 1926.

Indessen eignet sich auch jeder andere ölhaltige Same für diese Zwecke. Die Samen wurden ungekeimt und an verschiedenen Tagen der Keimung verwandt, um eventuelle Änderungen des Lipasegehalts feststellen zu können. Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß ohne besonders zu diesem Zwecke hergerichtete Apparate die Keimung in ihrer Geschwindigkeit großen Schwankungen unterworfen ist. Um diese auszuschalten und ein stets gleichmäßig vorbereitetes Material zu haben, wurden die Samen unter den Eberswalder Keimbedingungen zur Keimung gebracht<sup>1)</sup>.

Eine abgewogene Menge Samen, gewöhnlich 0,2 g, wurden sodann im Achatmörser mit ausgeglühtem Seesand kräftig verrieben, bis keine strukturierten Teile mehr zu erkennen waren. Die Bestimmung der Lipase in diesem Material wurde mit der *Warburg*schen Apparatur nach der von *Rona* und *Lasnitzi*<sup>2)</sup> angegebenen Methode vorgenommen, bei der durch die Aufspaltung von Fetten in Glycerin und Fettsäuren aus einem Bicarbonatpuffer CO<sub>2</sub> frei gemacht und manometrisch bestimmt wird.

Um bei diesen Untersuchungen im optimalen  $p_H$ -Bereich zu bleiben, mußte zunächst festgestellt werden, welche  $h$  der Preßsaft der Kiefern Samen hat. Es läßt sich leicht zeigen, daß bei einer Probe auf Lackmus eine Rötung, auf Methylorange eine gelbe Färbung eintritt. Bei Methylrot gelingt es weder, den roten Farbstoff in Gelb, noch den gelben Farbstoff in Rot umzuwandeln; der  $p_H$  liegt also in der Nähe von 6,0. Sättigt man eine Ringerlösung, die auf 100 Teile ein Teil 1,52proz. Bicarbonatlösung enthält, mit einer 5proz. CO<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>, so hat diese Flüssigkeit den  $p_H$  6,3, ist also von der Wasserstoffzahl des Versuchsmaterials nur wenig entfernt.

Die bei der Keimung durch Hydrolyse entstehenden freien Fettsäuren verändern diese Zahl. Indessen kann man annehmen, daß das Milieu, in dem die Fermentkatalysen sich abspielen, nämlich der Reservestoffträger, seine Acidität nicht verändert. Schneidet und färbt man nämlich Embryo und Endosperm in verschiedenen Stadien der Keimung, so zeigt es sich, daß die Fettsäuren sofort nach der Esterspaltung durch die Gefäßbündel hindurch fortgeleitet werden in Richtung der embryonal wachsenden Gewebe, um dort vermutlich verbrannt zu werden oder sich an der Synthese der Substanz junger Zellen zu beteiligen. Es ist daher kein Versuchsfehler, die Lipasebestimmung auch an späteren Keimtagen, an denen eine  $p_H$ -Veränderung bei der Gesamtpflanze eingetreten ist, unter den Bedingungen vorzunehmen, wie man sie am Beginn der Keimung antrifft. Die beobachteten CO<sub>2</sub>-Mengen wurden auf 1 g Substanz und 1 Stunde bezogen. Da der Wassergehalt während der Keimung ständigen Veränderungen unterworfen ist, definieren wir als Einheit der Substanz das Trockengewicht, das nach sechstägigem Trocknen des fein zermahlenden Materials im evakuierten Exsikkator über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> zurückbleibt. Diese Einheit ist nur eine willkürliche, da der Bestand an Trockensubstanz infolge des Verbrauchs an Reservestoffen während der ersten Tage abnimmt.

Auch eine Relation auf den N-Gehalt bietet gegenüber diesem Verfahren nicht den Vorteil einer wesentlich höheren Genauigkeit, wie ich mich an einigen Proben überzeugen konnte.

<sup>1)</sup> Vgl. auch *Schwappach*, Zeitschr. f. Forst- und Jagdwesen 1915, S. 631. Für die Vorbereitung des Samenguts und manche Anregung bei dieser Arbeit bin ich Herrn Professor Dr. *Schmidt*, Eberswalde, zu großem Dank verpflichtet.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. 152, 504, 1924.

Für die Berechnung der Gefäßkonstanten ist es wichtig, zu wissen, daß der Seesand im Durchschnitt ein Volumengewicht von 2,5, der zerriebene Same ein solches von 1,11 bis 1,13 hat. Die Volumina wurden bei der Ermittlung von  $v_G$  in Rechnung gesetzt, bei der Bestimmung von  $v_F$  vernachlässigt, da eine Absorption von Gasen in den festen Materialien nicht eintritt.

Beispiel:

0,2 g Samen . . . . .	Vol. 0,178 ccm
0,37 g Seesand . . . . .	„ 0,15 „
1,15 ccm Ringerlösung . . . . .	„ 1,15 „
0,05 ccm Monobutyryn . . . . .	„ 0,05 „
	<hr/>
	$v_F$ 1,528 ccm
Hiervon absorptionsfähig . . . . .	1,2 „

Bei einem Gefäßvolumen von 6,682 ccm und einer Versuchstemperatur von 37° C ergibt sich also die Konstante:

$$K_{CO_2} = \frac{1,2 \cdot 0,56 + 5,154 \cdot 0,88}{10} = 0,521.$$

#### Experimenteller Teil.

Verreibt man Kiefern Samen mit Seesand und emulgiert das erhaltene Pulver in einer Ringerlösung, die Bicarbonat enthält, so ergibt sich bei der Untersuchung im Barcroftapparat einer Druckzunahme, die mit abnehmender Geschwindigkeit über 30 Minuten zu verfolgen ist. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Monobutyryn bleibt die Gasbildung nahezu konstant. (Tabelle I und Abb. 1). Läßt man das Samenpulver auf Glykose einwirken, so unterscheidet sich der Druckablauf nicht von einem Leerversuch

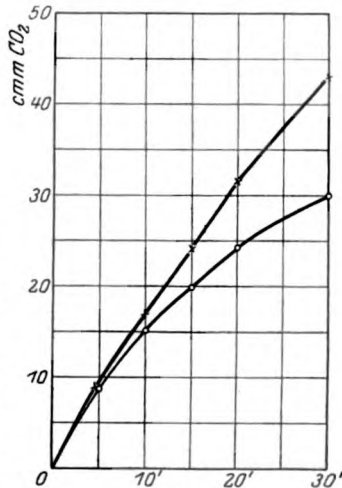


Abb. 1.

Tabelle I.

0,2 g Samen, mit Seesand verrieben, in R (10) bei 37° C.

	Ohne Monobutyryn		Mit Monobutyryn			Ohne Monobutyryn		Mit Monobutyryn	
	mm	cm	mm	cm		mm	cm	mm	cm
5'	17,0	8,7	17,5	8,8	20'	47,0	24,2	63,0	31,5
10	29,5	15,2	34,0	17,0	30	58,5	30,0	85,0	43,0
15	38,5	19,8	48,0	24,2	$K_{CO_2}$	0,514		0,502	

Tabelle II.

0,2 g Samen, mit Seesand verrieben, in R (10) bei 37° C.

Gefäß:	Ohne Glykose 25		3 prom. Glykose 26		3 prom. Glykose 27	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
3'	28,0	14,9	34,0	17,3	25,0	12,4
6	38,5	20,5	46,0	23,5	35,0	17,4
10	46,5	25,0	53,0	27,0	40,5	20,0
15	52,5	28,0	58,5	29,5	45,5	22,5
24	58,5	31,0	64,5	33,0	52,0	26,0
30	64,0	34,0	69,0	35,0	56,0	28,0
45	69,0	37,0	74,5	38,0	62,0	31,0
v	6,872		6,589		6,457	
KCO <sub>2</sub>	0,533		0,509		0,497	

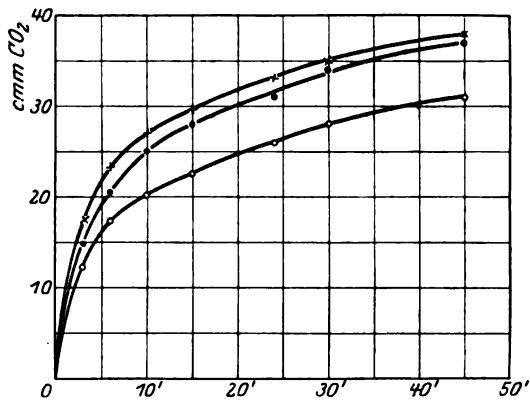


Abb. 2. × 26. ● 25. ○ 26.

(Abb. 2 und Tabelle II). Da die Versuche bei Abwesenheit von Sauerstoff ausgeführt und die Zellen durch energisches Verreiben vollständig zerstört wurden, lassen die beobachteten CO<sub>2</sub>-Mengen eine Deutung nur nach zwei Richtungen zu: es wurde entweder durch Pflanzensäure Kohlensäure ausgetrieben, wobei mit zunehmender Annäherung an die neutrale Reaktion die Geschwindigkeit nach Art einer monomolekularen Reaktion abnimmt — in diesem Sinne ist namentlich der Anfangsteil der Kurven zu deuten —, oder es fand eine fermentative Spaltung des hinzugefügten Substrats statt, hierfür spricht der mehr geradlinige Verlauf des Monobutyrynversuchs. Von Interesse ist in diesem Zusammenhang schließlich, daß beim Vergleich ungekeimte Samen und solche von 3 Tagen Keimung hinsichtlich ihres Säuregehalts sich wesentlich unterscheiden, wobei die Anwesenheit oder das Fehlen von Glykose keine Rolle spielt. Tabelle III enthält



vier typische Versuchsprotokolle und Abb. 3 zwei Kurvenscharen, die bei häufigen Versuchen ermittelt wurden. Normalerweise kann in einem keimenden Samen ein glykolytisches Ferment nicht erwartet werden, da der Abbau der Kohlehydrate nicht weiter als bis höchstens zur Glykose geht.

Tabelle III.

Ungekeimter und 3 Tage gekeimter Samen mit und ohne Glykose in R (10) bei 25° C.

Gefäß:	0 Tage ohne Glykose 21		0 Tage 3 prom. Glykose 24		3 Tage ohne Glykose 27		3 Tage 3 prom. Glykose 26	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	3,0	1,9	2,0	1,3	6,0	3,2	7,0	3,9
10	4,5	2,8	5,5	3,5	11,5	6,2	14,0	7,7
15	6,0	3,7	6,0	3,8	14,0	7,5	20,0	11,0
20	6,5	4,0	7,5	4,8	17,5	9,5	22,0	12,1
30	7,0	4,3	9,0	5,8	22,0	11,9	26,0	14,3
45	9,0	5,5	10,0	4,6	29,0	15,7	31,0	17,0
<i>v</i>	7,290		7,626		6,457		6,589	
KCO <sub>2</sub>	0,615		0,641		0,539		0,551	

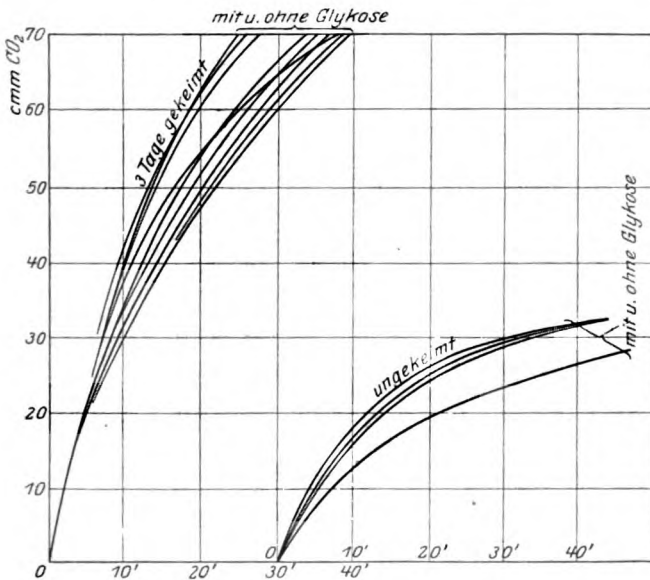


Abb. 3.

Zur Klärung der Frage, inwieweit diese orientierenden Versuche im Sinne einer Fermentspaltung oder einer Neutralisation autochthoner Säuren gedeutet werden müssen, wurde bei den weiteren Untersuchungen das Samenpulver erst 1 bis 2 Stunden lang unter häufigem Umschütteln mit dem Bicarbonat der Ringerlösung neutralisiert und dann zu einigen Gefäßen

Tabelle IV.

Monobutyrynsplaltung durch Samenlipase in R (10) bei 25° C. Gefäß 23 als Kontrolle ohne Substrat.

Gefäß:	23		24		25	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	-1,5	-0,9	2,5	1,6	2,5	1,5
10	-0,5	-0,3	6,0	3,8	5,0	2,9
15	0	0	10,5	6,7	11,0	6,3
20	0,5	0,3	15,0	9,6	14,5	8,3
30	0,5	0,3	21,0	13,4	21,0	12,1
45	1,0	0,6	27,0	17,3	27,5	15,8
v	7,059		7,626		6,872	
KCO <sub>2</sub>	0,594		0,641		0,576	

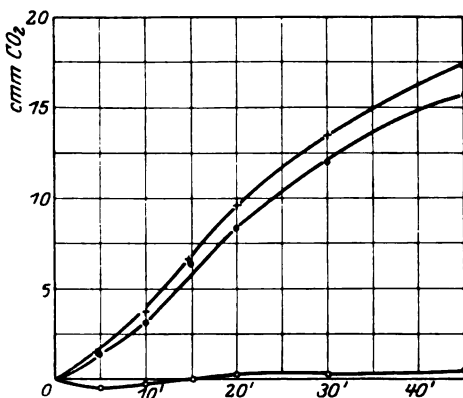


Abb. 4. × 24. • 25. ○ 23.

0,05 ccm Monobutyryrin hinzugefügt und in 5proz. CO<sub>2</sub> in N<sub>2</sub> der Druckablauf beobachtet. Das Ergebnis zeigt Tabelle IV und Abb. 4; bei dem Gefäß ohne Substrat wird praktisch keine CO<sub>2</sub> mehr frei, in den anderen Gefäßen dagegen sind fast geradlinig ansteigende Druckzunahmen zu beobachten, die ausschließlich auf eine Lipolyse zurückzuführen sind. Es ergibt sich damit eine Methode, die Lipase quantitativ zu bestimmen. Die Wiederholung mit Glykose ergibt nach dieser Methode ein einwandfrei negatives Ergebnis (Tabelle V), das die Anwesenheit eines glykolytischen Ferments mit Sicherheit ausschließt.

Tabelle V.

Untersuchung auf glykolytisches Ferment in R (10) bei 25° C.

Gefäß:	3 prom. Glykose		Ohne Glykose		Gefäß:	3 prom. Glykose		Ohne Glykose	
	23		25			23		25	
	mm	cmm	mm	cmm		mm	cmm	mm	cmm
5'	1,0	0,6	1,0	0,6	30'	6,5	4,0	7,0	4,2
10	2,0	1,2	2,5	1,5	v	7,059		6,872	
15	3,0	1,8	3,5	2,1	KCO <sub>2</sub>	0,624		0,606	
20	4,0	2,5	4,5	2,7					

Ob eine Maltase bei der Keimung der Kiefern Samen auftritt, läßt sich direkt gasvolumetrisch nicht ermitteln, wohl aber indirekt, wenn wir uns der Eigentümlichkeit einiger Kolistämme bedienen, die Maltose nicht aufspalten können, wohl aber die aus der Maltose durch Maltase aufgespaltene Glykose<sup>1)</sup>. In ähnlicher Art, wie ich gemeinsam mit *P. Rona* eine Saccharasebestimmung angab, ging ich auch bei den Kiefern Samen vor. Von dem Versuchsmaterial wurden 2,0 g fein zermahlen und 1 Stunde im Schüttelapparat mit 10,0 ccm Ringerlösung geschüttelt, das ganze filtriert und 1 ccm des Filtrats der anaeroben Spaltung durch 0,5 ccm einer Suspension von *Bacterium coli* überlassen. Als Kontrolle wurden 1,0 ccm einer 3prom. Maltoselösung und 0,5 ccm Bakterien angesetzt. Es ergibt sich (Tabelle VI, Abb. 5), daß Koli in der Maltoselösung keine Kohlensäure

Tabelle VI.

Untersuchung auf Maltase in 1,0 Filtrat durch 0,5 Bact. coli. Gefäß 24 dient als Kontrolle.

Gefäß:	1,0 Filtrat, 0,5 Bact. 21		1,0 Filtrat, 0,5 Bact. 23		3prom. Maltase 24	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	4,5	2,9	2,5	1,6	0	0
10	19,5	12,6	16,5	10,4	4,5	3,0
15	33,0	21,0	32,0	20,0	6,0	4,0
20	39,0	25,0	38,0	24,0	6,5	4,4
30	43,0	28,0	41,5	26,0	7,5	5,1
45	48,0	31,0	46,0	28,0	9,0	6,1
<i>v</i>	7,290		7,059		7,626	
KCO <sub>2</sub>	0,644		0,624		0,675	

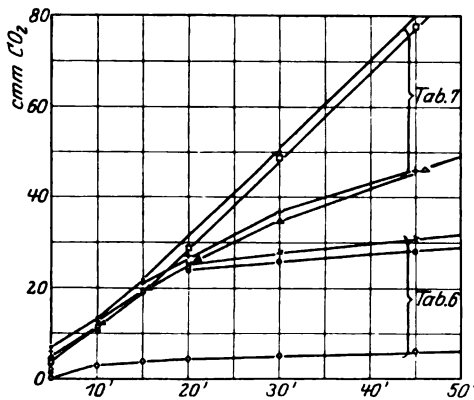


Abb. 5.

Für Tabelle VI ○ 24. ● 23. × 21.  
Für Tabelle VII + 21. △ 23. □ 25. ● 24.

entwickelt, sobald eine Neutralisation eingetreten ist. Auch das Ergebnis bei dem Filtratversuch sieht eher einer Neutralisation, als einer Ferment-spaltung ähnlich (s. oben). Deutlicher tritt eine Maltasewirkung in Er-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 172, 214, 1926.

scheinung, wenn man der Samensuspension bereits Maltose in einer Konzentration von 3 Prom. vor dem Schütteln zusetzt und dann wie vorher durch Koli das Filtrat spalten läßt (Tabelle VII, Abb. 5). Immerhin läßt sich die Methode noch wesentlich verbessern, wie in einer weiteren Mitteilung gezeigt werden wird.

Tabelle VII.

Vergleich zweier Filtrate, die durch Ausschütteln von maltosehaltiger bzw. -freier R (10) gewonnen wird.

Gefäß:	Ohne Maltose				Mit Maltose			
	21		23		24		25	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	9,0	5,8	9,0	5,5	9,5	6,4	7,0	4,3
10	19,5	12,6	20,0	12,5	19,5	13,2	18,0	11,0
15	31,0	20,0	32,0	20,0	32,0	21,5	32,0	19,6
20	40,0	26,0	41,5	26,0	46,5	36,5	47,0	29,0
30	56,5	36,5	56,0	35,0	74,0	50,0	79,5	49,0
45	71,0	46,0	73,0	46,0	120,0	81,0	126,5	78,0
<i>v</i>	7,290		7,059		7,626		6,872	
<i>KCO</i> <sub>2</sub>	0,644		0,624		0,675		0,606	

Tabelle

Gefäß:	Nach 39 Stdn. Keimung						Ungekeimt							
	Kontrolle 21		23		24		Kontrolle 25		26		27		21	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	-1,0	-0,6	5,5	3,3	4,0	2,6	0		5,0	2,8	4,0	2,2	0	0
10	-2,0	-1,2	9,5	5,6	7,5	4,8	-1,0	-0,6	9,0	5,0	10,0	5,4	1,0	0,6
15	-2,5	-1,5	14,5	8,6	11,5	7,4	-0,5	-0,3	14,0	7,7	15,0	8,1	2,0	1,2
20	-3,5	-2,1	18,0	10,7	14,5	9,3	-1,5	-0,9	17,5	9,7	18,0	9,7	3,0	1,8
30	-3,0	-1,8	27,0	16,0	22,0	14,2	-1,0	-0,6	26,5	14,6	27,0	14,6	3,5	2,1
45														
<i>v</i>	7,290		7,059		7,626		6,872		6,589		6,457		7,290	
<i>KCO</i> <sub>2</sub>	0,615		0,594		0,641		0,576		0,551		0,539		0,615	

\*) Diese Samen waren bei Wärme und Feuchtigkeit aufbewahrt.

Tabelle

Gefäß:	Nach 4 Tagen Keimung								Nach 5 Tagen Keimung							
	Kontrolle 21		23		24		25		Kontrolle 21		23		24		25	
	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5'	-0,5	-0,3	6,0	3,6	6,0	3,8	7,0	4,0	0	0	8,0	4,8	7,5	4,8	9,0	5,3
10	-1,5	-0,9	11,0	6,6	11,5	7,8	13,5	7,8	0,5	0,3	15,5	9,3	16,5	10,6	18,0	10,4
15	-1,0	-0,6	17,5	10,4	18,0	11,5	20,0	11,6	1,0	0,6	22,5	13,4	24,0	15,5	26,0	15,0
20	-1,0	-0,6	23,5	14,0	25,0	16,0	27,0	15,6	2,0	1,2	30,5	18,2	31,5	20,5	34,0	19,0
30	0		35,0	21,0	37,5	24,0	41,0	23,5	3,0	1,8	42,5	25,0	44,0	28,5	47,5	27,0
45	+1,5	+0,9	52,0	31,0	57,5	37,0	60,0	34,5	5,0	3,1	59,0	35,0	63,0	40,5	64,5	37,0
<i>v</i>	7,290		7,059		7,626		6,872		7,290		7,059		7,626		6,872	
<i>KCO</i> <sub>2</sub>	0,615		0,594		0,641		0,576		0,615		0,594		0,641		0,576	

Die Lipasewirkung ändert sich an den einzelnen Keimtagen. In einer Reihe von Untersuchungen wurden je 0,2 g Kiefersamen von 95 Proz. Keimkraft vor Beginn der Keimung und an verschiedenen Keimtagen untersucht. Nachdem durch Vorversuche ermittelt war, daß im Wurzeltrieb des Embryos Lipasefermente nicht enthalten sind, wurden an den beiden letzten untersuchten Keimtagen, die aus der Testa hervorstehenden Teile abgeschnitten. Dieses Verfahren enthält noch einen gewissen Fehler, insofern der in der Testa verbleibende Teil des Embryos mit zu den Bestimmungen verwandt wird. An einem größeren Material wurden indessen die Gewichtsverhältnisse zwischen Schale, Endosperm und Embryo an den verschiedenen Keimtagen sowie der Wassergehalt mit hinreichender Genauigkeit bestimmt (Tabelle VIII, Abb. 6), so daß die Lipasewerte nach Belieben auf das gesamte Samengewicht, das Trockengewicht oder, was wohl am richtigsten sein dürfte, auf das Gewicht des Endosperms bezogen werden kann.

Aus den Protokollen über die Lipasebestimmung (Tabelle VIIIa und VIIIb) wurden die Gasmengen, die zwischen 30 und 45 Minuten, also während 15 Minuten durch die Fettsäure aus dem Bicarbonat in Freiheit gesetzt wurden, zum Vergleich herangezogen und in Tabelle IX zusammengestellt. Auf diese Weise wurde ein Fehler, der sich im Anfangsteil der

## VIIIa.

Ungekeimt				Ungekeimt *)				Nach 3 Tagen Keimung					
23		24		21		23		Kontrolle 24		25		26	
mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
5,0	3,0	3,0	1,9	4,0	2,5	4,5	2,7	1,0	0,6	13,5	7,8	12,0	6,6
10,5	6,2	8,0	5,1	7,5	4,6	8,5	5,1	1,0	0,6	23,0	13,2	20,5	11,3
15,5	9,3	13,0	8,7	12,0	7,4	13,0	7,8	2,5	1,6	34,5	20,0	30,5	16,8
22,0	13,1	19,0	12,2	16,5	10,2	18,0	10,8	2,5	1,6	43,0	24,8	40,0	22,0
29,5	17,6	26,0	16,6	26,5	16,3	28,0	16,7	3,0	1,9	57,0	33,0	58,0	32,0
				37,0	22,7	38,0	22,7	3,5	2,2	69,0	40,0	68,0	37,5
7,059		7,626		7,290		7,059		7,626		6,872		6,589	
0,594		0,641		0,615		0,594		0,641		0,576		0,551	

## VIIIb.

Nach 6 Tagen Keimung								Nach 7 Tagen Keimung							
Kontrolle 21		23		24		25		Kontrolle 21		23		24		25	
mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm	mm	cmm
0	0	7,0	4,2	8,5	5,5	7,5	4,3	-0,5	-0,3	7,0	4,2	7,5	4,8	8,5	4,9
0,5	0,3	13,5	8,0	16,5	10,5	16,0	9,5	+0,5	+0,3	15,5	9,2	16,0	10,3	19,5	11,2
0,5	0,3	20,5	12,2	24,0	15,4	24,0	13,8	1,0	0,6	23,0	13,7	24,5	15,7	27,0	15,6
2,0	1,2	28,5	17,0	32,0	20,5	32,0	20,0	1,5	0,9	30,5	18,2	31,0	20,0	35,0	20,0
3,5	2,1	40,5	24,0	45,5	29,0	47,0	27,0	3,0	1,9	41,5	24,5	44,0	28,5	49,0	28,0
3,5	4,0	58,5	35,0	63,5	41,0	64,0	37,0	6,0	3,7	56,0	33,0	59,5	38,0	65,0	37,5
7,290		7,059		7,626		6,872		7,290		7,059		7,626		6,872	
0,615		0,594		0,641		0,576		0,615		0,594		0,641		0,576	

Spaltung durch nicht genügende vorbereitende Neutralisation der Samenemulsion bemerkbar machen kann, nach Möglichkeit ausgeschaltet. Der zwanzigfache Wert stellt den  $Q_{CO_2}$  für 1,0 g Samen und 1 Stunde Spaltung dar, die wechselnde Größe dieses Quotienten ist in Abb. 7 graphisch dargestellt, indem einmal das Rohgewicht des angewandten Samens (a), dann das Trockengewicht des Endosperms (b), des eigentlichen Trägers der Lipase, als Gewichtseinheit angenommen wurde.

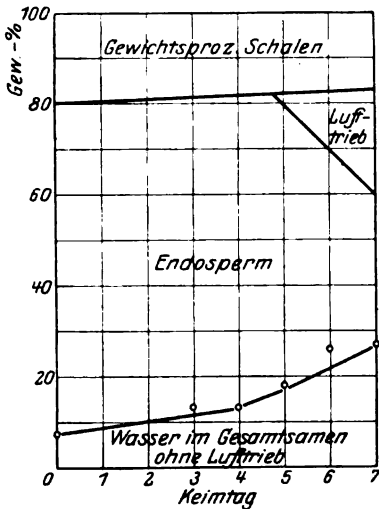


Abb. 6.

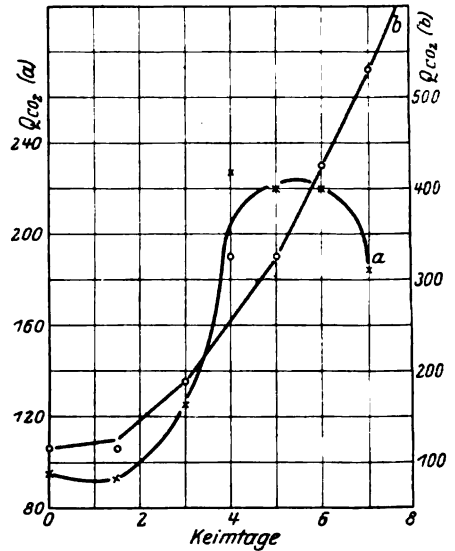


Abb. 7.

Tabelle IX. Feuchtigkeitsgehalt in Prozenten nach Keimtagen.

0	3	4	5	6	7
7,72	13,31	13,92	18,53	26,30	26,86

Der Unterschied des Verlaufs der beiden Kurven erklärt sich ohne weiteres aus ihrer Definition, indem a auf das an sich ziemlich konstante Gewicht des Gesamtsamens und eine allmählich abnehmende Substratmenge, Kurve b auf eine abnehmende Gewichts- und Substratmenge bezogen ist. Die absolute Fermentmenge wird also durch keine der beiden Kurven ausgedrückt, sondern nur ihre Wirkung an einem Substrat.

Tabelle X. Bewegung des  $Q_{CO_2} = \frac{\text{cmm } CO_2}{\text{g} \times \text{Stunden}}$  nach Keimtagen.

Keimtag	0	1,6	3	4	5	6	7
CO <sub>2</sub> -Menge in 15 Min. pro 0,2 g	5	4	5,5	11	10	10	9,5
	5	5,3	7,0	13	12	12	9,5
	4,6			10	10	10	8,5
	4,4						
Mittelwert:	4,75	4,65	6,25	11,3	10,7	11,0	9,15

Zum Schluß sei noch eine Betrachtung über die Menge des in den ersten 7 Tagen gespaltenen Fettes angefügt. Nimmt man als durchschnittlichen Wert für  $Q_{CO_2}$  170 an, so bedeutet das eine Spaltung von etwa 7,5 Mikromolen Monobutyryn pro Stunde und 1260 Mikromolen pro 7 Tage und Gramm Samen. Berücksichtigt man dabei, daß im Endosperm im wesentlichen Fette vom Typ des Trioleins vorkommen, die bei ihrer Aufspaltung 3 Moleküle  $CO_2$  frei machen, so werden in der angegebenen Zeit 420 Mikromol, im Falle des Trioleins also 0,372 g Fett infolge Spaltung verschwinden, eine Menge, die mit den durch Analysen gefundenen Werten gut übereinstimmt.

Herrn Prof. *Rona* spreche ich für die wertvollen Anregungen und die Förderung dieser Arbeit meinen ganz besonderen Dank aus.

#### Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Lipase in Samen angegeben.
2. Die Änderung des Lipasegehalts der Kiefersamen während der ersten 8 Keimtage wird untersucht.

Bei der technischen Durchführung der Versuche war die Mitarbeit von Fräulein *Lewin* von großem Wert.

---

# Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen.

Vorläufige Mitteilung.

Von  
Rolf Meier.

(Aus dem Pharmakologischen Institut zu Göttingen.)

(Eingegangen am 20. Mai 1926.)

Mit 11 Abbildungen im Text.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit berichtet H. Zeller<sup>1)</sup> über die Wirkung von Arzneistoffen auf Hefe. Ausgehend vom sogenannten „Arndt-Schulzschensbiologischen

Grundgesetz“ zeigt er, daß die Versuche von Schulz aus methodischen Gründen, und zwar besonders deshalb, weil die Schwankung der Kontrollwerte zu groß ist, nicht zu den Schlüssen berechtigen, die aus ihnen gezogen worden sind. Dem ist durchaus zuzustimmen. Doch läßt sich der Mangel an Beweiskraft in den Schulzschens<sup>2)</sup> Versuchen noch weit einleuchtender darlegen, wenn man sie graphisch darstellt. Prof. Heubner hat für eigene Zwecke eine solche graphische Darstellung der Sublimatversuche von Hugo Schulz vorgenommen und mir diese zur Veröffentlichung an dieser Stelle überlassen (Abb. 1, 2, 3, 4).

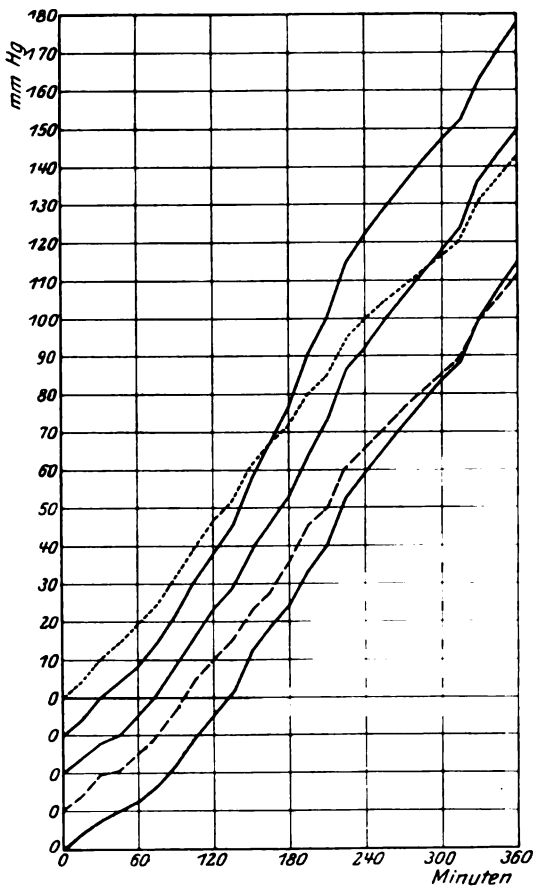


Abb. 1. Gärung von Preßhefe. Normalversuche. Der Fußpunkt jeder Kurve ist um die Höhe eines Rechtecks = 10 mm Hg Druckzunahme gegen den der tiefer liegenden erhöht.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 171, 43, 1926.

<sup>2)</sup> H. Schulz, Pflügers Arch. 42, 517, 1888.



Ich glaube, daß man diesen Kurven nichts hinzuzufügen braucht, um zu erklären, daß sie als Stütze zu so weittragenden Folgerungen keineswegs ausreichen. Eindeutiger erscheint auf den ersten Blick das Ergebnis einer zweiten Arbeit von *Hugo Schulz*<sup>1)</sup>, in der die Kohlen-säureproduktion volumetrisch selbsttätig registriert, allerdings gegenüber den ersten Versuchen eine wichtige Abänderung insofern getroffen

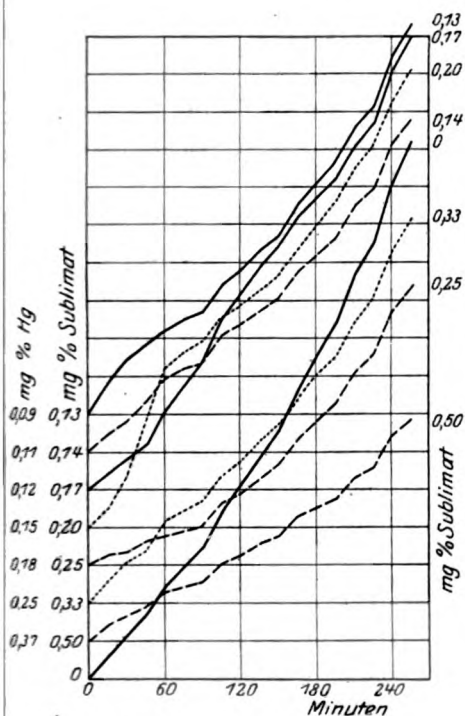


Abb. 2. Gärung von Preßhefe unter Zusatz von Sublimat.  
Ordinate: Druckzunahme in mm Hg.  
Höhe jedes Rechtecks = 10 mm Hg Druck.  
Fußpunkt jeder Kurve gegen den der darunter liegenden um die Höhe eines solchen Rechtecks verschoben.

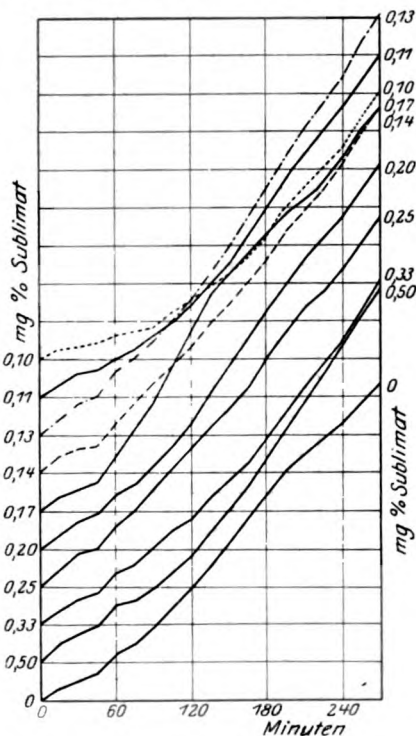


Abb. 3.  
Gärung von Preßhefe unter Zusatz von Sublimat.  
Ordinate: Druckzunahme in mm Hg.  
(Siehe Abb. 2.)

wurde, als die Versuchsdauer auf 3 Tage ausgedehnt wurde. Die auf Grund der erhaltenen Zahlen gezeichnete Kurve gibt Abb. 5 wieder. Man sieht daraus, daß in den ersten 12 Stunden der quecksilberhaltige Ansatz nur etwa 5 Proz.  $\text{CO}_2$  mehr lieferte als die Normalkontrolle, daß der Überschuß weiter bis Anfang des dritten Tages auf 20 Proz. anstieg, um später freilich wieder abzusinken. Zwei weitere Ansätze

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. 120, 51, 1907.

derselben Reihe mit Nachbarkonzentrationen von Sublimat (0,12 und 0,09 mg-Proz. Hg) verliefen fast gleichartig wie der aufgezeichnete

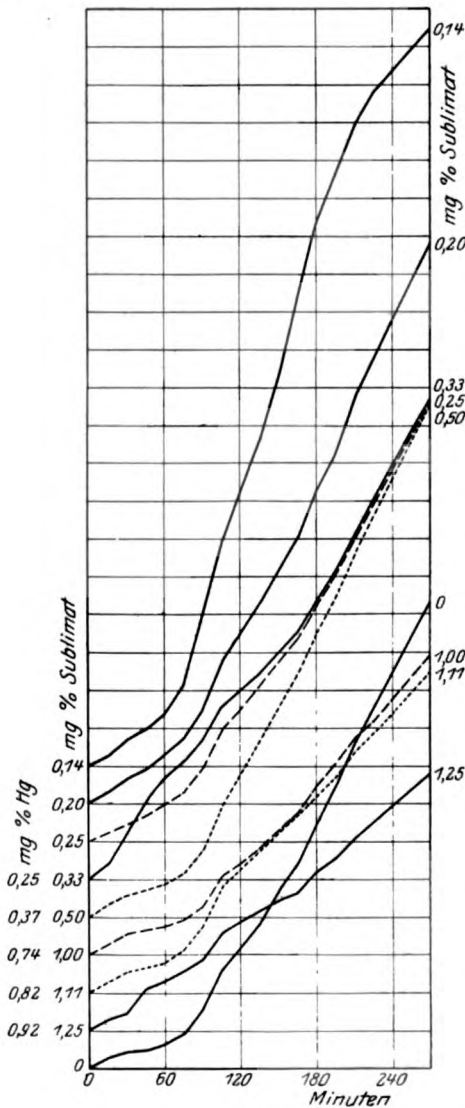


Abb. 4.

Gärung von Preßhefe unter Zusatz von Sublimat.

Ordinate: Druckzunahme in mm Hg. (Siehe Abb. 2.)

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 79, 144, 1917; 130, 239, 1922.

Versuch mit 0,105 mg-Proz. Hg. Leider beschränkt sich diese Mitteilung von *Hugo Schulz* auf diesen einen Versuch, und die darin angekündigten weiteren Versuche wurden nicht ausgeführt oder nicht bekanntgegeben. Daher bleibt die Berechtigung des Einwandes bestehen, daß die quecksilberhaltigen Ansätze auf *einen* Normalversuch bezogen werden müssen; da es sich um gewöhnliche Preßhefe handelte, ist noch mehr als bei Reinzuchthefen die Vermutung naheliegend, daß im Normalansatz zufällig ein weniger gärfähiger Anteil des Produkts ausgewählt worden war. Dies gilt um so mehr, als während der langen Zeitdauer des Versuchs möglicherweise auch noch Autolyse und Wachstumsvorgänge in das Gesamtergebnis eingegangen sind. Überdies hat *Joachimoglu*<sup>1)</sup> in eintägigen Versuchen an gewöhnlicher Hefe die Ergebnisse von *Hugo Schulz* keineswegs bestätigen können, d. h. *niemals* eine Steigerung der Kohlensäureproduktion gefunden.

Bei dieser Lage der Dinge ist es hohe Zeit, bei Diskussionen über die Frage der „Reizwirkung“ kleiner Gift-dosen die Versuche von *Hugo Schulz* nicht mehr als be-

weisendes Tatsachenmaterial anzuführen; in diesem Punkte stimme ich *Zeller* durchaus zu, wie ja auch schon *Heubner*<sup>1)</sup> die Ablehnung dieser Versuche klar ausgesprochen hat.

Trotzdem behält natürlich das Problem seine Bedeutung. Der tiefere Grund dafür, daß das — wie jetzt ersichtlich — so wenig gestützte

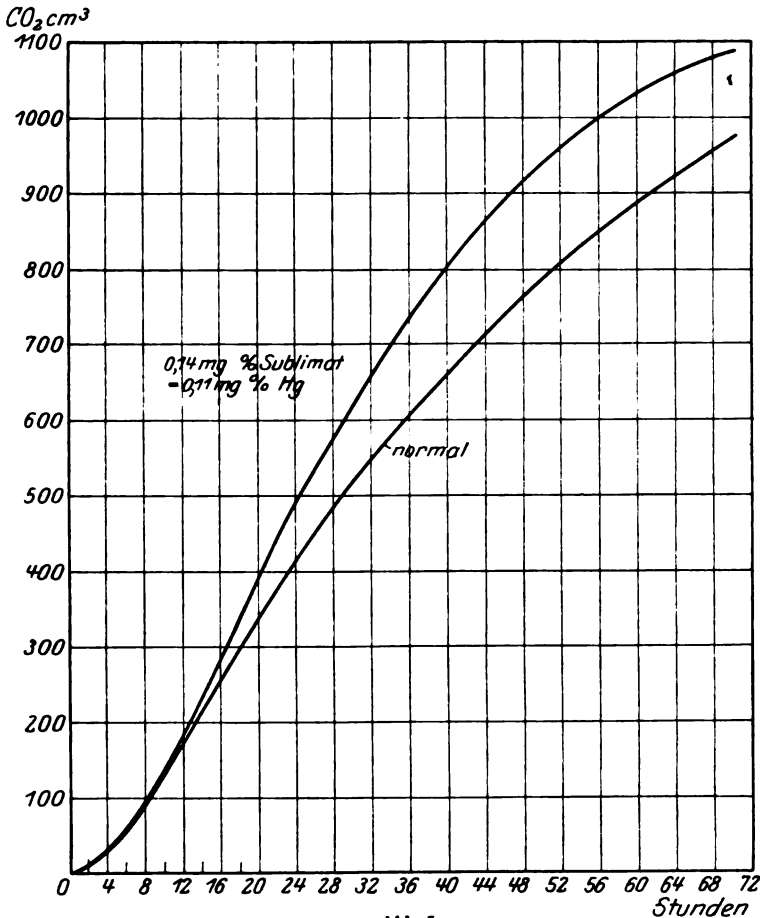


Abb. 5.  
Gärung von Preßhefe unter Zusatz von Sublimat.

„Arndt-Schulzische Grundgesetz“ eine so weit verbreitete Annahme gefunden hat, liegt doch wohl darin, daß eine außerordentlich große Zahl von Beobachtungen aus der Pathologie für eine „Reizwirkung“ gewisser kleiner Konzentrationen von Stoffen zu sprechen scheinen,

<sup>1)</sup> Klin. Wochenschr. 1926, S. 3.

die dieselben Zellen in hohen Konzentrationen abtöten. Aus diesem Grunde habe ich mich mit der Frage beschäftigt, ob es nicht gelingt, unter möglichst einwandfreien Versuchsbedingungen Wirkungen an Zellen zu finden, die im Sinne eines „Reizes“ zu deuten sind. Ohne in dieser Mitteilung auf theoretische Erörterung mannigfacher Fragen einzugehen, die sich mit dem Begriff „Reiz“ verbinden, möchte ich aus Anlaß der Veröffentlichung von *Zeller* heute nur kurz einige der Resultate mitteilen, die ich bisher erhalten habe.

Zunächst schien mir die Bearbeitung des Problems wichtig, ob gewisse chemische Stoffe, von denen man unmittelbare Gewebswirkungen kennt, *Steigerung des Stoffwechsels der sich nicht teilenden Einzelzelle* in „möglichst“ günstigem Milieu hervorbringen können. Die Erhöhung des Stoffwechsels der unter *depressiven* Milieueinflüssen stehenden Zelle zur Norm ist natürlich eine andere Frage.

Ich wählte als erstes Versuchsobjekt kernhaltige Gänseblutkörperchen und bestimmte die Atmung nach der vielgebrauchten Methode von *Barcroft-Warburg*. Die Fehlerbreite der Methode beträgt, wie ich mich übereinstimmend mit zahlreichen anderen Autoren in jahrelangen Versuchen überzeugt habe, durchschnittlich 5 Proz.

Aus einer größeren Zahl von untersuchten Substanzen greife ich nur wenige heraus, die möglichst verschieden voneinander sind, nämlich  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{As}_2\text{O}_3$  und Phenol. Bei deren Untersuchung hat sich in zahlreichen Versuchen niemals eine Steigerung der Atmung ergeben, die so weit über die Fehlerbreite der Methode hinausging, daß daraus zwingende Schlüsse gezogen werden könnten.

Als weiteres Versuchsobjekt wählte ich wie viele Autoren Hefe. Doch sind hier meiner Ansicht nach zwei Faktoren für die Wertung von Stoffwechselversuchen ausschlaggebend. Während bei den Blutkörperchen das Fehlen einer Atmungssteigerung eine Erhöhung des normalen Stoffwechsels ausschließt, da die Atmung der einzige energieliefernde Prozeß ist, liegen bei der Hefe die Dinge insofern anders, als schon normalerweise *zwei* Prozesse, Gärung und Atmung, als energieliefernde Reaktionen in Betracht kommen. Bestimmt man die Gärung allein, ohne streng auf Abwesenheit von Sauerstoff zu achten, so kann eine durch Atmungshemmung bedingte Steigerung der Gärung als Stoffwechselerhöhung imponieren, wo, energetisch betrachtet, keine Erhöhung der Energieproduktion vorliegt, wie es schon für die Atmungshemmung durch Blausäure und Schwefelwasserstoff, besonders durch *Warburg* und seine Schüler<sup>1)</sup> ermittelt worden ist. Diese Möglichkeit fällt natürlich unter streng anaeroben Bedin-

<sup>1)</sup> *Warburg*, *Ergebn. d. Physiol.* 1914; diese Zeitschr. 165, 203, 1925; 166, 169 bis 213.

gungen fort, was aber in früheren Versuchen nicht hinreichend beachtet zu sein scheint. Außerdem ist dabei zu bedenken, daß unter anaeroben Bedingungen nur eine Form des Stoffwechsels erfaßt wird. Andererseits kommt diese Möglichkeit für verschiedene Hefen in verschiedenem Maße in Betracht. Bei der Bierhefe entfallen unter gewöhnlichen, d. h. aeroben Bedingungen, etwa 10 bis 15 Proz. des Gesamtstoffwechsels auf die Atmung, bei Brennereihefe dagegen schon etwa 50 bis 60 Proz. und bei wilden Hefen etwa 100 Proz. Aus diesem Grunde ist es notwendig, Atmung und Gärung gleichzeitig zu bestimmen. Aus demselben Grunde ist es auch notwendig, an Reinzuchthefen zu arbeiten, da an gewöhnlichen, d. h. unreinen oder gemischten Hefen inkonstanter Zusammensetzung ganz verschiedene Resultate erhalten werden können.

Diese Bedingung muß auch noch aus dem Grunde erfüllt werden, daß man ein möglichst gleichmäßiges Material mit gleicher Giftempfindlichkeit voraussetzen kann. Aus diesen Überlegungen heraus habe ich Gärung und Atmung an Reinzuchthefen bestimmt, die mir in dankenswerter Weise vom Institut für Gärungsgewerbe, Berlin, zur Verfügung gestellt wurden. Die hier mitgeteilten Versuche wurden an Brennerei-Reinzuchtheferne M angestellt; diese wurde aus dem Grunde gewählt, weil unter aeroben Verhältnissen Gärung und Atmung so groß sind, daß Änderungen beider mit etwa gleich großer Sicherheit bestimmt werden können. Um den Faktor der Vermehrung auszuschalten, wurden die Versuche auf kurze Zeit (1 bis 1½ Stunden) beschränkt. Auf optimale und konstante Wasserstoffionenkonzentration (Pufferung mit Phosphat) und Temperatur (28°) wurde geachtet.

Bei der Bestimmung der Atmung zeigte sich, daß die drei Stoffe in gewissen Konzentrationen *Hemmung der Atmung*, in darunterliegenden jedoch *niemals* eine *Steigerung* hervorriefen. Kurve 6, 7, 8. Demgegenüber zeigte die aerobe Gärung ein vollkommen anderes Verhalten. Beim Sublimat war sie immer schon in kleineren Konzentrationen gehemmt

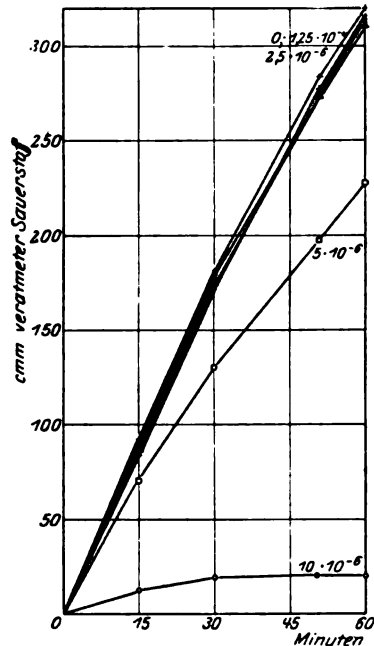


Abb. 6.  
Atmung von Reinzuchtheferne M  
unter Zusatz von Sublimat.

als die Atmung, und es wurde nie eine Steigerung beobachtet. Beim Arsenik und Phenol zeigte sich das Gegenteil. Die Gärung war nicht

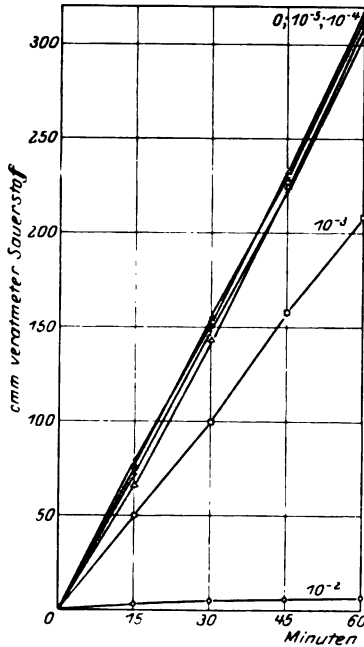


Abb. 7.

Atmung von Reinzuchthefer M  
unter Zusatz von Phenol.

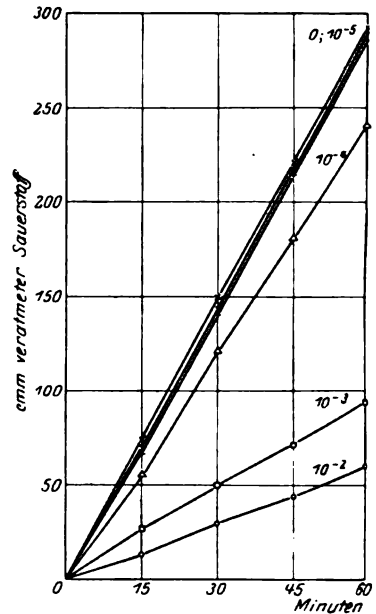


Abb. 8.

Atmung von Reinzuchthefer M  
unter Zusatz von  $As_2O_3$ .

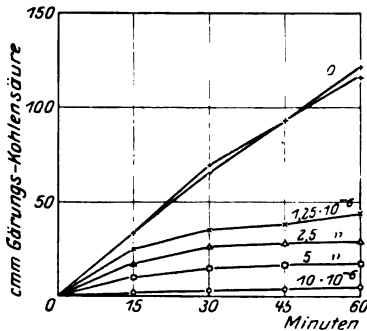


Abb. 9.

Aerobe Gärung von Reinzuchthefer M  
unter Zusatz von Sublimat.

früher als die Atmung gehemmt, sondern in gewissen mittleren atemungshemmenden Konzentrationen gesteigert, doch nicht so hoch, daß ein Überschuß über den Ausfall an Atmungsenergie erzielt worden wäre. Kurve 9, 10, 11. Es ergibt sich also für diese Stoffe ein grundsätzlich verschiedener Wirkungsmechanismus. Daraus allein folgt bereits, daß mit dem Begriff „Reizwirkung“ der Kompliziertheit der im lebenden Organismus vor-

liegenden Verhältnisse nicht Rechnung getragen wird, sofern man wenigstens unter diesem Wort etwas prinzipiell Gleichartiges verstehen will. Die übrigen bisher von mir erhaltenen zahlreichen und viel-

gestaltigen Ergebnisse sind alle nur geeignet, den eben ausgesprochenen Satz zu bestätigen. Dieser würde auch dann noch gültig bleiben, wenn unter gewissen Bedingungen eine echte Steigerung der Energieproduktion gesetzt werden könnte. Eine solche scheint *Zeller* bei einigen seiner Substanzen gefunden zu haben, nämlich beim Natriumformiat und Thyreoidin. Doch glaube ich, daß ein solcher Schluß aus diesen Versuchen nicht gezogen werden kann, denn beim Natriumformiat zeigte die beste Wirkung eine 0,5proz. Konzentration, die sicher in ihrer

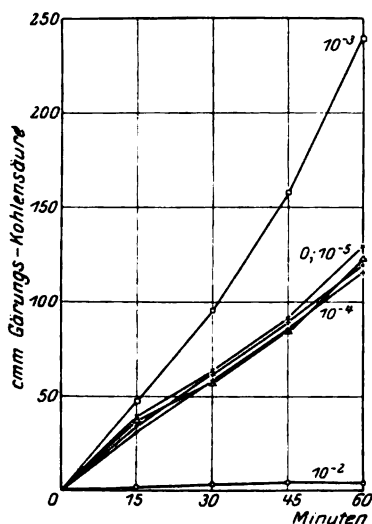


Abb. 10.

Aerobe Gärung von Reinzuchthefer M unter Zusatz von Phenol.

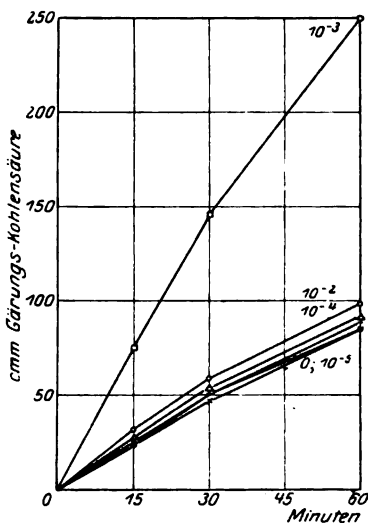


Abb. 11.

Aerobe Gärung von Reinzuchthefer M unter Zusatz von  $As_2O_3$ .

H-Ionenkonzentration von der Kontrolle abwich, da *Zeller* in Leitungswasser ohne Puffer arbeitete und Formiate alkalisch reagieren. Bei Verwendung von Schilddrüsensubstanz war das Einbringen stickstoffhaltiger Eiweißkörper nicht zu vermeiden. In beiden Fällen sind somit so starke Änderungen des Milieus gegeben, daß ein Vergleich mit der Kontrolle nicht möglich erscheint.

Über weitere Versuche an anderen Hefen und mit einer Reihe anderer Substanzen werde ich nach Abschluß der Untersuchung ausführlich berichten.

Die Untersuchungen werden mit Unterstützung der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ausgeführt, der dafür der gebührende Dank gesagt sei.

## Über das Verhalten des Harnquotienten C : N bei Fütterung von Schilddrüsen- und Hypophysenpräparaten.

Von

Hideo Wada (Osaka).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts  
der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. Mai 1926.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Meine vorliegenden Untersuchungen knüpfen an die Gedanken-  
gänge an, die sich in der Arbeit von *Bickel* und *Kauffmann-Cosla*<sup>1)</sup>,  
„Zur pathologischen Physiologie und Klinik der dysoxydativen  
Carbonurie“ für die Beziehungen zwischen der Lage des Harn-  
quotienten C : N und der Größe des Lungengaswechsels finden. Es  
wird in dieser Arbeit ausgeführt, daß vielfach mit einer Steigerung des  
Grundumsatzes ein höherer und mit einer Senkung desselben ein  
niedrigerer Harnquotient verbunden sein könnte, denn bei einer  
Steigerung der Verbrennungen könnte eine vollkommener Oxydation  
des Kohlenstoffs möglich sein, und deshalb könnte im Harn das Ver-  
hältnis von C : N eine Verschiebung im Sinne einer Quotientensenkung  
erleiden, indem auf eine bei der eintretenden Umsatzsteigerung ent-  
weder unverändert große oder vermehrte Harn-N-Menge eine zu geringe  
Harn-C-Menge entfiel. Bei einer Herabsetzung der Verbrennungen  
aber vermöchte auf die unverändert bleibende oder sich senkende  
Harn-N-Menge zuviel dysoxydabler Harn-C. entfallen.

Für die Prüfung dieser theoretischen Vorstellungen schienen  
Versuche mit Schilddrüsen- und Hypophysenpräparaten, die dem  
normalen Körper einverleibt wurden, besonders geeignet. Diese Ver-  
suche wurden an Kaninchen angestellt.

Beim normalen Kaninchen hatte schon *Bloch*<sup>2)</sup> eine Stoffwechsel-  
steigerung nach Einverleibung von Schilddrüsenpräparaten gefunden.

<sup>1)</sup> *Bickel* und *Kauffmann-Cosla*, *Virchows Arch.* **259**, 1926.

<sup>2)</sup> *Bloch*, Einfluß von Jod, Thyrojodin und Thyraden auf den Stoff-  
wechsel. Inaug.-Diss. Würzburg, 1896.



Alle Autoren, die sich später mit dieser Frage beschäftigten, teils am Kaninchen, teils am Hunde arbeiteten, kamen zu demselben Ergebnis. Die Literatur findet sich bei *Grafe*<sup>1)</sup> zusammengestellt. Es geht aus der vorliegenden Literatur hervor, daß die Kohlensäureausscheidung zunimmt, die Wärmeproduktion gesteigert wird, und daß an der Umsatzerhöhung auch der Eiweißstoffwechsel beteiligt ist. Es war also zu erwarten, daß unter der Zufuhr von Schilddrüsenpräparaten zum Körper beim normalen Kaninchen nach Maßgabe meiner obigen Ausführungen der Harnquotient C : N sinken würde.

Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt. Die Kaninchen wurden im Stoffwechselkäfig bei gleichmäßigem Rübenfutter gehalten. Die 24stündigen Harnmengen wurden getrennt vom Kot gesammelt. In ihnen wurde der N- und C-Gehalt bestimmt und der Quotient berechnet. Nachdem in dieser Weise in einer sechs- bis siebentägigen Vorperiode der Durchschnittsquotient dieser Periode festgestellt worden war, bekamen die Tiere in der nun folgenden Hauptperiode täglich eine Thyreoglandolinjektion. Auch hier wurde aus den Tagesquotienten der Periodendurchschnittsquotient errechnet. An die Hauptperiode schloß sich eine fünf- bis siebentägige Nachperiode, in der bei der Quotientbestimmung in derselben Weise verfahren wurde, in der aber die Tiere genau wie in der Vorperiode gehalten wurden. Diese Versuche führte ich an zwei verschiedenen Kaninchen aus. Das Ergebnis war bei beiden Tieren prinzipiell dasselbe.

Das Körpergewicht nahm bei dem Kaninchen I nicht ab, bei dem Kaninchen II verminderte es sich sichtlich. Die Stickstoffausscheidung nahm bei beiden Tieren unter der Thyreoglandolbehandlung in ihren absoluten Werten zu und blieb auch noch in der Nachperiode gesteigert. Die Kohlenstoffausscheidung nahm bei dem Kaninchen I in der Haupt- und Nachperiode in ihren absoluten Werten geringfügig zu, bei dem Kaninchen II aber ebenso geringfügig ab. In beiden Fällen aber war der Quotient C : N in der Hauptperiode stark, bei dem Kaninchen I in der Nachperiode noch etwas stärker, beim Kaninchen II aber in der Nachperiode etwas weniger stark gesenkt. Es wurde also bei den Tieren in der Hauptperiode sehr viel weniger dysoxydabler Kohlenstoff im Verhältnis zum Stickstoff ausgeschieden, was bei der Gesamtumsatzsteigerung, die auch zu einer vermehrten N-Ausscheidung führte, eine erhöhte Oxydation am Kohlenstoff bedeutet.

Auffallend ist, daß bei dem Kaninchen II eine vorübergehend vorgenommene höhere Dosierung des Thyreoglandols (0,3 ccm pro Tier) den Harnquotienten sehr viel geringer senkte, als die niedrigere Dosierung von 0,2 ccm Thyreoglandol, die sonst immer bei beiden 2,0 bis 2,5 kg schweren Tieren gegeben wurde. Vielleicht trägt dieser Befund etwas zur Klärung der Erfahrung bei, nach der man auch bei der Prüfung von Schilddrüsenpräparaten in ihrer Wirkung auf den Grundumsatz gelegentlich Versager bei verschiedenen Tieren hat. Es scheint auf eine optimale Dosierung anzukommen.

Als Ergebnisse meiner Versuche buchen wir, daß die mit der Zufuhr von Schilddrüsenpräparaten sich beim normalen Kaninchen einstellende

<sup>1)</sup> *Grafe*, Die pathologische Physiologie des Gesamtstoff- und Kraftwechsels bei der Ernährung des Menschen. Verlag Bergmann, 1923.

Grundumsatzsteigerung mit einer Senkung des Harnquotienten C:N vergesellschaftet ist, und daß auch nach Aussetzen dieser Medikation noch längere Zeit als Nachwirkung diese Quotientenänderung bestehen bleibt.

Ich wende mich nunmehr meinen Versuchen mit einem Hypophysenpräparat zu.

*Bernstein* und *Falta*<sup>1)</sup> hatten an Versuchen am Menschen gefunden, daß die Zufuhr von Präparaten aus dem Zwischenlappen (Stoffwechsell-drüse) und Hinterlappen (Abflußweg des Zwischenlappensekrets) der Hypophyse eine mäßige Steigerung der O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>-Werte bei unverändertem respiratorischen Quotienten nebst einer Erhöhung der N-Ausfuhr herbeiführte, während die eines Hypophysenvorderlappenpräparats (Wachstumsdrüse) eine Herabsetzung des Grundumsatzes mit Zunahme des respiratorischen Quotienten bewirkte. Diese Effekte am Gaswechsel sind aber nach der Injektion der Präparate nur von verhältnismäßig kurzer Dauer. Die Verschiedenartigkeit in der Wirkung der verschiedenen Hypophysenpräparate wurde auch von *Arnoldi* und *Leschke*<sup>2)</sup> beobachtet.

Im Hypophysin Höchst, mit dem ich arbeitete, sind wesentlich die im Infundibularteil (Zwischenlappen) der Hypophyse vorkommenden pharmakologisch wirksamen Substanzen chemisch rein und kristallisiert enthalten. Diese Substanzen müßten also neben ihrer blutdrucksteigernden, die Muskelkontraktionen des graviden Uterus anregenden und ihren die Diurese erhöhenden Wirkungen auch den oben erwähnten vorübergehenden und geringgradigen Einfluß erkennen lassen, der sich in einer Erhöhung des Grundumsatzes bei Gleichbleiben des respiratorischen Quotienten ausdrückt. [*Fühner*<sup>3)</sup>, *Meyer* und *Gottlieb*<sup>4)</sup>]. Eine zusammenfassende Darstellung des ganzen mit der Hypophyse zusammenhängenden Fragenkomplexes findet sich bei *Biedl*<sup>5)</sup>.

Meine Versuche mit dem Hypophysin können im Hinblick auf die über die kombinierte Stoffwechselwirkung der einzelnen Hypophysenabschnitte noch immer herrschende Unklarheit nur als vorläufige, orientierende Versuche gewertet werden. Ihnen müssen Versuche gleicher Art angeschlossen werden, die mit Extrakten der einzelnen Hypophysenabschnitte selbst und insbesondere auch des Vorderlappens angestellt sind. Aus meinen vorliegenden Versuchen kann also nur etwas für die Stoffwechselwirkung des Hypophysin Höchst, soweit es die Infundibularwirkung erzeugt, gefolgert werden. Nach den Versuchen von *Bernstein* und *Falta*, die nach der Injektion eines Hypophysen-, Zwischen- und Hinterlappenpräparates eine vorübergehende Gaswechselsteigerung ergeben hatten, wobei auch ein erhöhter Stickstoffumsatz zu erwarten ist, konnte man an eine Wirkung denken, die derjenigen ähnlich war, die nach der Injektion von Schilddrüsenpräparaten auftrat. Das war aber nicht der Fall; die Wirkung des Hypophysin Höchst war vielmehr genau die umgekehrte.

1) *Bernstein* und *Falta*, Verhandl. des Kongr. f. inn. Med. 1912, S. 536; *Bernstein*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 15, 86, 1914.

2) *Arnoldi* und *Leschke*, Zeitschr. f. klin. Med. 92, 364, 1921.

3) *Fühner*, Deutsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 11.

4) *Meyer* und *Gottlieb*, Die exper. Pharmakologie als Grundlage der Arzneibehandlung, 4. Aufl. Urban & Schwarzenberg, 1920.

5) *Biedl*, Referat über die Hypophyse. Verhandl. d. deutsch. Ges. f. inn. Med. 1922, S. 331.; *Physiol. u. Pathol. d. Hypophyse*. Verlag Bergmann, 1922.

Daraus kann wohl der Schluß gezogen werden, daß sich in der unmittelbar nach der Injektion von Extrakten aus dem Zwischen- und Hinterlappen der Hypophyse auftretenden Stoffwechselsteigerung nicht die Gesamtwirkung dieser Präparate erschöpft, sondern daß, wofern das Hypophysin Höchste mit dem Extrakt aus dem Zwischen- und Hinterlappen gleich gesetzt werden darf, diese initiale Reaktion von einer entgegengesetzten Reaktion gefolgt ist, die das Gesamtbild der Störung erst wesentlich bestimmt.

Im Prinzip wurden meine Hypophysinversuche genau so angestellt wie meine Thyreoglandolversuche.

Das Körpergewicht der beiden Kaninchen blieb unverändert oder hob sich leicht. Die Stickstoffausscheidung sank in der Hauptperiode unter der Hypophysinwirkung beträchtlich, hob sich in der Nachperiode wieder und erreichte hier in einem Falle (Kaninchen III) den Wert der Vorperiode nicht, im anderen Falle (Kaninchen IV) übertraf sie ihn. Die absoluten Werte für den Harnkohlenstoff gingen bei dem Kaninchen III in der Haupt- und Nachperiode sukzessive zurück, bei dem Kaninchen IV trat nur in der Hauptperiode ein leichter Rückgang auf, während in der Nachperiode der Wert der Vorperiode etwas übertroffen wurde. In allen Fällen aber stieg der Quotient C : N in der Hauptperiode gewaltig an, um in der Nachperiode wieder zu sinken und dabei entweder noch über dem Wert der Vorperiode zu bleiben (Kaninchen III) oder unter denselben zu fallen (Kaninchen IV).

Im schroffen Gegensatz zu den Thyreoglandolversuchen war also bei den Hypophysinversuchen eine Quotientensteigerung zustande gekommen. Unter der Hypophysinwirkung war Stickstoff stark gespart worden, dysoxydabler Kohlenstoff aber entweder in leicht verminderter oder in gleicher absoluter Menge wie in der Norm ausgeschieden worden. Im Verhältnis zum Stickstoff war aber immer unter der Hypophysinwirkung eine beträchtlich gesteigerte Menge an dysoxydablem Kohlenstoff durch den Harn eliminiert worden.

Das Ergebnis meiner Arbeit ist demnach folgendes:

1. Bei normalen Kaninchen bewirkt die Behandlung mit Thyreoglandol in bestimmter Dosierung eine starke Senkung des Harnquotienten C : N, die vor allem durch eine Steigerung in der N-Ausfuhr zustande kommt.

2. Bei normalen Kaninchen bewirkt die Behandlung mit Hypophysin *Hoechst* eine starke Erhöhung des Harnquotienten C : N, die vor allem durch eine Herabsetzung in der N-Ausfuhr zustande kommt.

3. Im Hinblick auf die eintretenden Veränderungen am Harnquotienten C : N zeigen Thyreoglandol und Hypophysin eine gegensätzliche Wirkung.

4. Die bedeutenden Änderungen, die in der N-Ausfuhr unter der Wirkung beider Präparate auftreten, ohne daß sich die absoluten Mengen des dysoxydablen Harnkohlenstoffs dabei in nennenswerter und gesetzmäßiger Weise ändern, deuten darauf hin, daß zwischen dem Harnstickstoff und der Hauptmasse des Harnkohlenstoffs keine engeren Beziehungen bestehen.

## Experimenteller Teil.

Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl*, der Kohlenstoff nach der in der Arbeit von *Gomez*<sup>1)</sup> angegebenen Methode bestimmt. Alle Analysen wurden doppelt ausgeführt. Der Harn der Kaninchen war frei von Eiweiß und Zucker.

## A. Thyreoglandolversuche.

Tabelle I. Kaninchen Nr. 1.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
11. II.	2020	405	1,078 92	0,6237	1,729	Thyreoglandol täglich 0,2 ccm (subkutan)
12. II.	2020	350	0,935 20	0,5880	1,590	
13. II.	2000	360	0,866 88	0,5140	1,686	
14. II.	2020	330	0,870 21	0,5544	1,569	
15. II.	2000	350	0,690 90	0,4900	1,410	
16. II.	1950	410	1,120 12	0,6314	1,774	
17. II.	1900	390	1,256 15	0,8736	1,437	
18. II.	1950	380	1,057 16	0,9044	1,169	
19. II.	1900	410	1,323 07	1,2320	1,074	
20. II.	1950	320	0,908 48	0,8168	1,112	
21. II.	1950	350	1,022 70	0,9800	1,043	
22. II.	1950	430	1,052 58	0,9632	1,092	
23. II.	1870	390	1,056 12	0,9828	1,074	
24. II.	1900	400	1,140 80	0,8960	1,273	
25. II.	1950	455	1,189 82	1,0374	1,146	
26. II.	1900	380	1,000 92	0,6384	1,552	
27. II.	1920	455	1,329 96	1,2740	1,043	
28. II.	1920	415	1,122 57	1,1620	0,966	
1. III.	1920	425	1,087 77	1,1900	0,914	
2. III.	1900	435	1,128 86	1,1571	0,975	
3. III.	1920	450	1,206 10	1,1340	1,063	

Die eingeklammerten Quotientzahlen sind durch Division der Periodendurchschnittszahlen für C und N gewonnen.

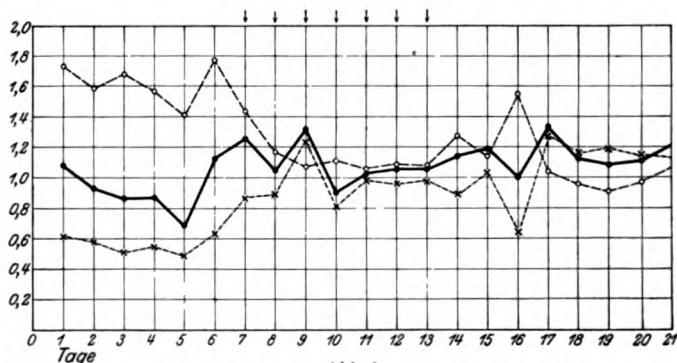


Abb. 1.

○--○--○ Harnquotient C:N (absolute Zahlen). — Absolute C-Mengen (in g).  
 ×--× Absolute N-Mengen (in g). Bei ↓ subkutane Injektion von 0,2 ccm Thyreoglandol.

<sup>1)</sup> *Gomez*, diese Zeitschr. 167, 1926.

Tabelle II.  
Kaninchen Nr. 2.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
10. III.	2500	355	1,380 18	0,7952	1,735	
11. III.	2500	330	1,093 29	0,6468	1,690	
12. III.	2450	360	1,297 80	0,7056	1,839	
13. III.	2450	410	1,457 96	0,9184	1,587	
14. III.	2400	285	1,092 84	0,7056	1,549	
15. III.	2400	455	1,354 08	0,7644	1,771	
16. III.	2400	360	1,024 20	0,7056	1,451	Thyreoglandol 0,3 ccm (subkutan)
17. III.	2400	440	1,087 24	0,6160	1,765	
18. III.	2400	380	1,061 34	0,6384	1,662	
19. III.	2400	390	1,277 25	0,9928	1,286	Thyreoglandol 0,2 ccm (subkutan)
20. III.	2320	430	1,178 20	1,0836	1,087	
21. III.	2400	265	0,758 13	0,7420	1,021	
22. III.	2350	275	1,073 97	1,2320	0,953	
23. III.	2300	210	0,776 78	0,7056	1,100	
24. III.	2200	195	1,126 90	1,2012	0,938	
25. III.	2200	180	0,808 02	0,7056	1,145	Thyreoglandol 0,2 ccm (subkutan)
26. III.	2300	330	1,256 31	1,0164	1,235	
27. III.	2250	410	1,087 52	0,5740	1,894	
28. III.	2230	390	1,071 11	0,5460	1,961	

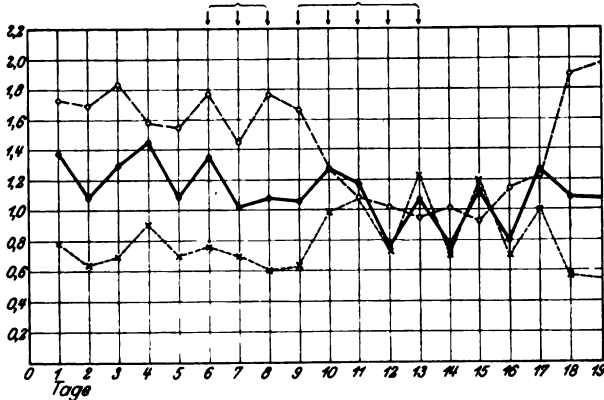


Abb. 2.

○--○--○ Harnquotient C : N (absolute Zahlen). — Absolute C-Mengen (in g).  
×--× Absolute N-Mengen (in g).

Bei den 3 Pfeilen links subkutane Injektion von je 0,3 ccm, bei den 5 Pfeilen rechts subkutane Injektion von je 0,2 ccm Thyreoglandol.

B. Hypophysinversuche.

Tabelle III.

Kaninchen Nr. 3.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C : N	Bemerkungen
20. III.	1650	390	1,050 66	0,6006	1,749	Hypophysin Höchst 0,2 ccm (subkutan)
21. III.	1700	300	0,862 50	0,5880	1,466	
22. III.	1700	325	0,886 28	0,6370	1,391	
23. III.	1750	345	0,856 98	0,5796	1,478	
24. III.	1600	370	1,255 04	0,8288	1,514	
25. III.	1600	260	0,689 26	0,2912	2,366	
26. III.	1800	115	0,805 34	0,2254	3,572	
27. III.	1720	270	0,890 74	0,3780	2,330	
28. III.	1730	275	1,172 87	0,4620	2,538	
29. III.	1680	390	0,870 09	0,3276	2,649	
30. III.	1700	385	0,863 17	0,3234	2,669	
31. III.	1550	330	0,835 89	0,3696	2,261	
1. IV.	1600	275	0,749 92	0,4620	1,623	
2. IV.	1600	280	0,787 92	0,6272	1,256	
3. IV.	1620	275	0,627 20	0,4620	1,357	

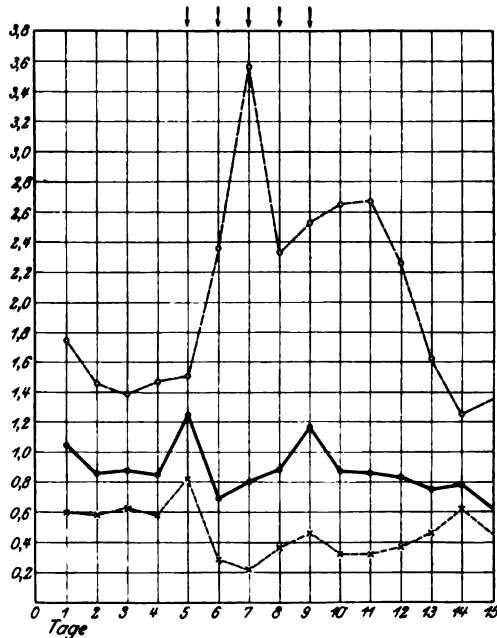


Abb. 3.

○---○---○ Harnquotient C : N (absolute Zahlen). — Absolute C-Mengen (in g).  
 ×---× Absolute N-Mengen (in g).  
 Bei ↓ subkutane Injektion von 0,2 ccm Hypophysin.

Tabelle IV.  
Kaninchen Nr. 4.

Datum	Körpergewicht g	Harn g	C g	N g	C : N	Bemerkungen
30. III.	2400	430	1,210 02	0,7224	1,674	Hypophysin Höchst 0,2 ccm (subkutan)
31. III.	2370	360	0,999 40	0,5040	1,984	
1. IV.	2300	480	1,312 80	0,7564	1,735	
2. IV.	2370	340	0,976 48	0,5372	1,817	
3. IV.	2450	280	1,082 76	0,5488	1,973	
4. IV.	2450	320	1,188 48	0,5056	2,350	
5. IV.	2500	370	1,096 85	0,5180	2,117	
6. IV.	2550	340	1,011 65	0,3808	2,656	
7. IV.	2500	415	1,144 15	0,4648	2,461	
8. IV.	2450	470	1,017 55	0,3948	2,577	
9. IV.	2450	440	1,016 40	0,6160	1,650	
10. IV.	2450	370	1,380 47	0,9842	1,402	
11. IV.	2450	500	1,055 50	0,7000	1,508	
12. IV.	2520	475	1,308 15	0,9310	1,405	
13. IV.	2550	420	1,249 92	0,9996	1,250	

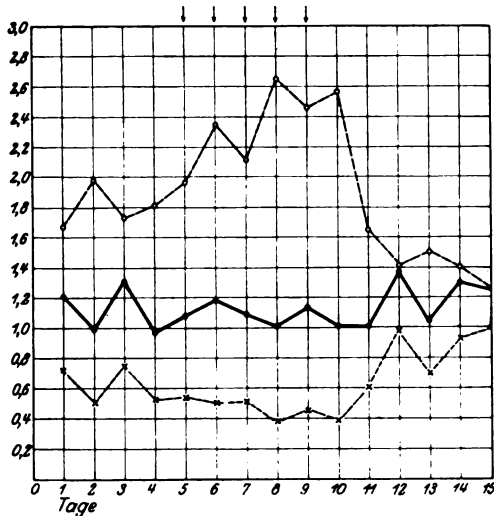


Abb. 4.

○--○--○ Harnquotient C : N (absolute Zahlen). — Absolute C-Mengen (in g).  
 X--X Absolute N-Mengen (in g).  
 Bei ↓ subkutane Injektion von 0,2 ccm Hypophysin.

**Beobachtungen über das  
Verhalten des Harnquotienten C:N nach der Kastration,  
während der Schwangerschaft und nach Zufuhr von Ovarial-  
substanzen.**

Von

Hideo Wada (Osaka).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts  
der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. Mai 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Aus der Literatur über den Einfluß der Kastration auf den Gaswechsel geht hervor, daß bei Kaninchen und Hunden bald eine mäßige Senkung der Verbrennungen im Körper beobachtet wird, bald aber eine Änderung überhaupt nicht in die Erscheinung tritt. Das gilt auch insonderheit für weibliche Tiere dieser Art. Auch das Körpergewicht nahm bald zu, bald blieb es unverändert. Alle diese Untersuchungen, die sich in *Grafes* Pathologischer Physiologie des Gesamtstoff- und Kraftwechsels<sup>1)</sup> zusammengestellt finden, knüpfen an die zuerst über diesen Gegenstand erschienene Arbeit von *Curatulo* und *Tarulli*<sup>2)</sup> an. *Grafe* nimmt wohl mit Recht als Ursache für diesen unterschiedlichen Ausfall der Kastrationsversuche an, daß der Ausfall der Keimdrüsenfunktion durch die Funktion anderer Inkretorgane bei verschiedenen Individuen derselben Art mehr oder minder weitgehend kompensatorisch ausgeglichen werden kann. Besonders kommt hierbei die Thyreoidea in Frage, weil bei schilddrüsenlosen Tieren das Absinken der Oxydationen nach der Kastration besonders deutlich in Erscheinung tritt.

Da nun die Lage des Harnquotienten C:N von den Oxydationsprozessen im intermediären Stoffwechsel weitgehend abhängig ist, lag der Gedanke nahe, das Verhalten dieses Quotienten bei kastrierten Tieren zu untersuchen. Da das Absinken der Oxydationen nach der

---

<sup>1)</sup> Verlag Bergmann, München, 1923.

<sup>2)</sup> Zentralbl. f. Gyn. 1895, S. 555.



Kastration, wenn es überhaupt zur Beobachtung gelangt, nur in geringem Ausmaß vorhanden ist, konnte auch in dem Falle, daß überhaupt eine Gaswechseleränderung auftrat, nur eine geringfügige Änderung des Quotienten, und zwar im Sinne einer Erhöhung erwartet werden, wenn bei der Oxydationssenkung eine Stickstoffspareung oder eine Vermehrung des dysoxydablen Harnkohlenstoffs oder beides auftrat. Es konnte aber auch der Quotient unbeeinflusst bleiben, sei es, daß die Oxydationssenkung überhaupt zu geringfügig war, eine bemerkenswerte Änderung am Quotienten hervorzurufen, sei es, daß eine Kompensation der Störung durch die verstärkte Tätigkeit anderer innersekretorischer Organe auftrat. Unter diesen kommt die Schilddrüse in erster Linie in Frage. Bei Zufuhr von Schilddrüsensubstanz zum normalen Körper sinkt der Quotient, wie ich in einer anderen Arbeit nachgewiesen habe <sup>1)</sup>. Die nach der Kastration erwartete Quotienterhöhung konnte also sehr wohl durch die Steigerung der Schilddrüsen-tätigkeit mit ihrer den Quotienten senkenden Wirkung ausgeglichen werden.

Bei den zwei weiblichen Hunden, bei denen ich den Quotienten vor und bis etwa 6 Monate nach der Kastration untersuchte, trat in der Tat keine nennenswerte Veränderung in der durchschnittlichen Lage des Quotienten auf, nur wurden die täglichen Quotientenschwankungen stärker, worin sich doch wohl eine Unregelmäßigkeit in den oxydativen Prozessen ausdrückt. In späterer Zeit gingen diese starken täglichen Quotientenschwankungen wieder mehr oder weniger zurück.

Im Anschluß an diese Arbeiten habe ich den Einfluß der Zufuhr von Ovarialpräparaten bei den beiden kastrierten Hunden und bei normalen Kaninchen auf die Lage des Harnquotienten C : N untersucht.

*Loewy* und *Richter*<sup>2)</sup> hatten bekanntlich gefunden, daß subkutane und orale Gaben von Ovarialsubstanz beim normalen, geschlechtsreifen Tiere den Gaswechsel unbeeinflusst ließen, während sie ihn beim kastrierten Tiere erheblich steigerten. Bei dem weiteren Studium dieser Frage unter Anwendung verschiedener käuflicher Ovariumpräparate zeigte sich nun eine häufig recht schwankende Wirksamkeit dieser Präparate auf den Gaswechsel. Neuerdings stellte die Firma *Freund* und *Redlich* in Berlin-Adlershof zwei Eierstockpräparate dar, die als Oophorin und als Oophorin-Lipoid in den Handel gebracht wurden. Das Oophorin ist ein Trockenpräparat der sauber präparierten, lebensfrischen Keimdrüse, während das Oophorin-Lipoid die Fettfraktion der Keimdrüsen darstellt, in der bekanntlich nach den Beob-

<sup>1)</sup> Erscheint in dieser Zeitschrift 1926.

<sup>2)</sup> Arch. f. anat. u. physiol. Phys., Abt. 174, 1899.

achtungen von *Allen, Doisy* und *Johnston* vor allem die wirksamen Hormonalsubstanzen enthalten sind. Bei meinen Versuchen bediente ich mich deshalb der neuen Präparate von *Freund* und *Redlich*, weil von *Brugsch* und *Rothmann*<sup>1)</sup> ihre starke gaswechselsteigernde Wirkung bei kastrierten und anderweitig ovarialkranken Frauen nachgewiesen worden war. Für meine Versuche an Kaninchen ließ ich mir von der Firma *Freund & Redlich* ein Ovarienspritzpräparat herstellen, welches nach der Methode von *Allen, Doisy, Zondek* und *Loewe* im Liter 2000 Mäuseeinheiten enthält. Es entsprach hinsichtlich seiner allgemeinen Herstellungsart dem Trockenpräparat Oophorin. Für die Kaninchenversuche war ein Spritzpräparat wegen der Möglichkeit seiner exakteren Dosierung, da den Kaninchen Tabletten schwierig quantitativ beizubringen sind, erwünscht. Zu meinen Versuchen mit Oophorin benutzte ich ein Präparat, das aus der gleichen Rohmaterialmasse hergestellt worden war, wie dasjenige Präparat, mit dem *Brugsch* und *Rothmann* ihre Gaswechselversuche gemacht hatten. Mit dem Oophorin-Lipoid habe ich bisher noch keine Versuche gemacht.

Bei den beiden kastrierten Hündinnen hatte die perorale Gabe von Oophorin oder die Injektion des dem Oophorin entsprechenden Spritzpräparats keinen Einfluß auf die Lage des an sich nach der Kastration normal gebliebenen Quotienten, wohl aber wurden die täglichen Quotientenschwankungen geringer.

Bei der Behandlung von einem normalen männlichen und einem normalen weiblichen Kaninchen mit dem Ovarienspritzpräparat trat nur bei dem weiblichen Kaninchen eine deutliche Quotientensenkung auf. Dieselbe beruhte auf einer Abnahme in den absoluten Werten des dysoxydablen Kohlenstoffs und in einer Zunahme des Harnstickstoffs. Es ging also mit der Steigerung des N-Umsatzes eine Steigerung der totalen C-Oxydation Hand in Hand.

Bei diesen Versuchen an Kaninchen hatte ich auch Gelegenheit, den Quotienten während der Schwangerschaft und in den ersten Tagen nach der Geburt bei einem dieser Tiere zu untersuchen.

Bei der Schwangerschaft übt neben dem Ausfall der Ovarialfunktion der wachsende Embryo seinen Einfluß auf den Stoffwechsel aus. Besonders gegen Ende der Schwangerschaft steigt der Sauerstoffverbrauch. Die Steigerung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs fällt vor allem wohl dem Fötus zur Last; sie wird teilweise kompensiert durch den Ausfall der Ovarialfunktion und dessen Rückwirkung auf die Oxydationen im mütterlichen Organismus im Sinne einer Herabsetzung. Die Literatur

---

<sup>1)</sup> Med. Klinik 1926, Nr. 8.

findet sich bei *Grafe* (l. c.) zusammengestellt. Qualitative Änderungen des Stoffwechsels, beurteilt aus der Lage des respiratorischen Quotienten, sind belanglos.

Eine nennenswerte Änderung in der Lage des Harnquotienten trat bei dem von uns beobachteten Kaninchen nach der Geburt nicht ein. Der Quotient lag vor der Geburt bei 1,63 und nach der Geburt bei 1,53. Auch in den letzten Tagen der Schwangerschaft hatte der Quotient wohl eine normale Lage bei 1,63, allerdings wurde bei diesem Tiere die Lage des Quotienten nicht in der Zeit vor Beginn der Schwangerschaft festgestellt. Ich kann mich also bei der Beurteilung der Lage des Quotienten in der letzten Zeit der Schwangerschaft nur auf meine Erfahrungen über die Lage des Quotienten bei anderen normalen, nicht schwangeren Kaninchen stützen. Gerade bei diesem Kaninchen aber hatte die Injektionsbehandlung mit dem Ovarialpräparat in der Zeit nach dem Partus einen deutlich senkenden Einfluß auf den Harnquotienten, wie ich oben schon ausführte.

Daß sich nach der Kastration der Quotient bei den Hündinnen nicht änderte, erklärt sich wahrscheinlich aus dem kompensatorischen Eintreten anderer innersekretorischen Organe (Schilddrüse) für die ausgeschalteten Keimdrüsen. Die anfänglichen starken täglichen Quotientenschwankungen zeigen aber wohl an, daß es längere Zeit dauerte, bis sich die gestörte Oxydation wieder stabilisiert hatte.

Nach der Injektion bzw. Verfütterung der Ovarialpräparate, die doch zweifellos eine Gaswechselsteigerung ausgelöst hatten, änderte sich zwar nicht die durchschnittliche Lage des Quotienten, aber es wurden beim Hunde I die täglichen Quotientenschwankungen geringer. Darin drückt sich doch wohl ein regulatorischer Einfluß dieser Ovarialpräparate auf den intermediären Stoffwechsel aus. Bei dem Hunde II waren schon vor der Medikation des Ovarialpräparats die täglichen Quotientenschwankungen wieder normal geworden und änderten sich auch nicht während der Medikation des Präparats.

#### Experimenteller Teil.

Die Versuchsanordnung war folgende: Bei zwei weiblichen Hunden wurden in einer siebentägigen Vorperiode bei gleichmäßiger Fütterung mit frischem Pferdefleisch, Reis und Schweineschmalz der Harnquotient C : N ermittelt, indem die 24stündigen Harnmengen auf ihren C- und N-Gehalt analysiert, die täglichen Quotienten und dann aus ihnen der Durchschnittsquotient der Periode berechnet wurden. Darauf wurden den Tieren die Ovarien extirpiert. Nach einer 5- bzw. 20tägigen Zwischenperiode, in der sich die Tiere von dem operativen Eingriff erholten, wurden dann von Zeit zu Zeit die Quotientwerte des Harns (24stündige Mengen) bestimmt. Während des ganzen Versuchs bekamen die Tiere immer das gleiche Futter.

Hund I, 9,7 kg	Hund II, 8,2 kg
250 g frisches Pferdefleisch	250 g frisches Pferdefleisch
50 g Reis	40 g Reis
20 g Schweineschmalz	20 g Schweineschmalz
2 g Salzgemisch	1 g Salzgemisch
pro Kilo etwa 67 Kalorien	pro Kilo etwa 75 Kalorien

Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl*, der Kohlenstoff nach der in der Arbeit von *Gomez* (diese Zeitschr. 167) angegebenen Methode bestimmt.

Bei dem Hunde I war der Durchschnittsquotient der Vorperiode 0,643, bei dem Hunde II 0,635. Bei dem Hunde I schwankte der Quotient an den verschiedenen Tagen der Vorperiode zwischen 0,53 und 0,74, bei dem Hunde II zwischen 0,59 und 0,68. Die Untersuchung dauerte nach der Ovariexstirpation bei dem Hunde I vom 20. Oktober 1925 bis 14. April 1926, also etwa 6 Monate, bei dem Hunde II vom 11. Oktober 1925 bis 9. April 1926, also ebenfalls etwa 6 Monate.

Bei dem Hunde I wurde vom 1. April 1926 bis 14. April 1926 der Quotient wieder täglich bestimmt und hatte in dieser Periode einen Durchschnittswert von 0,6773, bei dem Hunde II, bei dem vom 1. April 1926 der Quotient täglich bestimmt wurde, lag der Durchschnittsquotient dieser Periode bei 0,6480.

Bei dem Hunde I, dessen Körpergewicht sich in dem halben Jahre nach der Ovariexstirpation um etwa 900 g vermindert hatte, war der Quotient von 0,6430 in der Vorperiode auf 0,6773 gestiegen. Wenn man die täglichen Quotientenschwankungen berücksichtigt, die in der Vorperiode zwischen 0,53 und 0,74, in der letzten Periode aber zwischen 0,62 und 0,80 lagen, dann wird man zugeben müssen, daß der Quotient eine sehr geringfügige Erhöhung im Laufe der Zeit bei diesem Hunde erfahren hat.

Bei dem Hunde II, dessen Körpergewicht in der ganzen Beobachtungszeit ungefähr konstant geblieben war, war der Quotient von 0,635 in der Vorperiode auf 0,648 in der letzten Periode gestiegen. Die täglichen Quotientenschwankungen in der Vorperiode betragen 0,59 bis 0,68, in der letzten Periode 0,601 bis 0,658, sie waren also geringer geworden, wenn auch der Durchschnittsquotient sich ein ganz klein wenig erhöht hatte.

Aus allem ergibt sich, daß nach der Ovariexstirpation im Laufe von 6 Monaten keine größeren Änderungen im Verhalten des Harnquotienten C : N auftreten.

An den verschiedenen Tagen zwischen der Vorperiode und dieser letzten Periode, an denen der Harnquotient untersucht wurde, zeigte dieser beträchtlichere tägliche Schwankungen. Bei dem Hunde I wurden Quotientwerte zwischen 0,322 und 0,759 beobachtet, bei dem Hunde II zwischen 0,2068 und 0,8344. Wenn man die Durchschnittswerte aus diesen sporadischen Bestimmungen in der genannten Zeit berechnet, erhält man beim Hunde I den Quotientwert 0,634, bei dem Hunde II 0,581. Man erhält also Quotientwerte, die die Werte der Vorperioden jedenfalls nicht übertreffen und fast identisch mit ihnen sind.

*Alle diese Beobachtungen zeigen, daß durch die Ovariexstirpation wohl größere tägliche Schwankungen in die Quotientwerte gebracht werden können, aber daß die Durchschnittswerte der Quotienten in einzelnen Perioden nicht nennenswert verändert werden.*

Im Anschluß an diese Versuche habe ich den beiden Hunden Ovarienpräparate der Firma *Freund & Reilich* verabreicht und bei im übrigen immer der gleichen Fütterung den Quotienten bestimmt. Der Hund I bekam drei Oophorintabletten täglich mit der Nahrung, der Hund II täglich eine subkutane Injektion von 0,5 bis 1,0 ccm des dem Oophorin entsprechenden Ovariumpräparats. Diese Versuche dauerten 6 bis 8 Tage. Während dieser Zeit und im Anschluß daran wurden noch 1½ bis 2 Wochen der Quotient täglich bestimmt.

Bei dem Hunde I lag der Durchschnittsquotient während der Oophorinperiode bei 0,6302, in der Nachperiode bei 0,615, bei dem Hunde II lag der Durchschnittsquotient während der Ovarienmedikation bei 0,6237, in der Nachperiode bei 0,6339.

	Hund I	Hund II
Quotient in der Zeit vor der Ovarienmedikation . .	0,6773	0,6480
"    "    "    "    während der    "    . .	0,6302	0,6237
"    "    "    "    nach    "    . .	0,6150	0,6339
Tägliche Quotientenschwankungen in der Zeit vor der Ovarienmedikation . . . . .	0,62-0,80	0,60-0,65
Tägliche Quotientenschwankungen in der Zeit während der Ovarienmedikation . . . . .	0,62-0,63	0,60-0,67
Tägliche Quotientenschwankungen in der Zeit nach der Ovarienmedikation . . . . .	0,55-0,66	0,58-0,69

Wenn man diese Zusammenstellung betrachtet, dann gewinnt man doch den Eindruck, daß unter der Oophoringabe der bei diesem Hunde nach der Ovarienexstirpation im Laufe der Zeit ein wenig höher gewordene Quotient wieder auf den normalen Wert vor der Ovarienexstirpation von 0,643 herabgedrückt worden ist, und daß auch noch in der ersten Zeit nach Aussetzen der Oophorinmedikation diese Quotienterniedrigung bestehen blieb, und daß ferner die täglichen Quotientenschwankungen während der Oophorinbehandlung geringer geworden sind. Bei dem Hunde II, der ein anderes Ovarienpräparat erhielt, wurde von allem dem nichts beobachtet. Aber ich wiederhole es nochmals: auch bei dem Hunde I sind alle Ausschläge bei den Quotientwerten zu gering, als daß man daraus bindende Schlüsse ziehen könnte, abgesehen von den Änderungen in den Tagesschwankungen.

Es ist jedenfalls wünschenswert, noch weitere Erfahrungen über den Einfluß von Ovarienpräparaten auf die Lage des Harnquotienten C : N zu sammeln.

Nachdem gezeigt worden war, daß durch die Kastration der Quotient nicht nennenswert beim Hunde beeinflußt wird, und nachdem auch kein deutlicher Einfluß der Ovarienpräparate auf den an sich ungefähr normalen Quotienten des kastrierten Hundes nachweisbar war, abgesehen von der Regulierung der Tagesschwankungen, habe ich untersucht, ob durch Zufuhr von Ovarienpräparaten bei normalen Tieren Quotientänderungen auftreten. Es war immerhin möglich, daß eine Anreicherung des normalen Körpers mit Ovariensubstanz zu bemerkbaren Ausschlägen am Quotienten führte. Diese Versuche stellte ich an zwei Kaninchen an, an einem weiblichen und einem männlichen. Diese Versuche müssen weiter fortgesetzt werden. Ich will aber doch schon hier meine bisherigen Beobachtungen mitteilen

Bei diesen Versuchen warf das weibliche Kaninchen in der Vorperiode Junge. Ich gewann auf diese Weise auch Werte des Quotienten vor und nach dem Partus und konnte die Wirkung der Zufuhr von Ovariensubstanz beobachten. An den 6 Tagen vor dem Partus war der Durchschnittsquotient 1,639, an den 5 Tagen nach dem Partus 1,527. Das sind für das Kaninchen durchaus normale Quotientwerte, und auch die Differenz zwischen beiden liegt durchaus im Rahmen der Norm. Man wird daraus schließen dürfen, daß Schwangerschaft und Geburt keinen Einfluß auf die Lage des Quotienten haben.

Nunmehr erhielt das Kaninchen täglich 0,2 ccm des dem Oophorin entsprechenden Ovarienpräparats subkutan injiziert, das auch der Hund II erhalten hatte. Der Quotient sank und hob sich wieder nach dem Aussetzen der Medikation.

Durchschnittsquotient vor der Gabe des Präparats . . .	1,528
„ während der Gabe des Präparats . . .	1,129
„ nach der Gabe des Präparats . . .	1,404

Bei dem männlichen Kaninchen hatte die Gabe des gleichen Ovarienpräparats gar keinen Einfluß auf die Lage des Quotienten.

Durchschnittsquotient vor der Gabe des Präparats . . .	1,304
„ während der Gabe des Präparats . . .	1,285
„ nach der Gabe des Präparats . . .	1,404

#### Schlußfolgerungen.

1. Bei zwei weiblichen Hunden erfuhr der durchschnittliche Harnquotient C:N nach der Kastration keine nennenswerte Änderung, wohl aber wurden die täglichen Quotientschwankungen vorübergehend stärker.

2. Zufuhr von Ovariensubstanz (Oophorin und ein ihm entsprechendes Ovarienspritzpräparat von *Freund* und *Redlich*) hatte bei den kastrierten Hündinnen keinen Einfluß auf die durchschnittliche Lage des Harnquotienten C:N, wohl aber wurden die in dem einen Falle noch stärker vorhandenen täglichen Quotientschwankungen geringer.

3. Bei einem normalen weiblichen Kaninchen trat während der Gabe des Ovarienspritzpräparats eine Senkung des Quotienten auf, die bei einem männlichen Kaninchen ausblieb. Die Senkung war durch eine Herabsetzung der absoluten C- und eine Steigerung der absoluten N-Mengen bedingt, also wohl durch eine Oxydationserhöhung im intermediären Stoffwechsel zustande gekommen.

4. Während der Schwangerschaft und im Anschluß an die Geburt änderte sich der Harnquotient C:N bei einem Kaninchen nicht.

Tabelle I. Hund I.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen	
12. X.	10 200	770	4,880	9,163	0,532	} 0,6434 (0,6345)	
13. X.	10 200	770	4,720	7,546	0,625		
14. X.	10 400	1000	4,150	5,600	0,741		
15. X.	10 450	970	3,278	4,888	0,670		
16. X.	10 400	1100	4,722	7,084	0,666		
17. X.	10 350	800	3,753	5,600	0,670		
18. X.	—	840	3,533	5,880	0,600		
20. X.	—	—	—	—	—		Ovariexstirpation
24. X.	10 450	320	5,039	7,526	0,669		
25. X.	10 500	810	3,194	5,216	0,612		
26. X.	10 250	900	5,510	8,316	0,662		
27. X.	10 550	390	—	—	—		Eiweiß ++
28. X.	10 400	740	—	—	—		Eiweiß ++
11. XI.	10 850	660	2,1615	3,5112	0,663		Eiweiß —
12. XI.	10 870	780	2,5179	7,8624	0,322		
13. XI.	11 000	440	2,7876	4,3120	0,646		
19. XI.	10 950	640	3,5865	5,9136	0,606		
23. XI.	10 850	780	4,1030	5,8481	0,702		
28. XI.	10 850	550	1,8720	2,4640	0,759		
20. XII.	9 850	935	4,4175	6,5100	0,678	← wegen schlechten Essens freigelassen	
28. XII.	10 220	860	3,6317	5,5384	0,655		
6. I.	10 250	510	4,1866	6,9258	0,604		
12. I.	10 550	750	3,3688	6,0900	0,553		
15. I.	11 650	840	3,3995	5,8800	0,578		
21. I.	10 700	590	4,1176	6,7732	0,608		
27. I.	10 720	790	4,4619	7,8526	0,568		
29. I.	10 950	650	3,3122	6,7340	0,492		
2. II.	10 700	900	4,4010	8,0640	0,545		
10. II.	10 750	720	4,6512	7,6608	0,607		
12. II.	11 000	740	4,3105	7,0448	0,612	← wegen schlechten Essens freigelassen	
10. III.	9 550	720	2,3501	3,2256	0,728		
17. III.	9 500	580	3,3147	3,8976	0,850		
18. III.	9 600	600	3,4344	5,0400	0,681		
24. III.	9 950	580	2,2968	3,0856	0,7440		
27. III.	9 620	490	3,7534	5,2136	0,7190		
1. IV.	9 600	350	3,6872	5,2920	0,6960		
6. IV.	9 500	350	4,9262	6,5660	0,7500		
7. IV.	9 520	690	4,8383	5,9892	0,8070		
8. IV.	9 550	550	3,9331	5,5440	0,7090		
9. IV.	9 620	330	4,1313	6,2832	0,6575	} Durchschnitt C : N vom 1.IV bis 15.IV.: 0,6773	
10. IV.	9 820	300	3,7326	5,9640	0,6258		
11. IV.	9 750	520	4,8325	7,7168	0,6262		
12. IV.	9 820	630	4,8711	7,1616	0,6801		
13. IV.	9 700	900	5,1129	8,0640	0,6340		
14. IV.	9 600	335	3,5798	5,7218	0,6255		
15. IV.	9 600	500	5,4613	8,5400	0,6395		
16. IV.	9 730	270	2,8409	4,4982	0,6315		
17. IV.	9 900	600	5,0792	8,0640	0,6298		
18. IV.	9 800	930	6,0872	9,6348	0,6317		
19. IV.	9 720	715	4,1791	6,6066	0,6325		
20. IV.	9 600	445	5,1652	8,1536	0,6334		
21. IV.	9 600	690	4,3428	6,9552	0,6224		

Tabelle I (Fortsetzung).

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
22. IV.	9 600	740	5,6498	8,4952	0,6650	
23. IV.	9 600	560	5,1591	8,1536	0,6327	
24. IV.	9 850	515	4,4046	7,2100	0,6109	
25. IV.	9 900	640	4,3601	6,9888	0,6238	
26. IV.	9 900	480	3,7115	6,1824	0,6003	
27. IV.	9 900	775	3,7789	6,8512	0,5515	
28. IV.	9 900	275	3,6336	5,6322	0,6451	
29. IV.	9 950	730	6,6695	10,9354	0,6098	
30. IV.	10 000	510	4,0809	6,7116	0,6080	

Tabelle II. Hund II.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
4. X.	8200	720	3,294	5,040	0,601	Ovariexstirpation
5. X.	8150	1000	3,622	5,600	0,654	
6. X.	8000	860	3,816	5,538	0,689	
7. X.	7800	850	4,125	6,902	0,597	
8. X.	7850	760	2,555	4,256	0,603	
9. X.	8050	560	2,804	4,146	0,676	
10. X.	7700	350	2,070	3,283	0,630	
30. XI.	7550	830	3,073	5,810	0,5290	
5. XII.	7600	1000	4,063	7,000	0,5800	
7. XII.	7420	990	1,663	8,038	0,2068	
11. XII.	7750	1050	3,858	7,056	0,5468	← Kein Analysenfehler!
15. XII.	7550	850	4,045	7,140	0,5665	
20. XII.	7500	1000	3,504	4,200	0,8344	
24. XII.	7770	920	2,732	4,636	0,5894	
5. I.	7600	790	4,0462	8,1844	0,4944	
8. I.	7750	540	2,7437	5,0004	0,5487	
12. I.	7950	1000	4,0854	6,0000	0,6809	
16. I.	8170	760	3,5050	7,4480	0,4705	
20. I.	8150	930	3,4084	5,9892	0,5690	
26. I.	8300	780	4,1098	7,6440	0,5376	
29. I.	8250	1000	3,5427	7,2800	0,4866	
5. II.	8250	820	3,7347	6,1192	0,6103	
10. II.	8230	620	3,8812	6,7704	0,5732	
12. II.	8420	810	4,3383	7,0308	0,6162	← Wegen schlechten Essens freigelassen
8. III.	8050	570	4,0336	6,6636	0,6053	
13. III.	8100	440	4,9280	7,8848	0,6250	
20. III.	7850	710	2,8561	4,1758	0,6837	
21. III.	7950	770	3,9143	6,4680	0,6052	
29. III.	7950	635	3,3198	4,9784	0,6667	
30. III.	8000	585	4,0329	5,4054	0,7461	
1. IV.	8000	570	2,6415	4,0110	0,6585	
3. IV.	8150	700	4,2112	6,5140	0,6483	
4. IV.	8150	530	2,3648	3,9326	0,6013	
5. IV.	8200	590	4,2427	6,8558	0,6519	
6. IV.	8220	825	5,0400	8,0850	0,6246	

Durchschnitt C:N  
vom 1. bis 8. IV.:  
0,648



Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
7. IV.	8150	530	4,7398	7,1974	0,6585	
8. IV.	8300	550	3,6465	5,6980	0,6399	
9. IV.	8350	615	5,2668	8,4378	0,6242	
10. IV.	8350	400	4,6353	7,3360	0,6318	0,5 ccm Ovarienpräp. (subkutane Injektion)
11. IV.	8300	730	4,5916	7,4596	0,6157	Dasselbe
12. IV.	8340	610	4,5262	7,5152	0,6023	
13. IV.	8300	720	4,3200	7,0560	0,6122	
14. IV.	8450	490	4,9857	8,0948	0,6159	
15. IV.	8220	470	5,0642	8,2250	0,6157	10 ccm Ovarienpräp.
16. IV.	8300	425	5,1510	8,3300	0,6183	
17. IV.	8250	395	4,2723	6,3042	0,6776	
18. IV.	8220	550	4,2809	6,1600	0,6949	
19. IV.	8300	540	3,7908	5,8212	0,6512	
20. IV.	8300	350	4,6925	7,3500	0,6384	
21. IV.	8220	440	5,0133	7,8232	0,6418	
22. IV.	8220	790	5,6146	8,6268	0,6508	
23. IV.	8300	300	3,4086	5,5440	0,6148	
24. IV.	8300	715	4,0676	6,6066	0,6156	
25. IV.	8300	490	5,7303	9,4668	0,6053	
26. IV.	8350	530	3,6888	6,3070	0,5848	
27. IV.	8400	535	4,7420	7,7896	0,6087	
28. IV.	8400	530	5,2989	8,7556	0,6052	
29. IV.	8420	645	6,0196	8,6686	0,6943	
30. IV.	8400	770	5,2075	8,1928	0,6356	

Tabelle III. Kaninchen I, ♀.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
18. IV.	2820	435	1,210 23	0,7224	1,675	
19. IV.	2800	515	1,139 08	0,6489	1,755	
20. IV.	2800	585	1,256 52	0,8190	1,534	
21. IV.	2750	570	1,276 46	0,7980	1,599	
22. IV.	2800	695	1,997 77	1,3622	1,466	
23. IV.	2800	575	1,163 57	0,6440	1,806	
24. IV.	2700	—	—	—	—	Partus (2 Foetus)
25. IV.	2620	—	—	—	—	
26. IV.	2550	575	1,311 00	1,1270	1,163	
27. IV.	2600	520	1,338 48	0,7280	1,838	Blut- und Eiweiß- reaktion im Harn negativ
28. IV.	2600	490	1,173 29	0,6860	1,710	
29. IV.	2600	585	1,435 67	0,9828	1,461	
30. IV.	2600	555	1,141 13	0,7770	1,468	
1. V.	2550	435	1,027 47	0,8526	1,205	
2. V.	2560	660	1,421 64	1,1088	1,282	
3. V.	2520	510	1,090 38	0,9996	1,091	
4. V.	2500	480	1,025 76	1,0752	0,954	
5. V.	2500	425	1,061 65	0,9520	1,115	0,2 ccm Ovarienpräp. (subkutan)

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
6. V.	2520	350	0,812 05	0,5390	1,506	1,404
7. V.	2500	340	1,071 92	0,9520	1,126	
8. V.	2400	300	0,762 60	0,5880	1,296	
9. V.	2450	335	0,767 48	0,5159	1,487	
10. V.	2450	415	1,240 43	0,7422	1,698	
11. V.	2500	260	1,046 60	0,7988	1,310	

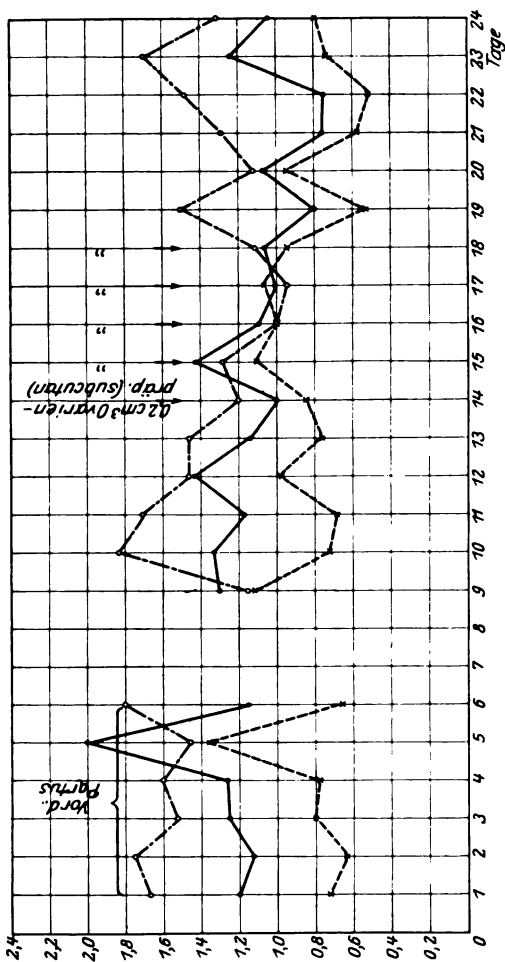


Abb. 1. Weibliches Kaninchen I.  
 O--O Harnquotient C:N (absolute Zahlen).  
 X--X Harn-N-Mengen (in g).

Tabelle IV. Kaninchen II, ♂.

Datum	Körpergewicht g	Harn ccm	C g	N g	C:N	Bemerkungen
30. IV.	2900	225	1,250 00	0,9450	1,322	
1. V.	2850	280	0,878 96	0,7056	1,245	
2. V.	2900	335	1,158 43	0,8442	1,372	
3. V.	2760	450	1,001 25	0,7560	1,324	
4. V.	2800	380	1,069 32	0,8512	1,256	
5. V.	2800	270	0,899 83	0,7560	1,190	
6. V.	2800	260	0,744 38	0,5824	1,278	
7. V.	2800	380	0,907 38	0,7448	1,218	
8. V.	2800	500	1,052 70	0,7000	1,504	
9. V.	2820	530	1,196 74	0,9646	1,237	
10. V.	2800	420	0,962 22	0,6468	1,487	
11. V.	2820	530	1,689 64	1,0388	1,626	
12. V.	2900	710	1,208 42	0,7952	1,645	
13. V.	2800	710	1,293 62	1,1928	1,084	
14. V.	2800	610	1,407 27	1,1956	1,177	

0,2 ccm Ovarienpräp. (subkutan)

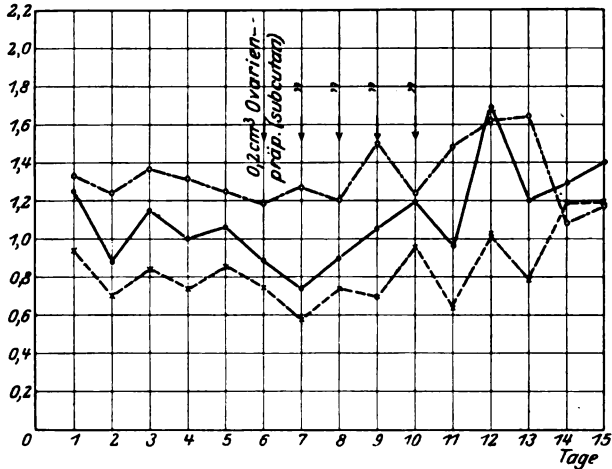


Abb. 2. Männliches Kaninchen II.

○-○ Harnquotient C : N (absolute Zahlen). — Harn-C-Mengen (in g).  
 ×-× Harn-N-Mengen (in g).

## Zur Kenntnis des Menschenfettes.

Von

Oktavian Wagner.

(Aus dem Institut für medizinische Chemie der Karls-Universität Prag.)

(Eingegangen am 28. Mai 1926.)

Die Literaturangaben über die Chemie des menschlichen Depotfettes basieren größtenteils auf den Untersuchungen von *Jäckle* (1), welcher in einer Reihe von Fällen die Konstanten des Fettes und die qualitative und quantitative Zusammensetzung des menschlichen Fettsäurengemisches festgestellt hat.

Eine in der Literatur meist nicht angegebene Zusammenstellung der Konstanten des Menschenfettes an einem großen Materiale befindet sich in der Arbeit *Wackers* (2), wo auch sowie bei *Jäckle* die ältere Literatur angegeben ist.

Von den genannten Autoren wurden folgende Konstanten des Menschenfettes von Erwachsenen gefunden:

	<i>Jäckle</i>	<i>Wacker</i>
Refraktometerzahl . . . . .	50,2—50,3	49,8—52,1
Verseifungszahl . . . . .	193,3—199,9	192,1—197,1
Jodzahl . . . . .	65,2—73,3	59,4—70,2
Innere Jodzahl . . . . .	82,8	—
Unverseifbares . . . . .	0,33 Proz.	0,2624—0,8688 Proz.
Cholesterin . . . . .	0,24 „	0,0769—0,6924 „
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	0,0064—0,0074 Proz.	—

Das Fettsäuregemisch besteht nach *Jäckle* aus Palmitin-, Stearin- und Ölsäure. Fettsäuren mit mehr als einer Doppelbindung sollen darin nicht vorkommen.

Im hiesigen Laboratorium wurden in einigen Fällen die Verseifungs- und die Jodzahlen zwecks Feststellung etwaiger Unterschiede bei verschiedenen Krankheitszuständen bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Alter:	50	58	—	57	43	41	36	—	52	25 Jahre
Geschl.:	♀	♀	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂
Diagn.:	Hämorrh. cerebr.	C <sub>2</sub> ventriculi	Cirrhosis Laenec	Paralysis progr.	Anaemia pern.	Pneumonie	Pneumonie	Appendicitis	Cirrhosis Laenec	Tumor renis.

Verseifungszahl.

|| 194,7 | 196,3 | 198,3 | 196,8 | 196,5 | 192,6 | 195,4 | 196,5 | 199,8 | 199,4

Jodzahl.

|| 63,3 | 70,41 | 68,5 | 66,6 | 64,07 | 66,7 | 62,37 | 65,4 | 69,9 | 65,3

Das Fett wurde aus dem Fettgewebe in derselben Weise wie von *Jäckle* (1) angegeben gewonnen. Das fein zerkleinerte Gewebe wurde auf dem Wasserbade ausgeschmolzen, mit getrockneten Filtrierpapierstreifen getrocknet und einige Male filtriert. Es wurden Subkutanfette zur Analyse genommen. Das Fett Nr. 9 (Tabelle II) ist ein Omentalfett und stammt von einer Operation an der hiesigen gynäkologischen Klinik. Die übrigen Fette wurden mir vom hiesigen Institut für pathologische Anatomie zur Verfügung gestellt.

Wie aus der Tabelle I ersichtlich, erhielt ich ähnliche Zahlen wie *Jäckle* und *Wacker*. Die Differenzen zwischen den niedrigsten und den höchsten Verseifungs- und Jodzahlen sind nicht einmal so groß wie bei manchen tierischen Fetten und Ölen. Zum Vergleich führe ich hier die betreffenden Konstanten von einigen tierischen und pflanzlichen Fetten an, die ich der Tabelle in *Königs* Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, Bd. III, Teil I, S. 418, entnommen habe.

	Verseifungszahl	Jodzahl
Kuhbutterfett . . . . .	219—233	26— 38
Rindsfett . . . . .	190—200	32— 48
Schweinefett . . . . .	195—200	46— 77
Oliveneröl . . . . .	185—196	79— 94
Sesamöl . . . . .	187—195	103—115

In Anbetracht dieser jedenfalls physiologischen Differenzen scheint es mir zu gewagt, die Schwankungen der Konstanten in einzelnen Fällen des Menschenfettes durch pathologische Einflüsse erklären zu wollen.

Bei der Bestimmung der inneren Jodzahl wurden aber Werte erhalten, die die Anwesenheit von Fettsäuren mit mehreren Doppelbindungen unzweifelhaft ließen.

Tabelle II.

Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alter:	41	43	41	58	25	75	40	5	38	50	54	65
Jahre	Jahre	Jahre	Jahre	Jahre	Jahre	Jahre	Jahre	Mon.	Jahre	Jahre	Jahre	Jahre
Geschl.:	♀	♀	♂	♀	♂	♂	♀	♀	♀	♂	♀	♀
Diagn.:	Peritonitis	Anaemia perniciosa	?	Ca ventriculi	Nephritis	Atherosclerosis	Sepsis post abortum	Pertussis	Hernia ventr.	Cirrhosis hepatis str.	Ca ventriculi	Hernia incarcer.

## Äußere Jodzahl.

|| 69,6 | 68,7 | — | 70,4 | 65,5 | 65,1 | 64,9 | 58,1 | 66,8 | 64,7 | 65,3 | 67,1

## Innere Jodzahl.

|| 105,8 | 98,8 | 98,5 | 100,1 | 95,4 | 99,7 | 98,1 | 94,4 | 99,4 | 103,6 | 95,2 | 98,3

Die Isolierung der flüssigen Fettsäuren geschah nach der Methode von *Tortelli* und *Ruggeri* (3). Diese Methode ist zwar mit demselben Fehler behaftet wie alle Bleisalzäthermethoden [Bildung von gemischten Salzen, wie z. B. Blei  $\begin{matrix} \text{Oleat} \\ \text{Stearat} \end{matrix}$  *Jäckle* (1)], nachdem aber das quantitative Auswaschen der Bleiseifenniederschläge wegfällt, erhält man mit dieser Methode flüssige Fettsäuren, die jedenfalls am wenigsten mit den festen Fettsäuren verunreinigt sind und deshalb die höchsten Jodzahlen liefern können. Ich habe nach der Methode von *Tortelli* und *Ruggeri* folgendermaßen gearbeitet:

10 (20) g Fett wurden verseift, die Seifenlösung mit Essigsäure neutralisiert (Phenolphthalein) und mit 10 (20) ccm einer siedenden 10proz. Bleiacetatlösung gefällt. Nach dem Abkühlen wurde die oberhalb der Bleiseifen stehende Flüssigkeit abgegossen und die Bleiseifen in derselben Weise noch dreimal mit warmem Wasser gewaschen. Die Bleiseifen wurden durch Abtupfen mit Filtrierpapier getrocknet und mit 150 (250) ccm Äther 20 Minuten am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt, wobei um gleichmäßige Verteilung der Bleiseifen im Äther gesorgt wurde. Nun wurde der Kolben wenigstens 4 Stunden im eiskalten Wasser stehengelassen und die Flüssigkeit in einem 100 (200) ccm fassenden Meßkolben filtriert. Der Kolben wurde bis hinauf mit Äther gefüllt und über die Nacht im Eis gekühlt. Nach dieser Zeit hat sich immer ein beträchtlicher Niederschlag ausgeschieden, von welchem in einen Scheidetrichter filtriert und die Bleiseifen mit 20proz. Salzsäure zerlegt wurden. Nach dem Trocknen der ätherischen Lösung über Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers im  $\text{CO}_2$ -Strome wurde die Jodzahl der Fettsäuren nach *Rosenmund* und *Kuhnemann* (4) bestimmt.

Die Ausführung der Methode weicht von der Vorschrift nur darin ab, daß die Kühlung nicht, wie angegeben wird, mit Leitungswasser von 8 bis 12°, sondern bei 0° vorgenommen wurde. Selbstverständlich ist die Jodzahl von der Kühlung in großem Maße abhängig. Bei Anwendung von noch tieferen Temperaturen erhält man viel höhere Jodzahlen.

Tabelle III.

Fett Nr. *)	Innere Jodzahl	
	Kühlung bei 0°	Kühlung bei - 10°
11	95,2	106,1
12	98,3	105,8

\*) Siehe Tabelle II.

Es bleibt natürlich unentschieden, inwieweit die angeführten Zahlen der tatsächlichen Jodzahl der flüssigen Fettsäuren entsprechen. Bei den meisten Trennungsvorfahren erhält man zu niedrige Jodzahlen. *Jäckle* (1) erhielt mit der Methode von *Farnsteiner* aus dem Menschenfett flüssige Fettsäuren von der Jodzahl 82,8. Dagegen scheinen die mit der Methode von *Tortelli* und *Ruggeri* besonders bei einer tieferen Kühlung erhaltenen Jodzahlen viel zu hoch zu sein, worauf ich noch zurückkommen werde. Jedenfalls aber dürfte diese verhältnismäßig bequem ausführbare Methode zum Nachweis von kleinen Mengen höher ungesättigter Fettsäuren geeignet sein.

Die Identifizierung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren wurde zuerst mittels der Bromderivate versucht. Nachdem sowohl in petrolätherischer wie in ätherischer Lösung unlösliche Bromderivate entstehen, mußte eine Säure mit mindestens drei Doppelbindungen angenommen werden.

Die von dem Unverseifbaren befreiten Gesamtfettsäuren wurden in Äther gelöst und unter Eiskühlung mit einem Brom-Äthergemisch tropfenweise bis zur bleibenden Bromfärbung versetzt und die Fällung nach mindestens eintägigem Stehen am Eis abzentrifugiert und in der Zentrifuge mehrmals mit Äther, Eisessig, Wasser und Alkohol gewaschen. Das rein weiße Produkt verhielt sich bei der Schmelzpunktsbestimmung wie ein Oktobromid (Schwärzung gegen 200°, unscharfes Schmelzen etwa bei 225°). Es handelt sich offenbar um das Oktobromderivat der Arachidonsäure, die von *Hartley* (5) im Organfett des Menschen gefunden worden ist.

Die Brombestimmung ergab 67 Proz. Br, nach weiterer Reinigung mit Äther und Extraktion mit heißem Benzol 67,7 Proz. Br, berechnet für  $C_{20}H_{32}O_2Br_8$  67,75 Proz. Br.

Die durch Benzol extrahierte kleine Menge kristallinischer Substanz reichte nicht aus, um das Linolensäurehexabromid, welches in dieser Fraktion enthalten sein müßte, zu identifizieren.

Bei der quantitativen Bestimmung der Arachidonsäure wurde der in der beschriebenen Weise erhaltene Niederschlag im Berliner Filtrationsiegel gesammelt, oder, was viel vorteilhafter erscheint, im tarierten Zentrifugierrohr nach *Laurenze G. Wesson* (6) mit Äther, Eisessig, Alkohol gewaschen, dann über Nacht mit konzentrierter Salzsäure

stehengelassen, wieder mit Wasser und Alkohol gewaschen und bei 100 getrocknet und gewogen.

Es wurden folgende Zahlen erhalten:

Tabelle IV.

Fett Nr.*):	8	10	11
Octobromid . . . . .	0,93	0,98	1,006
Daraus berechnete Arachidonsäure	0,2998	0,316	0,3245

\*) Siehe Tabelle II.

Bei der Bromierung in Petroläther Kp. bis 60° wurde ein viel reichlicherer Niederschlag erhalten. Nachdem in Petroläther sowohl Tetra- wie Hexa- und Oktobromide unlöslich sind, wogegen das Tetra- bromid in Äther leicht löslich ist, kann die Differenz zwischen der Fällung in petrolätherischer und ätherischer Lösung nur durch Tetra- bromid verursacht sein. Es wurde gefunden in 100 g von einem und demselben Fette:

Gesamtbromide . . . . .	2,1523 g
Ätherunlösliche Bromide (Oktobromid)	1,006 g
Differenz (Tetrabromid) . . . . .	1,1463 g

Daraus läßt sich der Gehalt an Arachidonsäure zu 0,3245 g und der der Linolsäure zu 0,535 g in 100 g des Gesamtfettes be- rechnen.

Bereits nachdem die oben geschilderten Versuche beendet waren, kam mir die Arbeit *Ecksteins* (7) in die Hände, die dasselbe Thema behandelt und die in einem mir schwer zugänglichen Journal erschienen ist. Meine, teilweise auf anderem Wege, erhaltenen Resultate stimmen mit denen *Ecksteins* überein. *Eckstein* isolierte die ungesättigten Fett- säuren des Menschenfettes durch Extraktion der Bariumseifen mit Benzol, wobei auch ein Teil der Ölsäure in Lösung geht, und durch fraktionierte Destillation der Methylester der Fettsäuren. Die Identifi- zierung der einzelnen höher ungesättigten Fettsäuren geschah mittels der Bromderivate, und es wurde die Arachidon-, Linol- und Linolen- säure nachgewiesen. Die quantitative Abschätzung der Arachidonsäure und Linolsäure in meinen Versuchen stimmt mit den Resultaten *Ecksteins* überein. *Eckstein* fand: Arachidonsäure 0,35 Proz., Linol- säure 0,5 Proz., Linolensäure 0,033 Proz., berechnet auf das Gesamtfett. Nachdem ein Teil der Linolsäure ein flüssiges Tetrabromid liefert, ist die Methode nicht quantitativ.

Bei einem Versuch, die Zusammensetzung der flüssigen Fettsäuren quantitativ festzustellen, kam ich zu folgendem Resultat:



	Proz.	Jodzahl
Arachidonsäure . . . . .	2,16	7,21
Linolsäure . . . . .	4,00	7,25
Ölsäure, berechnet aus der Differenz . . . . .	93,84	84,39
Summe	100,00	98,85]

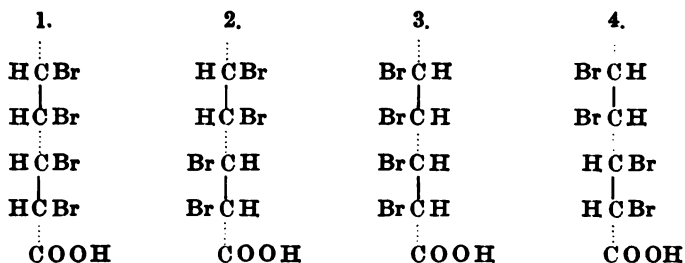
Die direkte Bestimmung der Jodzahl der flüssigen Fettsäuren ergab 106,1. Es besteht also zwischen der tatsächlich gefundenen und der berechneten Jodzahl eine Differenz von 7,25. Es gelang nicht, durch weiteres Abdampfen der petrolätherischen Lösung weitere Portionen von Tetrabromid zur Kristallisation zu bringen. Nachdem die petrolätherische Lösung mit Thiosulfat und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet wurde, hinterließ sie nach dem Verjagen von Petroläther einen flüssigen, gelb gefärbten Rückstand, welcher 40,3 Proz. Brom enthielt, wogegen für die reine Dibromstearinsäure nur 36,18 Proz. Brom berechnet wurde.

Die nächstliegende Erklärung ist die Bildung eines flüssigen Tetrabromids, welches ja immer bei der Bromierung der Linolsäure neben dem kristallinen Tetrabromid entsteht [*Rollet* (8)]. Nach der Entbromung des Rückstandes, welche nach *Laurence G. Wesson* (6) ausgeführt wurde (Erhitzen der Substanz in alkoholischer Lösung 4 Stunden am Rückflußkühler mit verkupferten Zink), wurden die Säuren in petrolätherischer Lösung von neuem bromiert. Es entstand eine Fällung, die bis auf einen ganz geringen Rückstand in Äther löslich war. Sie bestand also größtenteils aus Tetrabromid. Der in Äther unlösliche Rückstand, dessen Menge gerade nur zur Schmelzpunktsbestimmung ausreichte, verhielt sich beim Schmelzen wieder wie ein Oktobromid.

Bei einer Säure mit vier Doppelbindungen wäre eine Isomerie der Bromderivate, wie sie von *Rollet* für die Linolsäure angenommen wird, nicht unwahrscheinlich. Es wären natürlich weitere Versuche über das Verhalten der Arachidonsäure beim Bromieren nötig, um eine derartige Isomerie der Oktobromarachidinsäure annehmen zu können.

Berechnet man nach der Formel  $x = \frac{100 \cdot J_a}{J_i}$ , in welcher  $J_a$  die äußere,  $J_i$  die innere Jodzahl bedeutet, die Menge der flüssigen Fettsäuren im Gesamtfett und rechnet die bei der obigen Analyse erhaltenen Resultate auf das Gesamtfett um, so kommt man zu folgenden Zahlen: Arachidonsäure 1,3 Proz., Linolsäure 2,4 Proz., wogegen bei direkter Bestimmung nur 0,3 bzw. 0,54 Proz. gefunden wurde. Diese Differenz ließe sich so erklären, daß bei der tieferen Temperatur, der die ätherische Lösung der Bleiseifen ausgesetzt wurde, ein größerer Teil der Ölsäure wahrscheinlich als gemischtes Bleisalz ungelöst geblieben ist, wodurch die höher ungesättigten Fettsäuren in der Lösung angereichert wurden.

Die erwähnte Bildung von flüssigem Tetrabromid erklärt *Rollet* in einfacher Weise so, daß beim Bromieren einer Doppelbindung Cis- und Transformen entstehen, von denen wieder jede ein Gemisch von zwei optischen Isomeren darstellt. „Bei der Linolsäure, die ja zwei Doppelbindungen enthält, liegt der Fall noch komplizierter. In der willkürlichen Voraussetzung, daß die Linolsäure bezüglich beider Doppelbindungen der Cisformel entspricht, kann man von derselben folgende vier Tetrabromide ableiten:



Wie leicht ersichtlich, stellen Abb. 1 und 3 einerseits, sowie Abb. 2 und 4 andererseits je zwei Paare optisch aktiver Antipoden dar, zwei Paare, welche untereinander chemische Isomerie zeigen müssen. Es besteht im Sinne der Theorie also die Möglichkeit, daß beim Bromieren der Linolsäure, auch wenn sie einheitlich ist, zwei Körper entstehen, von denen jeder wiederum in zwei optisch aktive Komponenten spaltbar sein muß.“

Ähnliche Mannigfaltigkeit zeigen auch die Oxyderivate der Linolsäure, die Sativinsäuren. Der Schmelzpunkt der Sativinsäure wird gewöhnlich zu 173° angegeben. Es wurden aber auch Präparate mit niedrigerem Schmelzpunkt erhalten. *Meyer* und *Beer* (10) erhielten bei der Analyse des Öles aus *Datura stramonium* Fraktionen der Sativinsäure, die bei 162 bis 163° konstant schmolzen, so daß sie diese Fraktion für eine selbständige Modifikation der Sativinsäure erklärt haben. Zur Darstellung der Sativinsäure aus dem Menschenfett wurden die Gesamtfettsäuren aus 100 g Fett nach *Hazura* (11) mit Kaliumpermanganat oxydiert. Nach 10 Minuten wurde bis zur völligen Lösung des Mangandioxyds und deutlich saurer Reaktion Schwefeldioxyd eingeleitet und die ausgeschiedenen Säuren abgesaugt. Das Oxyfettsäurengemisch wurde getrocknet und 12 Stunden mit Petroläther und weitere 12 Stunden mit Äther im Soxhletapparat extrahiert. Der in Äther und Petroläther unlösliche Rückstand wurde aus heißem Wasser und dann aus 30proz. Alkohol umkristallisiert. Es wurden Fraktionen vom F.-P. 155 und 156 erhalten, die vereinigt und noch zweimal aus 30proz. Alkohol umkristallisiert wurden. Der Schmelzpunkt stieg auf 162° und ließ sich

durch weiteres Umkristallisieren nicht mehr erhöhen. Die Neutralisationszahl stimmte für die Sativinsäure: gefunden 160,4, berechnet für  $C_{18}H_{36}O_6$  160,7.

Über die Bindungsart der Fettsäuren im menschlichen Fette liegt meines Wissens nach nur eine Untersuchung von *Partheil* und *Ferie* (1) vor, nach welcher im Menschenfett das Tripalmitin und das Dioleostearin vorkommen sollen. Nach den Untersuchungen *Bloors* (13) sind die höher ungesättigten Fettsäuren im Blutplasma als Cholesterinester gebunden. Beim Bromieren des Fettes in ätherischer Lösung wurde ein Niederschlag erhalten, welcher nach bisheriger Reinigung 52,5 Proz. Br aufwies. Die Substanz schmilzt unter Schwärzung und Zersetzung bei 225°. Mit Rücksicht auf die erwähnten Untersuchungen *Bloors* wäre der Gedanke nahe, daß es sich um den Ester des Cholesterins und der Arachidonsäure handelt, dessen theoretischer Bromgehalt 54,6 Proz. beträgt.

#### Zusammenfassung.

Die Jodzahl der flüssigen Fettsäuren des menschlichen Depotfettes, die nach der Methode von *Tortelli* und *Ruggeri* isoliert wurden, erreicht bei der Eiskühlung der ätherischen Lösung der Bleiseifen den Mittelwert von 100.

Von Säuren mit mehreren Doppelbindungen wurde die Arachidonsäure als Bromderivat und die Linolsäure als Oxyderivat nachgewiesen. Die Menge der als Bromderivat gefällten Arachidonsäure beträgt in der Mitte 0,3 Proz., die der Linolsäure 0,54 Proz. des Gesamtfettes. Die aus dem Menschenfett dargestellte Sativinsäure schmolz bei 162°.

Die Resultate stimmen mit denen *Ecksteins* überein. Der Nachweis der Linolensäure, welche nach *Eckstein* im Menschenfett in kleiner Menge (0,03 Proz.) vorkommt, konnte wegen Materialmangel nicht durchgeführt werden.

#### Literatur.

- 1) *Jäckle*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 53, 1902. —
- 2) *Wacker*, ebendasselbst **78**, 349, 1912. — 3) *Tortelli* und *Ruggeri*, zitiert nach Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, T. 6, S. 425. — 4) *Rosenmund* und *Khunhenn*, ebendasselbst S. 400. — 5) *Hariley*, Journ. of Physiol. **38**, 353, 1909. — 6) *Laurenze G. Wesson*, Journ. of biol. Chem. **60**, 183, 1924; zitiert nach Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. I, T. 6, S. 815. — 7) *Eckstein*, Journ. of biol. Chem. **64**, 797, 1925. — 8) *Rollet*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 410, 1909. — 9) *Matthes* und *Boltze*, Arch. Pharm. **250**, 225, 1919. — 10) *Meyer* und *Beer*, Monatsh. f. Chem. **33**, 326, 1912. — 11) *Hazura*, zitiert nach Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. I, T. 6, S. 448. — 12) *Partheil* und *Ferie*, Arch. Pharm. **241**, 561, 1903. — 13) *Bloor*, Journ. of biol. Chem. **59**, 24, 1924; zitiert nach Ber. d. ges. Physiol. **26**, 91, 1924.

## Zur Biochemie des Asymmetrieproblems.

Von

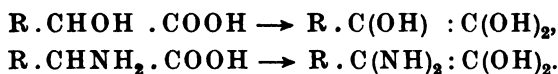
Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 9. Mai 1926.)

Von den drei Theoremen *Pasteurs* gewähren zwei die Möglichkeit, ein racemisches Gebilde in seine beiden optisch aktiven Komponenten aufzuteilen. Durch Auslese von Kristallen mit entgegengesetzt hemiedrischen Flächen (nach *Hauy*) kann man im Prinzip beide diastereomeren Antipoden isolieren und ebenso durch Kombination von racemischen Säuren mit aktiven Basen, bzw. durch Paarung racemischer Basen mit aktiven Säuren. Die letztgenannte Methode ist später (1903) von *Neuberg* erweitert worden, indem er durch die Anwendung optisch aktiver Hydrazine zur Zerlegung racemischer Carbonylkörper (Aldehyde und Ketone) gelangte, ferner durch Ausbau eines von demselben Autor gemachten Vorschlages, zu dem gleichen Zwecke (*Votoček*, 1914) die Bildung von Mercaptalen mit optisch aktiven Alkylsulfhydraten zu verwenden. Alle diese Methoden liefern im Idealfalle die Hälfte des racemischen Ausgangsmaterials an jedem der beiden Spiegelbild-isomeren. Die dritte Methode *Pasteurs*, die biochemische, führt an sich lediglich zu einer der beiden Komponenten, indem durch spaltende Wirkung eingesäter Mikroorganismen im günstigsten Falle der eine Bestandteil des Racemats schneller verbraucht wird als der andere. Arbeitet man nicht mit lebenden Erregern, sondern mit Enzympräparaten, so können bei zusammengesetzten abbaufähigen Racematen unter Umständen beide Komponenten gefaßt werden, die eine in freier Form, die andere in der ursprünglichen Bindungsart. Die asymmetrische Zerlegung etwa des d,l- $\beta$ -Methylglucosids durch Emulsin (*E. Fischer*, 1895) in d-Glucose + Methylalkohol unter Erhaltung des l- $\beta$ -Methylglucosids, der entsprechende Abbau von racemischen Polypeptiden (*E. Fischer*, *Bergell* und *Abderhalden*, 1905), ferner die einfache Hydrolyse des Benzoyl-d,l-alanins in d-Alanin + Benzoesäure unter Konservierung des Benzoyl-l-alanins (*Neuberg* und *Linhardt*, 1924) exemplifizieren diese Verhältnisse. Weiterhin war es möglich, die biochemische Bildung aktiver Körper aus strukturell inaktiven Derivaten zu erreichen, ohne daß hierbei die Stufe des Racemats durchlaufen und ohne daß

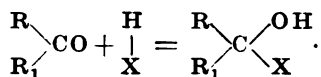
dessen einer Bestandteil sekundär vernichtet wird. Diese Fälle sind bei der auch enzymatisch ausführbaren phytochemischen Reduktion von Ketonen und Di-ketonen verwirklicht (*Neuberg und Nord, Neuberg und Kobel, 1919 und 1925*). Hier wird die Hydrierung direkt asymmetrisch vollzogen, und sie liefert einen der beiden Antipoden. Diese Erscheinung kann an sich nicht mit den Vorgängen der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit in Zusammenhang gebracht werden, die sich bei der Umsetzung racemischer Gebilde mit irgendwelchen optisch aktiven Stoffen geltend machen; denn hier reagieren keine Antipoden; der Prozeß spielt sich vielmehr, wenigstens formal, am strukturell inaktiven Keton ab. Man wird aber annehmen dürfen, daß aus diesem durch Anlagerung von Bestandteilen des Fermentmaterials intermediär Racemate entstehen, oder daß sich aus dem Carbonylkörper durch die wie auch immer geartete Vereinigung mit der asymmetrischen Enzymsubstanz eine direkt sterisch gerichtete Kombination bildet<sup>1)</sup>. Läßt man diese Annahme zu, so würden die biochemischen Befunde allerdings in Parallele treten zu den Ergebnissen von *Marckwald* und *Mc Kenzie* (1901) über eine neue Art der Erzeugung von optisch aktiven Körpern aus Racematen auf Grund der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeiten, die jeder der Antipoden in Wechselwirkung mit ein und demselben asymmetrischen Gebilde besitzen kann. In gewissen Fällen ist bei diesem rein chemischen Vorgehen die quantitative Umwandlung eines optischen Antipoden in den anderen möglich, wenn nämlich eine intermediäre Racemisierung über Zwischenstufen stattfindet, etwa bei Oxy- und Aminosäuren im Sinne der Formulierung:



Ähnliche Umstände bedingen die bedeutsamen Ergebnisse, die *Leuchs* (1913, 1921) bei der einseitigen asymmetrischen Umlagerung in der Spiranreihe erzielt hat; hier besorgt eine Keto-Enol-Desmotropie die intermediäre Autoracemisation, die dem Kristallisationsvorgange voraneilt.

Ungelöst war bisher die Aufgabe, auf biochemischem Wege nach Belieben in praktisch 100proz. Ausbeute zur Rechts- oder Linksform eines optisch aktiven Gebildes von einer strukturell inaktiven Substanz aus zu gelangen. Dieses Ziel habe ich erreicht durch ungefähr 100proz.

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die Ausführungen *Neubergs* über die sogenannten passager aktiven Substanzen, diese Zeitschr. 51, 503, 1913:



# Zur Biochemie des Asymmetrie

Von

Paul Mayer (Karlsb.)

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für

(Eingegangen am

Von den drei Theoremen *Past*

ein racemisches Gebilde in seine aufzuteilen. Durch Auslese von *F* schen Flächen (nach *Hauy*) ke Antipoden isolieren und eben Säuren mit aktiven Base mit aktiven Säuren. Die *Neuberg* erweitert wor

aktiver Hydrazine zur und Ketone) gelang gemachten Vorschlungung von Mercapwerten. Alle d mischen Aus Die dritte M zu einer d erheblichen Druck bemerkbar gemacht, herrührend gesäter Kohlendioxyd.

Racem mit Anfangsvolumen 1010 ccm betrug, zentrifugiert und dann noch K Wasserbad zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen und mit Phosphorsäure angesäuert wurden. Von den nun vorhandenen 150 ccm der Flüssigkeit wurde ein aliquoter Teil abfiltriert und siebenmal mit viel Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet; nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels hinterblieb eine mit etwas ölgiger Substanz verunreinigte Kristallmasse, die nach Umkristallisieren aus Wasser mit wenig Tierkohle reine lävogyre Mandelsäure in einer Ausbeute

<sup>1)</sup> Wegen der Bezeichnung siehe *K. Freudenberg, F. Brauns und H. Siegel, B. 56, 193, 1923.*

p. Mayer: Zur Biochemie des Asymmetrieproblems

Zur Biochemie des Asymmetrieproblems.

P. Mayer: Zur Biochemie des Asymmetrieproblems.  
bestandteil sekundär vermindert wird. Diese Fälle sind bei  
misch ausföhrlichen phytochemischen Reduktion von  
ketonen verwirklicht (Newberg und Nord, Newberg und  
Hier wird die Hydrierung direkt asymmetrisch  
einen der beiden Antipoden. Diese Er-  
gebnisse mit den Vorgängen der verschiedenen  
Zusammenhang gebracht werden, die sich  
gebilde mit irgendwelchen optisch  
hier regieren keine Antriebs-  
nahmen darstellen, am besten  
sind die  
die

mit Lactobakterien.

her Weise ausgeführt  
eine Reinkultur von  
Substanz, benutzt  
Hydrazin-acetat  
ebenen Weis  
Mandelsäure  
kristallisa  
die  
+ 6  
pro

421

...-Präparat von Lacto

... Anordnung vorgenommener  
... 1,0g Calciumcarbonat, 1,5g Phenylglyo  
... präparat von Lactobakterien S 48a<sub>3</sub> und 10 cc  
... im Stehen bei 37° war die Osazonprobe negat  
... in der üblichen Weise führte zu dextrogyrer  
... Ausbeute von 97 Proz. Nach Umkristallisation  
... Schmelzpunkt 125 bis 126° und die Drehung [ $\alpha$ ]  
... cm,  $c = 2,416$  und  $a = + 6,30^{\circ}$ ).

Wiederholung dieses Versuchs mit 7,7 g Tro  
... Mandelsäure in einer Ausbeute von 96  
... [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = + 129,24° ( $l = 2$  cm,  $c = 2,47$   
... Umkristallisation aus Benzol l  
... unverändert.

... einer  
... Drehung reiner Mandelsäure wurde ferner du  
... Vorliegend Mandelsäure (0,001 Mol) verbrauchten

... tellungen bilden zugleich einen neuen  
... Ketonaldehydmutase in Essigsäure-

Die  
lieferte 1  
punkt 12  
Auch na  
punkt  
Die  
bestät  
n/10  
F. Brause

Umwandlung von *Phenylglyoxal* einmal in Linksmandelsäure, das andere Mal in Rechtsmandelsäure:  $C_6H_5 \cdot CO \cdot COH \rightarrow d\text{- bzw. } l\text{-}C_6H_5 \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot COOH$ . Einfach durch Auswahl des Biokatalysators aus zwei verschiedenen Mikroorganismengruppen gelang die Durchführung. Mit Präparaten des Essigbildners *Bacterium ascendens* konnte ich Phenylglyoxal nahezu quantitativ in völlig reine d(-)-Mandelsäure<sup>1)</sup> überführen, mit Zubereitungen des Lacto-Bazillus S 48a<sub>3</sub> dagegen entsprechend in fast reine l(+)-Mandelsäure. Auch wenn man mit *Neuberg* annimmt, daß in dem Phenylglyoxal-hydrat ein Racemat etwa von der Struktur  $C_6H_5 \cdot \overset{*}{C}(OH) \cdot \overset{*}{C}H(OH)$  vorgebildet ist, so ändert

sich nichts an den wesentlichen Ergebnissen, weil es sich auch in diesem Falle um die einseitige, angenähert vollkommene Umwandlung eines inaktiven Gebildes jeweils in eine seiner aktiven Komponenten handelt. Der Prozeß erfolgt ohne Kristallisation in wässrigen Lösungen.

#### *Auszüge aus den Protokollen.*

##### 1. Ansatz mit *Bacterium ascendens*.

In die Suspension von 10 g sterilen Calciumcarbonats und einer Reinkultur von *B. ascendens*, entsprechend 18,9 g Trockensubstanz, in 950 ccm Wasser wurde mit Permanganat gewaschene Kohlendensäure bis zur Sättigung eingeleitet; dann wurde 1,5 g Phenylglyoxal, gelöst in 50 ccm keimfreien Wassers, hinzugefügt, das Gefäß paraffiniert und bei 37° aufbewahrt. Nach 24 Stunden zeigte eine entnommene Probe keine Osazonreaktion mehr, und die Bildung der Mandelsäure hatte sich schon an einem erheblichen Druck bemerkbar gemacht, herrührend von frei gewordenem Kohlendioxyd.

Die Aufarbeitung geschah nun in der Weise, daß der gesamte Ansatz, dessen Anfangsvolumen 1010 ccm betrug, zentrifugiert und dann noch filtriert wurde. So wurden 950 ccm Lösung erhalten, die auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen und mit Phosphorsäure angesäuert wurden. Von den nun vorhandenen 150 ccm der Flüssigkeit wurde ein aliquoter Teil abfiltriert und siebenmal mit viel Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet; nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels hinterblieb eine mit etwas öliger Substanz verunreinigte Kristallmasse, die nach Umkristallisieren aus Wasser mit wenig Tierkohle reine lävogyre Mandelsäure in einer Ausbeute

<sup>1)</sup> Wegen der Bezeichnung siehe *K. Freudenberg, F. Brauns* und *H. Siegel*, B. 56, 193, 1923.



von 95 Proz. der Theorie lieferte. Nach Umkristallisation aus Benzol war der Schmelzpunkt 132 bis 133° und die Drehung einer 2,492proz. wässrigen Lösung im 2-dcm-Rohr  $\alpha = -7,62^\circ$ , d. h.  $[\alpha]_D = -152,9^\circ$ . Da nach den Angaben der Literatur der Schmelzpunkt der Linksmandelsäure 132 bis 133° und  $[\alpha]_D = -153,3^\circ$  ist, war hier reine d(-)-Mandelsäure entstanden.

## 2. Ansatz mit Lactobakterien.

Dieser Versuch wurde in gleicher Weise ausgeführt, wie Ansatz 1, nur wurde hier als Fermentmaterial eine Reinkultur von Lactobazillen S 48a<sub>3</sub>, entsprechend 6,51 g Trockensubstanz, benutzt. Als nach 20 Stunden die Probe mit p-Nitro-phenylhydrazin-acetat negativ ausfiel, wurde die Aufarbeitung in der schon beschriebenen Weise vorgenommen. Die aus heißem Wasser umkristallisierte Mandelsäure wurde in einer Ausbeute von 96 Proz. erhalten. Nach Umkristallisation aus Benzol schmolz die Substanz bei 125 bis 126°, und die Drehung einer 2,461proz. Lösung im 2-dcm-Rohr war  $\alpha = +6,33^\circ$ , d. h.  $[\alpha]_D = +128,6^\circ$ . Es liegt also hier eine etwa 84proz. l(+)-Mandelsäure vor.

## 3. Ansatz mit Aceton-Trocken-Präparat von Lactobakterien.

Ein in der gewohnten Anordnung vorgenommener Versuch enthielt 1000 ccm Wasser, 10 g Calciumcarbonat, 1,5 g Phenylglyoxal, 7,2 g Aceton-Trocken-Präparat von Lactobakterien S 48a<sub>3</sub> und 10 ccm Toluol. Nach dreitägigem Stehen bei 37° war die Osazonprobe negativ, und die Aufarbeitung in der üblichen Weise führte zu dextrogyrer Mandelsäure in einer Ausbeute von 97 Proz. Nach Umkristallisation aus Benzol war der Schmelzpunkt 125 bis 126° und die Drehung  $[\alpha]_D = +130,4^\circ$  ( $l = 2$  dcm,  $c = 2,416$  und  $\alpha = +6,30^\circ$ ).

Die *Wiederholung dieses Versuchs* mit 7,7 g Trocken-Bakterien lieferte l(+)-Mandelsäure in einer Ausbeute von 96 Proz. Schmelzpunkt 125 bis 126°;  $[\alpha]_D = +129,24^\circ$  ( $l = 2$  dcm,  $c = 2,476^\circ$ ,  $\alpha = +6,40^\circ$ ). Auch nach einer zweiten Umkristallisation aus Benzol blieben Schmelzpunkt und Drehung unverändert.

Das Vorliegen reiner Mandelsäure wurde ferner durch die Titration bestätigt.

0,1522 g Mandelsäure (0,001 Mol) verbrauchten genau 10,0 ccm n/10 Na OH.

---

Diese Feststellungen bilden zugleich einen *neuen Beweis für das Vorkommen von Ketaldehydmutase in Essigsäure- und Milchsäure-*

*bakterien*; ihrer Anwesenheit an diesen Stellen ist schon früher<sup>1)</sup> kurz Erwähnung getan. Auf die prompte Dismutationswirkung des *Lactobazillus* ist um so größerer Wert zu legen, als dextrogyre Mandelsäure sicher nicht als ein Körperbestandteil oder Stoffwechselprodukt der Milchsäurebazillen auftritt und ihre glatte Bildung durch das Bakterienenzym das Walten der Ketonaldehydmutase außer allen Zweifel setzt, ja noch viel deutlicher demonstriert, als dieses durch die bakterielle Überführung von Methylglyoxal in Milchsäure bereits geschehen ist.

---

<sup>1)</sup> Klin. Wochenschr. 4, 598, 1925; Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Beiheft zu Band 97, 11, 1925; diese Zeitschr. 166, 457, 1925.

## Über die Einwirkung des Sauerstoffs auf den Verlauf der alkoholischen Zuckerspaltung.

Von

Günther Gorr und Genia Perlmann.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 11. Mai 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Einwirkung des Sauerstoffs auf die alkoholische Zuckerspaltung und den Organismus, der sie vorwiegend auslöst, die Hefe, ist vielfach Gegenstand der Untersuchungen gewesen, seitdem die Gärungsforschung auf eine wissenschaftliche Grundlage gestellt worden ist. Die Gewinnung der Hefe nach dem Lüftungsverfahren bildet eine technisch bedeutsame Seite dieses großen Fragenkomplexes, und da bekanntlich bei der Hefenzucht aus den Kohlehydraten der Nährlösung zugleich Alkohol gewonnen wird, so ist auch in diesem Zusammenhange der Einfluß des Sauerstoffs auf den mit der Hefenerzeugung gleichzeitig sich vollziehenden Ablauf einer alkoholischen Gärung von Interesse.

Zu dem rein wissenschaftlichen Problem der Beeinflussung der alkoholischen Zuckerspaltung durch Sauerstoff liegen, seitdem *Pasteur* diesem Gegenstand eingehende Beachtung geschenkt hat im Hinblick auf seine Theorie „la fermentation est la vie sans air“, eine nicht geringe Anzahl von Beiträgen vor. *Pasteur* selbst hatte vermutet, daß die Hefe in Sauerstoffgegenwart ihre scheinbar streng anaerobe Tätigkeit einschränke und, statt zu gären, atmet, d. h. Zucker komplett verbrenne. Er hat jedoch einen solchen Effekt mit der damaligen Methodik nicht eindeutig nachzuweisen vermocht. *Schützenberger* sowie *Buchner* waren ebenfalls nicht imstande, einen Einfluß des Sauerstoffs auf die Gärleistung der Hefe festzustellen; die *quantitativen* Zusammenhänge sind erst neuerdings durch *Meyerhof* aufgeklärt.

Durch die Untersuchungen des letztgenannten Autors sowie durch solche von *Warburg* weiß man<sup>1)</sup>, daß der Sauerstoff einen wesentlichen Einfluß nicht allein auf die Bildung von Milchsäure im Muskel von Kalt- und Warmblütern ausübt, sondern auch auf die Vorgänge der Glykolyse in verschiedenen Geweben höher und niedriger entwickelter Organismen. Es zeigte sich, daß der Sauerstoff stets ein bestimmtes Mehrfaches, nämlich das Drei- bis Sechsfache derjenigen Menge Spaltprodukte, die durch ihn oxydiert werden können, zum Verschwinden bringt, und zwar konnte für den speziellen Fall des Muskels gezeigt werden, daß dieses „Zum-Verschwinden-bringen“ in einer Resynthese des Spaltprodukts zu Kohlehydrat, mit anderen Worten, in einer Umkehrung der abbauenden Vorgänge besteht.

In Fortführung dieser Untersuchungen vermochte jüngst *Meyerhof* einen analogen Einfluß des Sauerstoffs auch auf die Hefengärung nachzuweisen<sup>2)</sup>. Er zeigte, daß die Anwesenheit von Sauerstoff auf die alkoholische Gärung von Zucker nicht nur in qualitativer Hinsicht, sondern auch in quantitativer Beziehung in gleicher Weise wie auf die Spaltung von Zucker in Milchsäure einwirkt. Bei Anwesenheit von Sauerstoff atmet die Hefe. Hierbei bringt ein Molekül veratmeten Sauerstoffs einen Gärumsatz zum Verschwinden, der  $1\frac{1}{2}$  bis 2 Kohlenäuremolekülen entspricht, oder mit anderen Worten: Es werden durch die Oxydation von 1 Molekül Zucker 4 bis 6 andere Zuckermoleküle vor der Vergärung geschützt. Die Wichtigkeit dieser Gesetzmäßigkeit liegt darin, daß der Quotient völlig unabhängig ist von dem Verhältnis der Gärungs- zur Atmungsgröße, das bei verschiedenen Hefenrassen um mehr als den 30fachen Betrag schwanken kann. Während die Atmungsgröße in Traubenzuckerlösung bei Preßhefe (Brennerei- und Bäckerhefe) bis auf den  $Q_{O_2}$ -Wert = 100 steigt, beträgt dieser Ausdruck unter denselben Bedingungen bei den Brauereihefen nur 10 bis 20.  $Q$  bedeutet hierbei die Kubikmillimeter des als Index angegebenen, von 1 mg Trockensubstanz Hefe in 1 Stunde bei 28° verbrauchten bzw. gebildeten Gases. Die Gärungsgrößen obiger beiden Typen von Hefen, in einer Stickstoffatmosphäre gemessen, sind dagegen, durch den  $Q_{CO_2}$ -Wert ausgedrückt, annähernd gleich, nämlich = 200 bis 300.

Im Gegensatz zur Vergärung mittels Preßhefe wird also wegen des stets konstanten Verhältnisses:

vor der Spaltung bewahrte bzw. rückverwandelte Zuckeräquivalente  
 oxydierte Zuckeräquivalente

<sup>1)</sup> Vgl. Zusammenf. Ergebn. d. Physiol. 22, 328, 1923; ferner *O. Meyerhof* und *E. Himwich*, Pflügers Arch. 205, 415, 1924; *O. Warburg*, *K. Posener* und *E. Negelein*, diese Zeitschr. 152, 309, 1924; *O. Meyerhof* und *P. Finkle*, Chem. d. Zelle u. Gewebe 12, 157, 1925.

<sup>2)</sup> *O. Meyerhof*, diese Zeitschr. 162, 43, 1925.

beim Arbeiten mit Brauereihefen die hier verhältnismäßig kleine Atmung nur einen geringen Bruchteil des Gärungsumsatzes zum Verschwinden bringen. Dies gibt *Meyerhof* als Grund dafür an, daß die älteren Autoren den Effekt übersahen oder nicht haben feststellen können.

Schon bei Benutzung von Preßhefe zeigt sich — im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Bierhefe — der vermindernde Einfluß des Sauerstoffs auf die Ausbeuten an Alkohol und Kohlendioxyd. Ganz extreme Verhältnisse lassen sich nach *Meyerhof* bei wilden Hefen, z. B. bei der *Torula*, nachweisen, die in Zuckerlösung den enorm hohen Wert  $Q_{O_2} = 200$  ergab, während der  $Q_{CO_2}$ -Wert in Stickstoff dem der Preßhefe glich. Die Atmung in Zuckerlösung ist hier so groß, daß die alkoholische Gärung in Sauerstoff fast ganz verschwindet und die Hefe dann praktisch nur noch atmet. Umgekehrt kann man, was zuerst *F. Hayduck* und *H. Haehn*<sup>1)</sup> gezeigt haben, die zymasearme *Torula*hefe durch Luftentziehung in zymasereiche, richtig gärende Hefe umwandeln.

Eine Abartung der Gärung unter dem Einfluß des Sauerstoffs haben später auch *Kluyver*, *Donker* und *Visser 't Hooft*<sup>2)</sup> angegeben; sie teilten mit, daß Acetyl-methyl-carbinol und 2, 3-Butylenglykol, die bekanntlich in normalem Stoffwechsel der Hefe nicht auftreten, in gelüfteten Ansätzen nachweisbar sind.

Es erhob sich nun die Frage, wie sich der Einfluß des Sauerstoffs in praxi gestaltet und ob bei der Änderung des Gärungsquotienten ( $C_2H_5OH : CO_2$ ) außer Alkohol und Kohlendioxyd auch noch andere Stoffe auftraten.

Bei den Untersuchungen *Meyerhofs* sind stets nur die *Gärungsvorgänge einer bestimmten Zeitspanne* verfolgt worden, ohne daß es zu einem völligen Verbrauch des vorhandenen Zuckers kam. Wir sind dazu übergegangen, den *Einfluß des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung bei restlosem Verzehr des Kohlehydrats* zu prüfen. Es war zu erwarten, daß sich auch hier die Folgen der Sauerstoffatmung, wie sie sich insbesondere an den Preß- und wilden Hefen bemerkbar machen, in der Bilanz der gebildeten Gärungsendprodukte zeigen würden. Wir wollten bei solchen Versuchen nur den aus dem Kohlehydrat entstandenen Äthylalkohol ermitteln, von Bestimmungen der Kohlensäure indes absehen, da diese mehreren Quellen entstammt.

Die Bestimmungen des Alkohols werden nun durch eine bisher nicht beachtete Tatsache kompliziert. Wir haben nämlich gefunden,

<sup>1)</sup> *F. Hayduck* und *H. Haehn*, diese Zeitschr. 128, 587, 1922.

<sup>2)</sup> *A. J. Kluyver*, *H. J. L. Donker* und *F. Visser 't Hooft*, diese Zeitschr. 161, 361, 1925.

daß ein Teil fertigen Weingeistes, unter unseren Versuchsbedingungen bis zu 7 Proz. desselben, durch den Sauerstoff — aller Wahrscheinlichkeit nach von unspezifischen Oberflächenkatalysatoren der Hefe beschleunigt — zu *Acetaldehyd* oxydiert wird. Eine solche Oxydierbarkeit ist schon von *Trillat* und *Sauton*<sup>1)</sup> sowie *Buchner* und Mitarbeitern<sup>2)</sup> beobachtet<sup>3)</sup>. Letztere bedienten sich übrigens einer im Prinzip ähnlichen Versuchs-anordnung, wie sie für unsere Bestimmungen geeignet war.

Angesichts der sekundären Umwandlung des Äthylalkohols mußten wir, um die primär im Gärungsabbau entstandene Menge desselben zu ermitteln, den auftretenden Acetaldehyd quantitativ bestimmen und ihn, auf Alkohol umgerechnet, zu dem im Gäransatz gefundenen Weingeist hinzuzählen.

Zur Ermittlung des Acetaldehyds diente die Jodtitrationmethode von *Ripper-Fürth*.

Die Alkoholbestimmungen wurden in üblicher Weise in den angereicherten Destillaten durch Pyknometrie vorgenommen; hierfür mußte aber der sekundär gebildete Acetaldehyd zuvor entfernt werden, wozu die Methode von *Gorr* und *Wagner*<sup>4)</sup> diente; sie beruht auf der Einwirkung von Quecksilberoxyd, das den Acetaldehyd bindet.

Von Hefen gelangten sowohl Bäckereihefe (*Sinner*) als Brauereiunterhefe (*Schultheiß-Patzenhofer*) zur Anwendung. Sie wurden vor der Benutzung stets gründlich auf der Nutsche oder in der Zentrifuge mit Wasser gewaschen, um selbst Spuren von entstandenem Alkohol und Acetaldehyd auszuschließen.

Unsere Versuche lehren, daß auch unter Einbeziehung der relativ bedeutenden Quantität an überraschenderweise auftretendem Acetaldehyd sich die Relation zwischen Atmung und Gärung der Hefe in Versuchen größeren Maßstabs und unter völliger Vergärung des zur Verfügung stehenden Kohlehydrats bei Benutzung von Preßhefe zu erkennen gibt, während sie sich, wie es zu erwarten war, in Versuchen mit Bierhefe nicht oder nur undeutlich offenbarte. So fanden wir bei gänzlicher Vergärung von 50,0g Rohrzucker mit 7,5g Brauereiunterhefe in 500 ccm Wasser beim Arbeiten in einem Strom von 706 Liter Luft 25,95 g „Alkohol“, während bei einem Kontrollversuch, der ohne jede Durchleitung von Luft vorgenommen wurde, 26,02 g Weingeist ermittelt werden konnten. Ein mit Oberhefe angestellter Versuch lieferte

<sup>1)</sup> *J. A. Trillat*, C. r. 146, 645, 1908; *J. A. Trillat* und *B. Sauton*, ebendasselbst 146, 996, 1908; *J. A. Trillat*, Ann. Inst. Pasteur 24, 296, 1910.

<sup>2)</sup> *E. Buchner*, *K. Langheld* und *S. Skraup*, Ber. 47, 2552, 1914.

<sup>3)</sup> Über ein bemerkenswertes Ansteigen der Aldehydmenge während der aeroben Atmung von *Äpfelzellen* in Gegenwart von O<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> hat jüngst *M. Thomas* (Biochem. Journ. 19, 927, 1925) berichtet.

<sup>4)</sup> *G. Gorr* und *J. Wagner*, diese Zeitschr. 161, 488, 1925.

unter sonst gleichen Verhältnissen in einem Strome von 715 Liter Luft 24,64 g Alkohol, während in dem entsprechenden Vergleichsansatz 25,98 g Äthylalkohol gebildet waren.

Daß in unseren Versuchen der Minderertrag an Äthylalkohol bei Lüftung quantitativ nicht den Umfang annahm, wie er den *Meyerhof*-schen Zahlen entspricht, könnte einerseits damit seine Begründung finden, daß wir nicht mit reinem Sauerstoff, sondern mit Luft gearbeitet haben, andererseits dadurch, daß beim einfachen Durchleiten des respirierbaren Gases durch den Ansatz kein so inniger Kontakt mit den Hefezellen möglich ist, wie er sich in der Versuchsanordnung des genannten Autors (Schütteln sehr dünner Hefenaufschwemmungen in einem großen Volumen reinen Sauerstoffgases) bewerkstelligen<sup>1)</sup> ließ.

Nach den Anschauungen von *Meyerhof* muß sich die mit der Atmung der Hefe verbundene partielle Resynthese von Spaltungsprodukten zugleich in einer Gärverzögerung offenbaren. Wir konnten bei unseren Versuchen diese Erscheinung wenigstens beim Arbeiten mit Preßhefe wahrnehmen. Während sich im luftfreien Kontrollansatz bereits nach 54 Stunden kein Zucker mehr nachweisen ließ, war in dem durchlüfteten Hauptversuch die Gärung erst nach 60 Stunden beendet, d. h. die anaerobe Zuckerspaltung lief in etwa neun Zehntel der Zeit ab, die bei Sauerstoffzufuhr zur völligen Zuckerspaltung notwendig war.

Auffallend gering war der Einfluß des Sauerstoffs auf die von *Kluyver*, *Donker* und *Visser 't Hooft* behauptete Bildung von Butylkörpern. In unseren Ansätzen haben wir nur minimale Mengen von 2, 3-Butylenglykol nach der von den holländischen Autoren angegebenen, auf das Verfahren von *Lemoigne*<sup>2)</sup> zurückgehenden Vorschrift nachzuweisen vermocht. Die Anwesenheit von Acetoin oder seines Oxydationsprodukts Diacetyl war weder im Gärgut noch in den Kondensaten der flüchtigen Stoffe festzustellen. Die spurenhafte Bildung des 2, 3-Butylenglykols ist wohl so zu deuten, daß der, wie erwähnt, durch unspezifische Oxydation aus Äthylalkohol erzeugte Acetaldehyd mit dem im Gärverlauf naszierend auftretenden Acetaldehyd carboli-gatisch zu Acetoin zusammentritt und dieses dann weiterhin phytochemisch reduziert wird, wie *C. Neuberg* und *M. Kobel*<sup>3)</sup> gezeigt haben. Der Wasserstoff, der bei der sauerstofflosen Gärung den Acetaldehyd in Weingeist überführt, hydriert Acetylmethylcarbinol.

*Neuberg* und *Reinfurth*<sup>4)</sup> haben zum erstenmal Acetoinbildung bei der Hefe durch Zusammenbringen mit Acetaldehyd und gärfähigem

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu *O. Fürth* und *F. Lieben*, diese Zeitschr. 128, 157, 1922.

<sup>2)</sup> *M. Lemoigne*, Ann. Inst. Pasteur 27, 856, 1913; C. r. 170, 131, 1920.

<sup>3)</sup> *C. Neuberg* und *M. Kobel*, diese Zeitschr. 160, 250, 1925.

<sup>4)</sup> *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, ebendasselbst 148, 553, 1923.

Zucker erreicht, den Ketonalkohol in großen Quantitäten abgeschieden und bereits die Erklärung für seine Entstehung geliefert. Wenn nun bei unserer Versuchsanordnung kein Acetoin erhalten wird, so liegt dies daran, daß der sekundär gebildete Acetaldehyd mit dem Luftstrom schnell in die Vorlagen fortgeführt wird, wo wir ihn auch tatsächlich gefunden haben. Er bleibt also nicht in genügendem Kontakt mit der gärenden Hefe.

Ob die zwar geringfügige, aber letzten Endes doch durch Sauerstoff hervorgerufene Bildung von  $\beta, \gamma$ -Butylenglykol zum Chemismus der durch Sauerstoff veranlaßten Resynthese von Zucker aus seinen Spaltprodukten in irgend eine Analogie zu setzen ist, bleibe zunächst dahingestellt. Daß es sich beim Auftreten von Acetoin (bzw. Butylenglykol) wenigstens im Endeffekt um die Bildung eines „unvollkommenen Zuckers“ handelt, ist bereits von *Neuberg* und *Gorr*<sup>1)</sup> ausgesprochen worden.

Bei

#### Anstellung der Versuche im Luftstrom

ist auf die beträchtliche Flüchtigkeit der Gärprodukte Weingeist und Acetaldehyd Rücksicht zu nehmen. Wir haben uns der aus Abb. 1 ersichtlichen Apparatur bedient. Durch eine im Brutschrank bei 34° stehende Flasche, die mit 50 g Rohrzucker in 500 ccm Leitungswasser sowie 7,5 g der gut gewaschenen und abgepreßten Hefe besetzt war, wurde ein lebhafter Luftstrom hindurchgedrückt; zuvor passierte er eine Waschflasche (*K*) mit Kaliumpermanganat, eine ebensolche mit Wasser (*W*) und dann eine trockene Gasuhr (*G*)<sup>2)</sup>. Die entweichende und einen Teil der Gärungsprodukte mitreisende Luft wurde außerhalb des Brutschrankes zunächst durch eine Vorlage mit Wasser (*W*<sub>1</sub>) geführt; darauf strichen die Gase durch zwei mit flüssiger Luft gekühlte Peligotgefäße (*P* und *P*<sub>1</sub>), um schließlich noch durch vier mit einer 10proz. Lösung von Natriumbisulfit gefüllte Flaschen (*S*<sub>1</sub>, *S*<sub>2</sub>, *S*<sub>3</sub>, *S*<sub>4</sub>) zu strömen. Ein großer Teil des Alkohols sowie sämtlicher gebildeter Acetaldehyd, dessen Menge bei dem Versuch mit Preßhefe 1,67 g betrug und 6,5 Proz. der theoretisch möglichen Alkoholmenge ausmachte, gehen, wie gesagt, in die Vorlagen über, wo sie sich vorwiegend in den mit flüssiger Luft gekühlten Gefäßen kondensieren. Der Rest des Acetaldehyds wird jedoch erst in den Bisulfitvorlagen absorbiert, und zwar soll er bei richtig geleiteter Operation höchstens bis in die dritte Bisulfitwaschflasche gelangen. Falls es durch Abscheidung von fester Kohlensäure und Eis in der ersten mit flüssiger Luft gekühlten Vorlage zur Verstopfung der Apparatur kommt, so muß sofort von der betreffenden Röhre das die flüssige Luft enthaltende Dewargefäß entfernt und nach Auftauen der festen Abscheidungen wieder untergeschoben werden.

Nach Abschluß der Gärung, den man am negativen Ausfall der Probe mit *Fehlingscher* Lösung an einem kleinen entnommenen Anteil erkennt.

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *G. Gorr*, *Ergebn. d. Physiol.* **24**, 194, 1924.

<sup>2)</sup> Dem Direktor des Tierphysiologischen Instituts in Berlin, Herrn Prof. Dr. *E. Mangold*, sind wir für die leihweise Überlassung der Gasuhr sehr zu Dank verpflichtet.



untersuchten wir stets die letzte der mit Bisulfit gefüllten Gaswaschflaschen zuerst auf einen etwaigen Gehalt an Acetaldehyd. Die Prüfungen fielen immer negativ aus und bewiesen somit, daß keine Verluste an den nicht gasförmigen Gärprodukten eingetreten waren. Der Inhalt der drei anderen Sulfidflaschen wurde dann zwecks Freisetzung des Acetaldehyds unter guter Eiskühlung mit kohlen-saurem Calcium neutralisiert und nach Zugabe der entsprechenden Menge Calciumchlorid <sup>1)</sup> einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat vereinigten wir mit dem Inhalt der beiden in flüssiger Luft gekühlten Vorlagen sowie der mit Wasser gefüllten Waschflasche W<sub>1</sub>. Alle Gefäße und Verbindungsstücke waren sorgfältig mit Wasser nachgespült. Nachdem dann in einem aliquoten Teil der Gesamtflüssigkeit der Gehalt an Acetaldehyd titrimetrisch ermittelt worden war, wurde

<sup>1)</sup> Die Umsetzung geschieht nach der Gleichung:  $2 \text{NaHSO}_3 + \text{CaCO}_3 = \text{Na}_2\text{SO}_3 + \text{CaSO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ . Zwecks Überführung des löslichen Dinatriumsulfits in das unlösliche Kalksalz muß das Chlore calcium hinzugefügt werden. Die Menge Bisulfit in den Vorlagen ist so hoch bemessen, daß trotz des Luftstroms noch immer Sulfid unoxydiert blieb.

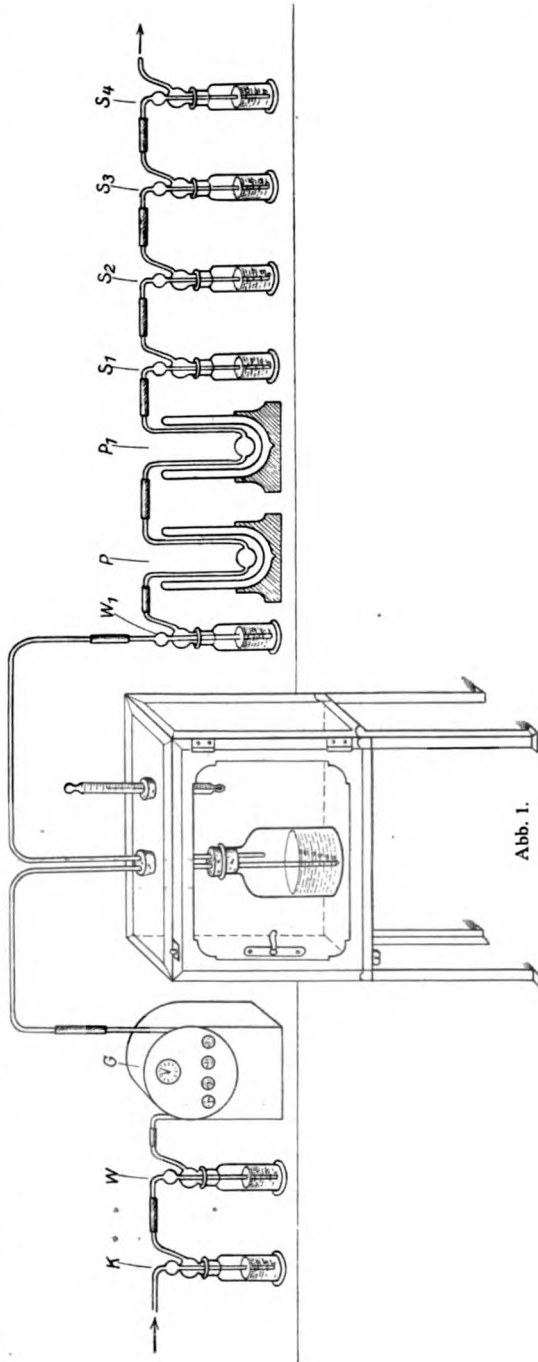


Abb. I.

wiederum ein aliquoter Teil zwecks Zerstörung des Aldehyds mit frisch gefälltem Quecksilberoxyd nach der von *Gorr* und *Wagner* angegebenen Vorschrift behandelt und darauf in der durch einengende Destillation anreicherten Flüssigkeit der Alkohol pyknometrisch bestimmt.

Das stets völlig aldehydfreie hefenhaltige Gärgut selber wurde in zwei Teile geteilt. Von ihnen diente der eine zur Alkoholbestimmung, die durch anreichernde Destillation erfolgte, der andere wurde zur Prüfung auf Acetoin, Diacetyl und Butylenglykol verwendet. Auf Acetoin und Diacetyl wurde direkt gefahndet, auf Butylenglykol nach Einengen im *Faust-Heimschen* Verdunstungsapparat, und zwar, wie schon erwähnt, mit der Modifikation der Verfahren von *Harden* und *Lemoigne*, d. h. durch Oxydation mit Eisenchlorid bzw. Brom zu Diacetyl, Überführung desselben in Dimethylglyoxim und Abscheidung als Nickelsalz.

In unseren Versuchen traten niemals Diacetyl oder Acetoin, wohl aber Spuren von Butylenglykol auf. In den Versuchen mit und ohne Luft war diese winzige Menge kaum verschieden.

Den gesamten entstandenen „Äthylalkohol“ findet man gemäß der geschilderten Aufarbeitung, wenn man zu dem im Gärgefäß festgestellten Weingeist den in den Vorlagen ermittelten Alkohol sowie das Alkohol-äquivalent des Acetaldehyds addiert.

In den Kontrollen brauchten nur Alkoholbestimmungen gemacht zu werden, da hier — bis auf die stets erkennbare bedeutungslose Spur — nie Acetaldehyd nachzuweisen war.

#### Versuchsbeispiele.

1. a) 50 g Rohrzucker,  
500 ccm Wasser,  
7,5 g Preßhefe (Sinner, Trockengewicht 1,8 g).

Während der 60 Stunden betragenden Gärdauer waren durch den Ansatz 715 Liter Luft hindurchgeschickt worden.

Gefunden wurden im Gärgefäß . . . . .	18,82 g Alkohol
in den Vorlagen . . . . .	4,08 g „
und 1,67 g Aldehyd . . . . .	= 1,74 g „
Summe . . . . .	24,64 g Alkohol.

- b) Die Kontrolle ergab 25,98 g Weingeist.

2. a) 50 g Rohrzucker,  
500 ccm Wasser,  
7,5 g Bierhefe (Unterhefe Schultheiß-Patzenhofer, Trockengewicht 1,9 g).

Während der Gärdauer, die sich auf 52 Stunden belief, waren durch den Ansatz 706 Liter Luft hindurchgeleitet worden.

Gefunden wurden im Gärgefäß . . . . .	23,18 g Alkohol
in den Vorlagen . . . . .	2,45 g „
und 0,31 g Acetaldehyd . . . . .	= 0,32 g „
Summe . . . . .	25,95 g Alkohol.

- b) Die Kontrolle lieferte 26,02 g Weingeist.

# Weitere Untersuchungen über die Bildung von Milchsäure aus Methylglyoxal durch Ketonaldehydmutase tierischer und pflanzlicher Herkunft.

Von  
Günther Gorr und Genia Perlmann.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 16. Mai 1926.)

## I. Die Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure durch Kaninchenorgane.

Die Ketonaldehydmutase, die Methylglyoxal in Milchsäure umwandelt, ist bei fast allen Tieren und nahezu in allen Organen gefunden worden, in denen man nach diesem Ferment gesucht hat. Um so auffallender muß es sein, wenn vor kurzem *Foster*<sup>1)</sup> mitteilte, daß sie in Kaninchenmuskulatur kein solches Ferment habe nachweisen können. Wir haben daher die Behauptung der Autorin einer Nachprüfung unterzogen und dabei gefunden, daß im Gegensatz zu dieser Angabe auch Muskulatur (sowie Leber) des Kaninchens in kürzester Zeit und in guter Ausbeute Methylglyoxalhydrat zu Milchsäure stabilisiert. *Foster* hat als Substrat Phenylglyoxal verwandt; wir benutzten als adäquates Substrat das *Methylglyoxal* und erzielten, wie gesagt, seine glatte Dismutation auch mit Muskelsaft von Kaninchen.

Wir bedienten uns im Prinzip derselben Versuchsanordnung, die schon *Neuberg* im Jahre 1913 benutzt hat, d. h. wir verwendeten als Fermentträger wässrige Gewebsauszüge der betreffenden Organe und fügten, wie üblich, den Ansätzen zur Regulierung des Milieus einen Überschuß von kohlenstoffsaurem Kalk bei. Zur Gewinnung der Organauszüge wurden die fein zerkleinerten Gewebe mit der 3- bis 5fachen beim Muskel und bei der Leber mit der 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung bzw. Wasser eine Stunde lang bei Zimmertemperatur in einer Schüttelmaschine behandelt und die entstandenen Suspensionen durch Zentrifugieren schnell geklärt. Die so gewonnenen Fermentauszüge wurden dann unverzüglich mit ungefähr 0,1 Proz. frisch bereitetem Methylglyoxal sowie 1 Proz. Calciumcarbonat versetzt.

<sup>1)</sup> *D. L. Foster*, Biochem. Journ. 19, 757, 1925.

Nach Zugabe von 1 Proz. Toluol kamen die Ansätze in einen Brutschrank von 37°, in dem sie wiederholt geschüttelt wurden. Nach 15 Stunden war in sämtlichen angestellten Versuchen der *Ketonaldehyd restlos verschwunden*, wie die Prüfung mit p-Nitro-phenylhydrazin-acetat in einer kleinen zentrifugierten Probe eindeutig ergab.

Die quantitative Bestimmung der entstandenen Milchsäure geschah titrimetrisch in folgender Weise: Die Ansätze wurden zentrifugiert. In 90 ccm des Zentrifugats wurden die Eiweißstoffe in üblicher Weise nach *Schenck* durch Fällern mit Quecksilberchlorid in 1proz. Salzsäurelösung entfernt (Gesamtvolumen 100 ccm), im Filtrat das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff beseitigt und die durch einen Luftstrom von Schwefelwasserstoff befreite Lösung zur Entfernung von beigemengten, den tierischen Geweben entstammenden Kohlehydraten einer Kupfer-Kalk-Fällung unterworfen. Dies geschah durch Versetzen von 30 ccm Flüssigkeit mit 4 ccm einer 10proz. Kupfersulfatlösung, darauf folgende Neutralisation mit Natronlauge, Zugabe von 10 ccm Kalkmilch und Auffüllen auf 50 ccm. 10 ccm des stets völlig zuckerfreien Filtrats dienten dann zur Milchsäurebestimmung nach dem Verfahren der Permanganat-Oxydation mit anschließender Titration des gebildeten Acetaldehyds.

Von Wichtigkeit war es, die in den Fermentlösungen selbst glykolytisch aus den Kohlehydraten des Gewebes entstandenen Milchsäuremengen zu bestimmen. Dies erfolgte in völlig gleicher Weise, wie oben geschildert ist, in den nur mit Calciumcarbonat versetzten Organauszügen. Durch Subtraktion der hierbei gefundenen Werte konnten so, wenigstens angenähert, die tatsächlich aus zugefügtem Methylglyoxal entstandenen Säuremengen ermittelt werden. Sie betragen bei einem Versuch mit Leberextrakt 64,0 Proz., in den Muskelversuchen 77,3 bzw. 89,6 vom Hundert der Theorie. Ob die auch früher beobachteten Differenzen zu einer quantitativen Umlagerung damit zusammenhängen, daß in den Organauszügen noch geringe Mengen nicht glykolysierten Kohlehydrats vorhanden sind, deren nachträgliche Spaltung zu Milchsäure in den mit Methylglyoxal beschickten Ansätzen gehemmt wird, oder ob Nebenreaktionen eine Rolle spielen, sei dahingestellt.

Um über die unspezifische Bildung von Milchsäure aus Methylglyoxal, die bei den herrschenden Versuchsbedingungen nicht absolut zu vermeiden ist, unterrichtet zu sein, wurden stets Kontrollansätze gleicher Konzentrationen, jedoch ohne Ferment, angestellt und in ihnen nach Beendigung der Versuche die noch vorhandene Menge des unveränderten Methylglyoxals als p-Nitro-phenylosazon bestimmt. Diese betrug mindestens noch 93,8 Proz. der hinzugefügten Menge Ketonaldehyd.

Für die Kennzeichnung der gebildeten Milchsäure erschien es uns aber auch notwendig, wenigstens einmal neben der indirekten titrimetrischen Analyse die Oxysäure in Substanz zu isolieren;

dieses geschah in Form des Zinklactats. Zu diesem Zwecke wurden von einem Ansatz mit Kaninchenmuskeln (Versuch 2), dessen Volumen 930 ccm betragen hatte, 640 ccm Zentrifugat auf dem Wasserbad auf etwa 60 ccm eingeengt, dieselben filtrierte und warm mit der doppelten Menge heißen Alkohols versetzt. Die ausgeschiedenen Flocken wurden entfernt, das Filtrat durch mehrmaliges Abdampfen auf dem Wasserbad von Spirit befreit und die schließlich etwa 30 ccm betragende Flüssigkeit nach Ansäuerung mit Phosphorsäure und Übersättigen mit Ammoniumsulfat 50 Stunden im Perkulator mit Äther extrahiert. Der nach Verdampfen des Äthers hinterbliebene Rückstand wurde jetzt auf dem Wasserbade mit Wasser erwärmt, um etwa vorhandene flüchtige Säure zu entfernen, und dann in der üblichen Weise über das Bleisalz in Zinklactat übergeführt, von dem als Rohprodukt 1,61 g isoliert werden konnten. In der ersten Kristallfraktion lag d, l-Lactat und in der Mutterlauge das linksdrehende Salz der dextrogyren Säure vor.

0,1282 g Substanz gaben bei 105° 0,0232 g H<sub>2</sub>O ab.  
 0,1050 g wasserfreie Substanz lieferten 0,0352 g ZnO.  
 (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Zn + 3 H<sub>2</sub>O<sup>1</sup>). Ber.: H<sub>2</sub>O = 18,18 Proz.;  
 gef.: H<sub>2</sub>O = 18,10 „ .  
 Ber.: ZnO = 33,47 Proz.;  
 gef.: ZnO = 33,52 „ .

#### Versuche.

Für die Versuche wurde ein ausgewachsenes männliches Kaninchen, 3140 g schwer, verwendet.

1. Sofort nach Tötung des Tieres wurde das fein zerteilte Muskelgewebe durch eine Fleischmaschine getrieben. 250 g des Breies wurden mit 750 ccm physiologischer Kochsalzlösung eine halbe Stunde lang bei 37° digeriert, dann wurde zentrifugiert und das erhaltene Zentrifugat eventuell noch durch Filtrieren weiter geklärt.

a) Hauptversuch (Gesamtvolumen 565 ccm):

550 ccm Saft von Kaninchenmuskeln,  
 5,5 g kohlensaurer Kalk,  
 0,6 g Methylglyoxal in wässriger Lösung,  
 5,5 ccm Toluol.

b) Kontrolle:

100 ccm Saft von Kaninchenmuskeln,  
 1 g kohlensaurer Kalk,  
 1 ccm Toluol.

Als nach 15 Stunden im Fermentversuch kein Methylglyoxal mehr nachzuweisen war, schritten wir zur Aufarbeitung. In den in der angegebenen Weise gewonnenen und zur Titration benutzten 10 ccm wurden beim Hauptversuch 17,66 mg und bei der Kontrolle 12,11 mg Milchsäure gefunden.

<sup>1</sup>) Erste Kristallfraktion.

Nach Umrechnung auf das Volumen des Hauptversuches ergibt sich für a) ein Gehalt von 1,85 g und für b) ein solcher von 1,27 g Milchsäure.

Die Differenz beträgt mithin 0,58 g Milchsäure; das sind, auf das angewandte Methylglyoxal bezogen, 77,3 Proz. der Theorie.

2. 220 g fein verteiltes Muskelgewebe wurden eine halbe Stunde lang mit 1100 ccm destillierten Wassers bei 37° digeriert und die Aufschwemmung dann durch Zentrifugieren geklärt.

a) Hauptversuch (Gesamtvolumen 930 ccm):

900 ccm Muskelsaft,  
9 g Kohlensäurer Kalk,  
1 g Methylglyoxal in wässriger Lösung,  
9 ccm Toluol.

b) Kontrolle:

100 ccm Muskelsaft,  
1 g Kohlensäurer Kalk,  
1 ccm Toluol.

In den titrierten 10 ccm wurden beim Hauptversuch 15,20 mg und bei der Kontrolle 8,68 mg Milchsäure festgestellt.

Die Umrechnung auf das Volumen des Hauptversuchs führt für a) zu 2,62 g und für b) zu 1,50 g Milchsäure.

Die Differenz beläuft sich also auf 1,12 g Milchsäure, die einer Umwandlung des Methylglyoxals zu 89,6 Proz. der Theorie entsprechen.

3. 69 g fein zerteilter Kaninchenleber wurden 1 Stunde lang mit 690 ccm physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann zentrifugiert.

a) Hauptversuch (Gesamtvolumen 570 ccm):

550 ccm Saft,  
5,5 g Kohlensäurer Kalk,  
0,6 g Methylglyoxal in wässriger Lösung,  
5,5 ccm Toluol.

b) Kontrolle:

100 ccm Saft,  
1 g Kohlensäurer Kalk,  
1 ccm Toluol.

In den titrierten 10 ccm wurden beim Hauptversuch 6,77, bei der Kontrolle 2,19 mg Milchsäure gefunden.

Nach Umrechnung auf das Volumen des Hauptversuchs ergibt sich für a) ein Gehalt von 0,71 g und für b) ein solcher von 0,23 g Milchsäure.

Die Differenz macht somit 0,48 g aus; sie zeigt eine Ausbeute von 64,0 Proz. Milchsäure an.

## II. Die Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure durch Essigbakterien.

Durch die Untersuchungen des letzten Jahrzehnts hat sich immer mehr gezeigt, welche weitgehende Analogien zwischen dem Stoffumsatz tierischer Zellen und dem pflanzlicher Gewebe wenigstens den Haupt-

zügen nach bestehen. Es konnte daher nicht wundernehmen, daß es *Neuberg* und *Gorr*<sup>1)</sup> gelungen ist, die bis dahin nur in tierischen Organen gefundene Ketonaldehydmutase auch im Pflanzenreich, sowohl in niederen als in höher entwickelten Organismen, nachzuweisen. So konnten die genannten Autoren dieses Ferment nicht allein im *Bacterium coli*, im *Lactobacillus* und *Bacillus propionicus*, sondern auch in Erbsen-, Bohnen- und Lupinen-Samen feststellen.

Vor Jahresfrist haben *Neuberg* und *Windisch*<sup>2)</sup> dargetan, daß in Essigbakterien, beispielsweise im *Bacterium ascendens*, im *Bacterium xylinum* und im *Bacterium pasteurianum*, ein Enzym vorhanden ist, das die verschiedensten einfachen Aldehyde quantitativ zum Alkohol und der entsprechenden Säure dismutiert.

Wir haben nun untersucht, ob diese *Essigbakterien*, die in der Norm Kohlehydrate zymatisch nicht abbauen und keine Milchsäure produzieren, imstande sind, Methylglyoxal durch innere Dismutation in die entsprechende Oxyssäure umzuwandeln; denn *Neuberg* und *Gorr* hatten die Ketonaldehydmutase bisher nur in *Milchsäure* erzeugenden Kleinlebewesen nachgewiesen.

Unsere Versuche, die mit dem *Bacterium pasteurianum* ausgeführt wurden, haben ergeben, daß diese Mikrobe tatsächlich Methylglyoxal mit großer Schnelligkeit und guter Ausbeute in Milchsäure überzuführen imstande ist. (Weniger glatte Resultate liefert das *Bacterium xylinum*, das bekanntermaßen<sup>3)</sup> und wie wir auch fanden, die gebildete Milchsäure wieder angreift). Selbstverständlich kann dieses Vorkommen der Ketonaldehydmutase nicht als Beweis für die Identität von einfacher Aldehydase und Ketonaldehydmutase betrachtet werden, wenn es auch wahrscheinlich ist, daß eine gewisse Enzymhomologie vorliegt.

Die genannten, auf flüssiger Bierwürze bzw. auf Bierwürzeagar gezüchteten Erreger wurden mit flüssiger Bierwürze abgeschwemmt, die so gewonnenen Kulturen in großen sterilisierten Nickelbechern zentrifugiert und nach dem Verrühren mit keimfreiem, destilliertem Wasser mehrmals (bis zum völligen Verschwinden der Zuckerreaktion) in den Metallgefäßen gewaschen. Unter möglicher Einhaltung der Sterilität wurde dann das erhaltene Bakteriensediment in 980 ccm sterilem, reinem Wasser suspendiert und hierzu 10 g keimfreie Kreide sowie 20 ccm einer 5proz. Methylglyoxallösung hinzugefügt. Da zu befürchten war, daß bei der stark oxydierenden Wirkung des Erregers der Ketonaldehyd oder sein Stabilisierungsprodukt, eben die Milch-

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. 162, 490, 1925; 166, 482, 1925; 171, 475, 1926; 178, 358, 1926.

<sup>2)</sup> *C. Neuberg* und *F. Windisch*, ebendasselbst 166, 454, 1925.

<sup>3)</sup> *F. Lajar*, Techn. Mykologie 5, 598, 1905.

säure, durch Nebenreaktionen teilweise zerstört werden könnten, arbeiteten wir unter vollkommen anaeroben Bedingungen. Zu diesem Zwecke wurde aus dem in steriler Stöpselflasche befindlichen Gemisch durch sofortiges Einleiten von Kohlensäure, die mit Permanganat gewaschen war, alle Luft vertrieben. Das Gefäß wurde dann schnell um den Verschuß herum paraffiniert und darauf mit dem Stöpsel nach unten in eine Quecksilberwanne gestülpt. Die ganze Apparatur sowie ein mit  $\text{CO}_2$  gesättigter Kontrollansatz, bestehend aus 250 ccm Wasser, 2,5 g kohlensaurem Kalk sowie 0,25 g Methylglyoxal, kamen in einen Brutschrank von  $37^\circ$ . Die zu dem Hauptversuch benutzte Bakterienmenge betrug, wie die Bestimmung in einem Teile der ursprünglichen wässerigen Suspension ergab, 6,8 g Trockensubstanz.

Nach 26 Stunden war in dem Bakterienversuche das Methylglyoxal restlos verschwunden, während es zu dieser Zeit in dem Kontrollversuch noch in größten Mengen vorhanden war. Die Prüfung geschah auch hier mit p-Nitro-phenylhydrazin-acetat.

Zur Identifizierung der in dem Bakterienversuch entstandenen Säure wurde diese nach dem jüngst von *Neuberg* und *Gorr*<sup>1)</sup> angegebenen einfachen Verfahren als Zinklactat isoliert.

Der methylglyoxalfrei gewordene Ansatz wurde aufgekoacht und zentrifugiert. Von dem Zentrifugat wurden 100 ccm zu der später zu besprechenden Titrationsbestimmung zurückgestellt und dann die weiteren 800 ccm auf dem Wasserbade auf etwa 60 ccm eingengt. Dieselben wurden darauf noch warm mit 120 ccm heißen Alkohols versetzt; von dem ausgetriebenen Eiweißniederschlag wurde abfiltriert. Der nach dem Abdampfen des Alkohols hinterbliebene Rückstand löste sich klar in 50 ccm Wasser. Aus dieser Lösung wurde jetzt das Calcium durch Zugabe einer konzentrierten Lösung von 1,5 g Oxalsäure gefällt; nach 15 Stunden wurde filtriert und die blanke Lösung längere Zeit mit ausgekochtem, alkalifreiem Zinkoxyd zunächst im Wasserbade, schließlich auf dem Babobloch zum Sieden erhitzt. Beim Einengen der filtrierten Lösung kristallisierte direkt reines d, l-Zinklactat aus. Das durch Aufstreichen auf Ton getrocknete, schon fast weiße Rohprodukt wog 1,05 g. Die Analyse der einmal umkristallisierten Substanz lieferte folgende Werte.

0,1110 g Substanz gaben bei  $105^\circ$  0,0202 g  $\text{H}_2\text{O}$  ab.

0,0908 g wasserfreier Substanz hinterließen 0,0304 g  $\text{ZnO}$ .

$(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn} + 3 \text{H}_2\text{O}$ . Ber.:  $\text{H}_2\text{O} = 18,18$  Proz.; gef.: 18,20 Proz.

$(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2\text{Zn}$ . Ber.:  $\text{ZnO} = 33,47$  Proz.; gef.: 33,48 Proz.

Es lag mithin racemisches Zinklactat vor. Auch die Mutterlauge, in der sich der größeren Löslichkeit wegen aktives Salz hätte befinden können, zeigte keine Drehungskraft.

Um einen Einblick in die quantitativen Verhältnisse der durch das *Bacterium pasteurianum* bewirkten Dismutation des Methylglyoxals

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **178**, 476, 1926.



zu gewinnen, wurde in den 100 ccm Zentrifugat, die bei der Verarbeitung auf Zinklactat zurückgestellt waren, eine Milchsäurebestimmung nach dem Verfahren der Permanganat-Oxydation und darauffolgender Titration des entstandenen Acetaldehyds vorgenommen.

50 ccm des Zentrifugats gaben nach Versetzen mit Salzsäure und Quecksilberchlorid 60 ccm Flüssigkeit. 10 ccm des durch einen Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreiten Filtrats dienten zur Titration. Sie enthielten 9,08 mg Milchsäure. Die Umrechnung auf den ganzen Ansatz führt mithin (unter Berücksichtigung der Volumenänderung durch die Eiweißfällung) zu einem Gehalt von 1,09 g Milchsäure, was 87,2 Proz. des verwendeten Methylglyoxals entspricht.

Der zwecks Bestimmung der unspezifisch aus Methylglyoxal entstandenen Säure angesetzte Kontrollversuch lieferte aus 100 ccm Filtrat 0,4299 g Methylglyoxal-p-nitro-phenylosazon; d. h. es waren nach 26 Stunden noch 90,3 Proz. des zugefügten Ketonaldehyds unverändert geblieben.

Ein in analoger Weise mit einer Reinkultur von *Bacterium xylinum* in sterilem Wasser unternommener Versuch ergab, daß auch dieser Erreger das Methylglyoxal in 26 Stunden zum Verschwinden brachte. Von einer Aufarbeitung des Ansatzes wurde jedoch Abstand genommen, da hier nicht zu vernachlässigende Mengen flüchtiger Säuren (Essigsäure?), aller Wahrscheinlichkeit nach infolge sekundärer Einwirkung der Bakterien auf die entstandene Milchsäure, gebildet worden waren.

*Anmerkung bei der Korrektur.* Jüngst teilen *A. J. Virtanen* und *H. Karström* (H. 155, 251, 1926) mit, daß sie wohl mit verschiedenen Varietäten von *B. coli*, nicht aber mit ihren Stämmen von Milchsäurebakterien, eine Umwandlung des Methylglyoxals konstatiert haben. Wir haben nicht mit *B. casei*  $\epsilon$  oder *Streptococc. lactis* gearbeitet, sondern außer mit anderen Erregern mit dem *Lactobacillus* (diese Zeitschr. 166, 482, 1925). Da wir außerdem den typischen Charakter als Milchsäurebildner für diesen Erreger (diese Zeitschr. 173, 476, 1926) einwandfrei festgestellt haben, so können wir Herrn *Virtanen* nur anheimgeben, mit der ihm zur Verfügung stehenden Kultur unseres Erregers seine Versuche zu wiederholen.

---

## Über die Vergärung der Phenylglyoxylsäure.

Von

G. Binder-Kotrba.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. Juni 1926.)

Die typische carboxylatische Spaltung der  $\alpha$ -Ketosäuren kann durch mehrere sekundäre Prozesse Komplikationen erfahren. Durch phytochemische Reduktion, durch Dismutation, sowie unter Umständen auch infolge carboligatischer Verwendung kann der primär entstandene Aldehyd weiteren Umwandlungen unterliegen. Wie *C. Neuberg* mit *E. Reinfurth* sowie *A. v. May* am Beispiel der Brenztraubensäure gezeigt<sup>1)</sup> und wie *H. K. Sen* für die Fälle der  $\alpha$ -Keto-iso-valeriansäure und der  $\alpha$ -Keto-n-capronsäure bestätigt<sup>2)</sup> hat, kann man die reine carboxylatische Spaltung der  $\alpha$ -Ketosäuren erzielen, wenn man auf diesen Vorgang das Abfangverfahren anwendet; denn es steht fest, daß bei richtig regulierter Wasserstoffionen-Konzentration auch die Ketosäuren-Sulfite vergären, die nach den neuen grundlegenden Untersuchungen von *F. Raschig*<sup>3)</sup> als carboxylierte Oxy-sulfosäuren aufzufassen sind und die bei der Decarboxylierung Oxy-sulfosäuren liefern, die zu Aldehyd-hydrat und Sulfit verseift werden können.

Um zu sehen, ob sich das Prinzip der Abfangung auch bei den aromatischen Ketosäuren bewährt, habe ich deren einfachsten Vertreter, die Phenylglyoxylsäure, geprüft.

Bringt man die genannte Säure mit 1 Mol. Dinatriumsulfit zusammen und gibt die molare Menge eines Essigsäure-Natriumacetat-Puffers hinzu, so verursacht Hefe (untergärige) in diesem Gemisch Gärung und es entsteht ziemlich glatt die Sulfitverbindung des Benzaldehyds, aus der dieser selbst in einer Ausbeute von rund 62 Proz. erhalten werden kann. Die Abscheidung des Bittermandelöls geschah

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, Ber. 58, 1039, 1920; *C. Neuberg* und *A. v. May*, diese Zeitschr. 140, 299, 1923.

<sup>2)</sup> *H. K. Sen*, diese Zeitschr. 140, 447; 143, 195, 1923.

<sup>3)</sup> *F. Raschig*, B. 59, 859, 1926.

schließlich in Form des p-Nitro-phenylhydrazons, dessen Vorliegen in völliger Reinheit durch die Analyse bestätigt worden ist.

Die zur Vergärung benutzte Phenylglyoxyssäure wurde nach der Vorschrift von *Evans*<sup>1)</sup> durch Oxydation von Mandelsäure mit Kaliumpermanganat dargestellt.

#### Ansätze.

1. 1,5 g Phenylglyoxyssäure, 10 ccm m-Dinatriumsulfidlösung und 10 ccm Essigsäure-Acetat-Puffer (im Liter 60 g Eisessig + 272 g kristallisiertes Natriumacetat enthaltend) wurden auf 150 ccm aufgefüllt, 20 g Unterhefe *Patzenhofer* hinzugefügt und bei 37° aufbewahrt.

2. 0,5 g Phenylglyoxyssäure, 3,3 ccm m-Dinatriumsulfidlösung, 3,3 ccm Essigsäure-Acetat-Gemisch wurden auf 50 ccm verdünnt und gleichfalls bei 37° belassen.

#### a) Aufarbeitung von Ansatz 1.

Die Aufarbeitung der beiden Versuche wurde nach 72 Stunden vorgenommen.

Das Gemenge des Ansatzes 1 wurde in einem 1 Liter fassenden Claisenkolben zur Spaltung der gebildeten Benzaldehyd-Sulfit-Verbindung sowie Zurückhaltung der unvergorenen Ketosäure mit 50 g Calciumcarbonat versetzt und nach einer halben Stunde mit Wasserdampf destilliert. Der durch den carboxylatischen Abbau entstandene Benzaldehyd destillierte erst in Tröpfchen, dann als milchige Trübung mit über. Nachdem 200 ccm übergegangen waren, wurde die Destillation unterbrochen, da eine Probe des getrennt aufgefangenen weiteren Destillats keine Fuchsin-Schwefligsäure-Reaktion mehr zeigte.

Zur Identifizierung des Benzaldehyds wurden je 100 ccm des emulgierten Destillats in der Kälte mit 1,0 g p-Nitro-phenylhydrazin, gelöst in 50proz. Essigsäure, versetzt. Das Benzaldehyd-p-nitro-phenylhydrazon,  $C_6H_4(NO_2) \cdot NH \cdot N : CH \cdot C_6H_5$ , schied sich sofort ab; es wurde nach einstündigem Stehen abgesaugt und mit verdünnter Essigsäure und Wasser gewaschen. Ausbeute an Rohsubstanz 0,68 und 0,67 g.

Da die zum Vergleich ausgeführte Darstellung von Benzaldehyd-p-nitrophenylhydrazon aus reinem Benzaldehyd nur 91,04 Proz. der berechneten Menge ergab, errechnet sich unter Berücksichtigung dieses Faktors für meinen Ansatz die Ausbeute an entstandenem Hydrazon und mithin auch an vergorener Phenylglyoxyssäure zu 62 Proz. der Theorie.

Zur Analyse wurde das Benzaldehyd-p-nitro-phenylhydrazon aus 80proz. Alkohol umkristallisiert. Als Schmelzpunkt<sup>2)</sup> ermittelte ich 191°.

0,1149 g Substanz: 17,3 ccm  $N_2$  (20,5°, 773 mm, 50Proz. KOH).

$C_{13}H_{11}N_3O_2$ . Ber.: N = 17,43 Proz.; gef.: 17,81 Proz.

Der Destillationsrückstand enthielt unveränderte Phenylglyoxyssäure als Calciumsalz; die Flüssigkeit wurde zur Trennung des löslichen ketosauren Salzes von Calciumcarbonat und Hefe abgesaugt und gut nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit Essigsäure sauer gemacht und mit Phenylhydrazin

<sup>1)</sup> *W. L. Evans*, Amer. Chem. Joura. **35**, 115, 1906.

<sup>2)</sup> Wohl infolge eines Druckfehlers ist B. **32**, 1813, 1899 als Schmelzpunkt 90° angegeben.

versetzt. Das Phenylglyoxylsäure-phenylhydrazon begann sich alsbald abzuscheiden; es wurde nach einstündigem Erwärmen auf dem Wasserbade und nach Aufbewahrung im Eisschrank abgesaugt. Ausbeute 0,8324 g; nach Umkristallisation aus Eisessig schmolz die Verbindung bei raschem Erhitzen bei 161°.

0,8324 g Hydrazon entsprechen 0,5202 g Phenylglyoxylsäure, das sind 34,68 Proz. der angewendeten Menge.

Es ergibt sich also folgende Bilanz:

Vergorene Phenylglyoxylsäure . . . . .	62,0 Proz.
Unvergorene Phenylglyoxylsäure . . . . .	34,7 „
	96,7 Proz.

*β) Aufarbeitung des Ansatzes 2.*

Die Aufarbeitung des Vergleichsversuchs ohne Hefe geschah in derselben Weise wie beim Hauptversuch. Im Destillat war kein Bittermandelöl nachweisbar. Eine freiwillige Entstehung von Benzaldehyd aus Phenylglyoxylsäure hatte also unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht stattgefunden.

---

# Die Umwandlung von Phenylglyoxal in Mandelsäure durch die Ketonaldehydmutase grüner Pflanzen.

Von

G. Binder-Kotrba.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. Juni 1926.)

Als ein wichtiges Stoffwechselferment ist in den tierischen Zellen die Ketonaldehydmutase schon seit Jahren erkannt. Daß sie auch in Bakterien und grünen Pflanzen eine Rolle spielt, ist erst in letzter Zeit durch die Untersuchungen von *C. Neuberg* und *G. Gorr* offenbar geworden. Diese Autoren haben gezeigt, daß verschiedene Bakterien und fernerhin die Samen von Erbsen, Bohnen und Lupinen ein Ferment enthalten, das Methylglyoxal-hydrat in Milchsäure umlagert. Nun ist immerhin mit der Möglichkeit zu rechnen, daß für die Erzeugung von Milchsäure als einer für das normale Zellgetriebe scheinbar unerläßlichen Substanz die Verhältnisse anders liegen könnten als für zellfremde Ketonaldehyde, d. h. daß das Milchsäure produzierende Agens weitverbreitet und dabei grundsätzlich verschieden ist von einem Agens, das die homologen Ketonaldehyde angreift. Deshalb habe ich auf Veranlassung von *C. Neuberg* und mit besonderer Unterstützung von Fräulein *M. Kobel* entsprechende Untersuchungen mit *Phenylglyoxal* als Substrat und mit Ferment aus Erbsen sowie Bohnen ausgeführt. Vorweg bemerke ich, daß das Ergebnis vollkommen mit den Erfahrungen übereinstimmt, die am Methylglyoxal gewonnen worden waren. Es entsteht hier nämlich in praktisch quantitativer Ausbeute aus dem Phenylglyoxal die zugehörige Oxysäure, die *Mandelsäure*.

Sehr viel einfacher als bei den Milchsäure liefernden Experimenten mit Methylglyoxal liegen die optischen Verhältnisse, indem nahezu reine *linksdrehende Mandelsäure* in allen Fällen erhalten worden ist.

Diese Resultate werden erzielt, einerlei ob man frische Erbsen in fein gemahlenem Zustande und in Gegenwart von Toluol verwendet, ob man Aceton-Trocken-Erbsen oder wässrige Erbsenextrakte sowie schließlich Alkohol-Äther-Fällungen aus den wässrigen Ferment-

lösungen benutzt. Bei den Bohnen habe ich mich darauf beschränkt, das aus ihnen bereitete Mehl in Gegenwart von Toluol als Antiseptikum zu untersuchen.

Außer durch Schmelzpunkt und Drehung ist die abgeschiedene Mandelsäure in einzelnen Fällen auch noch in Form ihres Silbersalzes identifiziert worden.

Das Phenylglyoxal-hydrat, das zu den Dismutationsversuchen benötigt wurde, ist nach der Vorschrift von *H. Müller* und *H. v. Pechmann*<sup>1)</sup> dargestellt worden. Zur Reinigung wurde es wiederholt aus Wasser umkristallisiert. Es schmolz dann bei 83° und war absolut frei von Mandelsäure.

#### A. Versuche mit Ketonaldehydmutase aus Erfurter Zuckererbsen.

##### 1. Ansatz mit Erbsenmehl.

In eine Suspension von 10 g Calciumcarbonat in 980 ccm Leitungswasser wurde 10 Minuten mit Kaliumpermanganat gewaschene Kohlensäure eingeleitet; darauf wurde das frisch bereitete Mehl von 25 g Zuckererbsen hinzugefügt und die Durchleitung von Kohlendioxyd weitere 5 Minuten fortgesetzt. Nunmehr wurde 1 g reines Phenylglyoxal-hydrat, gelöst in 20 ccm warmen Wassers, und schließlich Toluol in einer Menge von 10 ccm hinzugegeben. Die Stöpselflasche, in der sich der Dismutationsansatz befand, wurde paraffiniert und unter öfterem Umschütteln bei 37° aufbewahrt. Nach 24 Stunden wurden 10 ccm von dem Reaktionsgemisch entnommen und zentrifugiert; die Flüssigkeit wurde mit wenig Essigsäure zur Koagulierung gelösten Eiweißes aufgekocht, filtriert und mit überschüssiger p-Nitro-phenylhydrazin-acetat-lösung versetzt. Da sich auch beim Erwärmen im Wasserbade kein Osazon abschied, war das gesamte Phenylglyoxal bereits verbraucht, und man konnte zur Aufarbeitung schreiten.

##### Isolierung der lävogyren Mandelsäure.

Der ganze Ansatz, dessen Anfangsvolumen 1030 ccm betrug, wurde zentrifugiert und das Zentrifugat ohne Nachwaschung filtriert. Die erhaltenen 928 ccm Flüssigkeit wurden auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft, mit 150 ccm heißem Wasser aufgenommen und mit 10 ccm Phosphorsäure angesäuert. Von ausgefallenen Eiweißsubstanzen wurde abfiltriert, 150 ccm klares Filtrat wurden siebenmal mit viel Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit frisch ge- glühtem Natriumsulfat getrocknet; nach Verflüchtigung des Äthers kristallisierte die Mandelsäure bereits im Destillierkolben aus. Zur Bestimmung der Ausbeute wurde sie mit wenig Äther in eine gewogene

<sup>1)</sup> *H. Müller* und *H. v. Pechmann*, B. 22, 2556, 1889.

Schale übergespült, der Äther verdampft und die Substanz zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute 0,7925 g Mandelsäure, die schon nahezu den richtigen Schmelzpunkt der aktiven Säure besaß. Diese Menge war aus 150 ccm der eingengten und filtrierten Flüssigkeit erhalten. In 160 ccm dieser phosphorsauren Lösung, entsprechend 928 ccm Ausgangsflüssigkeit, waren also 0,8453 g und in dem gesamten Ansatz (1030 ccm) 0,9380 g zugegen. Die Ausbeute an erhaltener Mandelsäure betrug somit 93,8 Proz.

Zur Polarisation wurde die Rohsubstanz aus Benzol umkristallisiert. Schmelzpunkt 132 bis 133°.  $[\alpha]_D^{20} = -152,60^{\circ}$  ( $\alpha = -7,55^{\circ}$ ,  $l = 2$ ,  $c = 2,474$ ).

Sowohl Schmelzpunkt als Drehung zeigen, daß rein linksdrehende Mandelsäure vorlag.

**Silbersalz.** 0,3 g der so erhaltenen l-Mandelsäure wurden unter Neutralisation mit Ammoniak in etwa 5 ccm Wasser gelöst und mit 0,4 g Silbernitrat in 3 ccm Wasser in der Kälte gefällt; das Silbersalz wurde abgenutscht, mit verdünntem und absolutem Alkohol gewaschen. Zur Analyse wurde es aus heißem Wasser umkristallisiert und zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,0660 g Substanz lieferten 0,0272 g Ag.

$C_8H_7O_3Ag$ . Ber.: Ag = 41,66 Proz.; gef.: 41,21 Proz.

### 2. Ansatz mit Erbsensaft.

50 g Erbsenmehl wurden in 150 ccm Leitungswasser suspendiert, mit 1,5 ccm Toluol versetzt und unter öfterem Umschütteln 20 Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Durch Zentrifugieren und Filtrieren wurden 108 ccm Fermentlösung erhalten. Diese wurden auf 250 ccm verdünnt, mit 9 g Calciumcarbonat versetzt, mit Kohlensäure gesättigt und nach Zugabe von 0,9 g Phenylglyoxal-hydrat in 20 ccm Wasser sowie von 2,5 ccm Toluol luftdicht verschlossen bei 37° belassen. Nach 96 Stunden fiel die Osazonprobe (siehe den ersten Ansatz) negativ aus; die Aufarbeitung geschah in gleicher Weise wie beim vorher beschriebenen Versuch. Ausbeute an Mandelsäure 96,3 Proz. Nach Umkristallisation aus Benzol lag der Schmelzpunkt bei 130°.

0,1230 g, gelöst mit Wasser zu 5,0 ccm, drehten im 1-dm-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes 3,61° nach links;  $[\alpha]_D = -146,75^{\circ}$ .

### 3. Ansatz mit gefälltem Ferment der Erbsen.

Aus 50 g Erbsenmehl, 150 ccm Leitungswasser und 1,5 ccm Toluol wurde in der eben beschriebenen Weise eine Enzymlösung bereitet; aus ihr wurde das Ferment mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols und der doppelten Menge Äther niedergeschlagen. Nach Absaugen und

Trocknen im Exsikkator wurden 6,2 g Trockensubstanz erhalten. Diese wurden in 220 ccm Wasser aufgeschwemmt, wobei sich nicht alles löste.

200 ccm der Fermentsuspension wurden mit 9 g Calciumcarbonat, 0,9 g Phenylglyoxal-hydrat in 30 ccm Wasser sowie mit 2 ccm Toluol in einer paraffinierten Flasche bei 37° digeriert.

Die Osazonprobe war nach 72 Stunden negativ. Die nun erfolgte Verarbeitung lieferte in einer Ausbeute von 82 Proz. eine Mandelsäure vom Schmelzpunkt 120 bis 121°; sie bestand zu 72,5 Proz. aus der lävogyren und zu 27,5 Proz. aus der d, l-Form.  $[\alpha]_D = -110,78^\circ$  ( $a = -2,66^\circ$ ,  $l = 1$ ,  $c = 2,401$ ).

#### 4. Ansatz mit Aceton-Trocken-Erbsen.

50 g fein gemahlener Erbsen wurden 10 Minuten mit 250 ccm trockenem Aceton verrieben, scharf abgesaugt und ein zweites Mal in der gleichen Weise mit 200 ccm desselben Wasserentziehungsmittels behandelt. Das nun erhaltene staubende Pulver wurde während 5 Minuten mit 150 ccm absoluten Äthers gut verrieben, dann abgesaugt und im Hochvakuum über Paraffin getrocknet.

25 g dieses Aceton-Trockenpräparats wurden zu einem üblichen Ansatz gegeben, der in 558 ccm 9 g Calciumcarbonat, 0,9 g Phenylglyoxal-hydrat und 5,5 ccm Toluol enthielt. Die luftdicht verschlossene Flasche wurde wie stets unter zeitweisem Schütteln bei 37° aufbewahrt. Als nach 2 Tagen eine entnommene Probe mit essigsäurem p-Nitrophenylhydrazin keinen Niederschlag mehr gab, wurde die Aufarbeitung in der geschilderten Weise vorgenommen.

Aus 450 ccm verwendetem Zentrifugat wurden 0,6902 g Mandelsäure erhalten, das sind 0,8558 g für den ganzen Ansatz oder 95,1 Proz. der Theorie. Der Schmelzpunkt der umkristallisierten Substanz war 131° und  $[\alpha]_D^{20} = -148,64^\circ$  ( $a = -3,60^\circ$ ,  $l = 1$ ,  $c = 2,442$ ).

#### B. Versuch mit Ketonaldehydmutase aus Bohnen.

Ein wie zuvor bereiteter Ansatz enthielt in einem Volumen von 2080 ccm 75 g feines Bohnenmehl, 20 g Calciumcarbonat, 1,45 g reines Phenylglyoxal-hydrat und 20 ccm Toluol. Da nach 60stündigem Stehen bei 37° die Nitrophenyl-osazonreaktion einer entnommenen Probe noch positiv ausfiel, wurden abermals 25 g Bohnenmehl hinzugegeben. Nach weiteren 84 Stunden war das Phenylglyoxal verschwunden. Die Aufarbeitung ergab infolge des hohen Lipoidgehalts der Bohnen einen zunächst mit Fett verunreinigten kristallinischen Rückstand, der zur Säuberung aus heißem Wasser unter Zugabe einer Spur Knochenkohle umkristallisiert wurde. Durch Eindampfen der wässerigen Lösung wurde die nunmehr einwandfrei kristallisierte Mandelsäure in einer Ausbeute von 92,2 Proz. der Theorie erhalten.



Nach Umkristallisation aus Benzol lag der Schmelzpunkt bei 125 bis 126° und die Drehung war  $[\alpha]_D = -139,80^\circ$  ( $a = -6,73^\circ$ ,  $l = 2$ ,  $c = 2,407$ ).

Hier ist folgendes bemerkenswert. Trotz der langen, 6 Tage währenden Versuchsdauer bestand die in fast quantitativer Ausbeute gewonnene Mandelsäure zu mehr als 90 Proz. aus der linksdrehenden. Das besagt, daß die Ketonaldehydmutase die unspezifische Umwandlung des Phenylglyoxal-hydrats zu racemischer Mandelsäure hintanhält. In den übrigen Fällen war die Versuchszeit so kurz (24 bis 96 Stunden), daß die rein chemische Umlagerung des Phenylglyoxal-hydrats auch in fermentfreien Kontrollversuchen niemals den Betrag von 7,5 bis 9,5 Proz. überstieg.

---

# Über die Dismutation des Acetaldots durch *Bacterium ascendens*.

Von

G. Binder-Kotrba.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. Juni 1926.)

Aus den Arbeiten von *C. Neuberg* und *F. Windisch*<sup>1)</sup> weiß man, daß die *Erreger der Essiggärung* nicht allein aus Acetaldehyd gleiche Teile Essigsäure und Äthylalkohol erzeugen, sondern auch die Homologen des Acetaldehyds in ganz analoger Weise dismutieren. Die bisherigen Untersuchungen betreffen einfache Aldehyde der aliphatischen und aromatischen Reihe. Über das Verhalten von Essigbakterien zu den physiologisch bedeutsamen *Oxyaldehyden* liegt bisher keine Untersuchung vor. Auf Veranlassung von *C. Neuberg* und mit besonderer Unterstützung von Fräulein Dr. *M. Kobel* habe ich eine Prüfung dieser Frage am *Acetaldol* unternommen, unter ausdrücklicher Berücksichtigung des Umstandes, daß der verwendete Oxyaldehyd ein racemisches Gebilde ist und die Möglichkeit für den asymmetrischen Verlauf der biologischen Dismutationsreaktion bietet.

Bei Studien über die phytochemische Reduktion, die wahrscheinlich in einer engeren Beziehung zur Dismutation steht, haben *C. Neuberg* und *E. Kerb-Etzdorf*<sup>2)</sup> am Beispiel des Acetaldots den asymmetrischen Verlauf der Hydrierung beobachtet, indem sie rechtsdrehendes  $\beta$ -Butylenglykol isolierten.

Ich habe nun feststellen können, daß auch die einfache Dismutation des  $\beta$ -Oxybuttersäurealdehyds durch das *Bacterium ascendens* asymmetrisch vollzogen wird. In angenähert molekularen Mengen entstehen die zugehörigen Produkte der Disproportionierung,  $\beta$ -Butylenglykol sowie  $\beta$ -Oxybuttersäure.

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *F. Windisch*, diese Zeitschr. 166, 454, 1925.

<sup>2)</sup> *C. Neuberg* und *E. Kerb-Etzdorf*, ebendasselbst 92, 96, 1918.

Das  $\beta$ -Butylenglykol war stark optisch aktiv, und zwar betrug  $[\alpha]_D = +14,6^\circ$ , während fruhier im Höchstfalle  $+10,9^\circ$  beobachtet worden war. Merkwürdigerweise war aber die entsprechende Säure, die  $\beta$ -Oxybuttersäure, nur schwach dextrogyr, nämlich  $[\alpha]_D = +1^\circ$ . Es war also im kleinen Überschuß der Antipode der sonst in der Natur auftretenden linksdrehenden Modifikation gebildet. Warum aber im ganzen die Oxysäure nur zu einem geringfügigen Betrag optisch aktiviert war, vermag ich nicht zu erklären und kann nur das Faktum mitteilen.

Das  $\beta$ -Butylenglykol konnte in Substanz isoliert und durch seinen richtigen Siedepunkt gekennzeichnet werden. Die  $\beta$ -Oxybuttersäure wurde in üblicher Weise durch Ätherextraktion aus dem Reaktionsgut der Bakterien gewonnen und durch ihre leicht auszuführende Umwandlung in  $\alpha$ -Crotonsäure identifiziert.

Die Abtrennung des  $\beta$ -Butylenglykols von der Oxybuttersäure aus dem Reaktionsgemisch nahm ich in der Weise vor, daß ich die klar filtrierte Lösung nach dem Eindampfen in vacuo mit absolutem Alkohol gründlich extrahierte; in diesem lösten sich Glykol und  $\beta$ -oxybuttersaures Salz. Aus dem Rückstand, der beim Verdampfen der Alkohol-lösung hinterbleibt, zog wasserfreies Aceton nur das Glykol aus und ließ  $\beta$ -oxybuttersaures Calcium zurück. Aus diesem wurde durch Schwefel-säure die  $\beta$ -Oxybuttersäure in Freiheit gesetzt und dann in gewohnter Weise nach Sättigung mit Ammoniumsulfat durch Äther am Perkolator extrahiert. In diesem Ätherauszug befand sich dann, wie schon erwähnt, schwach dextrogyre  $\beta$ -Oxybuttersäure. Daß der Ätherrückstand praktisch aus reiner  $\beta$ -Oxybuttersäure bestand, ergab sich durch seine glatte Überführbarkeit in direkt kristallisierende und völlig reine  $\alpha$ -Crotonsäure.

Auf alle Fälle ist der Schluß gerechtfertigt, daß die Dismutation des Acetaldots durch das Bacterium *ascendens* im asymmetrischen Sinne vollzogen wird, und daß hierbei  $\beta$ -Butylenglykol erhalten worden ist, das eine beträchtliche, nebenbei die höchste bisher beobachtete Drehung aufweist.

Das zur Dismutation verwendete Acetaldol wurde nach der bei *Neuberg* und *Kerb-Etzdorf* (l. c.) angegebenen Vorschrift aus Acetaldehyd mit Dinatriumsulfit dargestellt.

Die gut gewaschene Reinkultur von *B. ascendens* wurde in einer 1 1/2 Liter fassenden und sterilisierten Stoselflasche in 500 ccm ausgekochten Wassers suspendiert; an 10 ccm der Aufschwemmung wurde der Gehalt an Trockenbakterien zu 10,59 g für den ganzen Ansatz bestimmt. Nach Zugabe von 10 g keimfreiem Calciumcarbonat wurde durch die Bakterienaufschwemmung 10 Minuten lang mit Kaliumpermanganat gewaschene, entkeimte Kohlensäure geleitet, dann eine Lösung von 3,92 g reinem, frisch destilliertem Acetaldol in 500 ccm sterilen Wassers zu-

gegeben und die Flasche gut paraffiniert. Das Gemisch wurde bei 37° aufbewahrt und vielfach geschüttelt. Zur Kontrolle wurden von Zeit zu Zeit Proben angestellt und die Aldolabnahmen an Hand der Nitroprussidnatrium-Piperidin-Reaktion festgestellt, die nach *Neuberg* und *Kerb-Etzdorf* auch mit dem Aldol positiv verläuft. Nach 72 Stunden fiel die Reaktion negativ aus, d. h. die Dismutation des Acetaldols war beendet. Das Gemisch, dessen Anfangsvolumen 995 ccm betrug, wurde nun zur Aufarbeitung zentrifugiert und die erhaltene klare Flüssigkeit (890 ccm) im *Faust-Heimschen* Apparat bei 25 bis 30° verdunstet. Der sirupöse Rückstand wurde mehrmals durch Verreiben mit 90proz. Alkohol gut extrahiert. Die vereinigten Weingeistauszüge wurden im Vakuum bei 25 bis 30° abdestilliert und der zurückbleibende Sirup in absolutem Alkohol aufgenommen. Von einem geringen Niederschlage wurde abfiltriert und das alkoholische Filtrat wiederum eingeengt. Der nunmehr hinterbliebene Rückstand löste sich in absolutem Alkohol klar auf. Er enthielt das  $\beta$ -Butylenglykol und das oxybuttersaure Calcium.

Zur Trennung des Glykols von dem Salz wurde die alkoholische Lösung in einer Schale vollkommen eingedampft und der Sirup wiederholt mit wasserfreiem Aceton behandelt. Das  $\beta$ -Butylenglykol löste sich darin und das  $\beta$ -oxybuttersaure Calcium schied sich pulverig aus.

#### *$\beta$ -Butylenglykol.*

Die acetonische Glykollösung wurde im Vakuum eingedunstet, mit 15 ccm absolutem Alkohol aufgenommen und zur Beseitigung anhaftender Verunreinigungen mit der gleichen Menge wasserfreien Äthers versetzt. Die nur wenig getrübe Lösung wurde filtriert, im Vakuum zum Sirup verdampft und abermals in absolutem Alkohol gelöst. Nach Trocknung über geglühtem Kaliumcarbonat wurde der Alkohol unter vermindertem Druck vertrieben und das Glykol destilliert. Unter 14 mm gingen bei 109° 0,6769 g reines  $\beta$ -Butylenglykol über; das entspricht 0,76 g Glykol für den ganzen Ansatz. Da theoretisch 2,0 g Butylenglykol gebildet werden könnten, belief sich die Ausbeute auf 38 Proz.

Zur Polarisation wurden die gesamten 0,6769 g zu 5 ccm mit absolutem Alkohol gelöst. Die Drehung war im 2-dm-Rohr  $\alpha = + 3,95^\circ$ , d. h.  $[\alpha]_D = + 14,58^\circ$ .

Zur weiteren Identifizierung des  $\beta$ -Butylenglykols wurde nach Vorschrift von *Neuberg* und *Kerb* (l. c.) sein Verhalten bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd und Bromwasser geprüft. Es wurden die gleichen Resultate erhalten wie in der angeführten Arbeit.

#### *$\beta$ -Oxybuttersäure.*

Das  $\beta$ -oxybuttersaure Calcium wurde in 30 ccm kalten Wassers gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt. Nach Zugabe von 15 g Ammoniumsulfat und 5 ccm 20proz. Schwefelsäure wurde die  $\beta$ -Oxybuttersäure im Perkolator erschöpfend mit Äther extrahiert (Dauer 96 Stunden) und der Auszug über geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Nach Verdampfen des Äthers blieben 1,393 g Substanz zurück.

Ihre Lösung mit Wasser zu 10 ccm zeigte im 2-dm-Rohr eine Drehung von  $\alpha = + 0,28^\circ$ , d. h.  $[\alpha]_D$  war etwa  $+ 1,00^\circ$ .

Identifiziert wurde die  $\beta$ -Oxybuttersäure durch die *Blacksche* Farb-reaktion<sup>1)</sup> mit Wasserstoffsperoxyd + Ferrichlorid + Ferrosulfat sowie durch die Überführung in  $\alpha$ -Crotonsäure unter Wasserabspaltung.

*Darstellung der  $\alpha$ -Crotonsäure.*

4 ccm der zur Polarisation hergestellten Lösung wurden mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure vermischt und am absteigenden Kühler destilliert, wobei durch Zutropfen von Wasser die Anfangskonzentration stets gewahrt wurde. Schon mit den ersten Tropfen Destillat ging die  $\alpha$ -Crotonsäure über und kristallisierte sofort in der in Eis stehenden Vorlage, bei starker Kühlung sogar schon im Kühlerrohr, aus. Durch Absaugen und Abpressen auf Ton wurde die Säure isoliert. Schmelzpunkt 72°. Sie entfärbte Bromwasser augenblicklich.

Zur Darstellung des Silbersalzes wurde etwas Crotonsäure in wenig Wasser gelöst, mit Ammoniak genau neutral gemacht und mit einer konzentrierten Silbernitratlösung gefällt. Das Silbersalz wurde abgenutscht und bis zum Verschwinden der Nitratreaktion erst mit verdünntem, dann mit absolutem Alkohol gewaschen. Nach Trocknung im Hochvakuum wurde der Silbergehalt des Salzes ermittelt.

0,0788 g Substanz ergaben 0,0442 g Silber.

$C_4H_6O_2Ag$ . Ber.: Ag = 55,96 Proz.; gef.: Ag = 56,09 Proz.

---

<sup>1)</sup> Siehe *Neuberg*, *Der Harn*, S. 259.

## Über die Dismutation des Methyl-äthyl-acetaldehyds.

Von

Carl Neuberg und Ernst Simon.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

Bei der phytochemischen Reduktion von Aldehyden werden, wie wir mehrfach betont haben, größere Mengen an Alkoholen gebildet, als der Dismutationsgleichung entsprechen<sup>1)</sup>. Das in manchen Fällen beobachtete Auftreten von Acetaldehyd im Verlaufe solcher phytochemischen Reduktionen legte den Gedanken nahe, daß es sich bei diesen Erscheinungen gewissermaßen um eine Konkurrenz des zugegebenen Aldehyds mit dem Gärungsacetaldehyd um den labilen „Gärungswasserstoff“ handelt, derart, daß der fremde Wasserstoffakzeptor den natürlichen (Acetaldehyd) abdrängt. Der Acetaldehyd kann dann als solcher übrig bleiben oder sekundären Umwandlungen unterliegen. Diese nachträglichen Veränderungen beruhen unter anderem auf Dismutationen. Da nun normalerweise der Gärungsacetaldehyd gemäß dem Gärungsschema auf dem Wege der Dismutation umgesetzt wird, so scheint mit diesem Vorgange die phytochemische Reduktion im Zusammenhange zu stehen.

Nach Erfahrungen von *C. Neuberg* und *F. Windisch*<sup>2)</sup> läßt sich die Dismutation besonders glatt mit den Essigbakterien herbeiführen. Diese enthalten gewissermaßen ein verkümmertes Gärsystem: sie lösen keine desmolytischen Vorgänge am Hexosenmolekül mehr aus, verfügen aber noch über Carboxylase, Ketonaldehydmutase sowie Aldehydrase. Die Verfolgung der *phytochemischen Reduktion* an *razemischen Aldehyden* oder an *Ketonen*, die bei der Hydrierung ein *asymmetrisches Kohlenstoffatom* erlangen, hat ergeben<sup>3)</sup>, daß die phytochemische

<sup>1)</sup> Z. B. *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. 52, 2241, 1919.

<sup>2)</sup> *C. Neuberg* und *Fr. Windisch*, diese Zeitschr. 166, 454, 1925.

<sup>3)</sup> *C. Neuberg* und *W. H. Peterson*, diese Zeitschr. 67, 32, 1914; *C. Neuberg* und *M. Ringer*, ebendasselbst 90, 388, 1918; *C. Neuberg* und *A. Lewite*, ebendasselbst 91, 257, 1918; *C. Neuberg* und *E. Kerb*, ebendasselbst 92, 96 und 111, 1918; *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. 52, 2237 und 2248, 1919; *E. Färber*, *F. F. Nord* und *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 112, 313, 1920; *P. Santomauro*, ebendasselbst 151, 48, 1914; *H. K. Sen*, ebendasselbst 151, 51, 1924; *L. Rosenfeld*, ebendasselbst 156, 54, 1925; *C. Neuberg* und *M. Kobel*, ebendasselbst 160, 250, 1925.

Reduktion in allen untersuchten Beispielen optisch gerichtet ist und zu einem mit Drehkraft ausgestatteten primären oder sekundären Alkohol führt.

Es war nun von Belang, zu ermitteln, ob die einfache *Dismutation* razemischer Aldehyde optisch aktive oder inaktive Produkte liefert. Im ersten Falle wäre der Prozeß der phytochemischen Reduktion an die Seite zu stellen, im letzten Falle davon abzusondern.

Wir wählten als Versuchsobjekt für eine Prüfung dieser Frage den *Methyl-äthyl-acetaldehyd* (*d. l.-Valeraldehyd*). Diese Substanz ist von C. Neuberg und M. Ringer<sup>1)</sup> auf ihr Verhalten bei der phytochemischen Reduktion untersucht worden. Es hatte sich gezeigt, daß hierbei optisch aktiver Amylalkohol, und zwar die linksdrehende Form des Methyl-äthyl-carbin-carbinols auftritt, die man mit W. Marckwald<sup>2)</sup> als *d*-Amylalkohol zu bezeichnen hat. Es entstand ein Amylalkohol, der 10 bis 16 Proz. der linksdrehenden Komponente einschloß.

Bei der Dismutation des genannten razemischen Valeraldehyds in der Versuchsanordnung von Neuberg und Windisch (l. c.) durch zwei Erreger der Essigsäuregärung, durch das *Bacterium ascendens* und *Bacterium xylinum*, erhielten wir nur mit letzterem ein eindeutiges Resultat. Der Methyl-äthyl-acetaldehyd wurde stets quantitativ dismutiert. Das *Bacterium xylinum* ergab dabei inaktiven Amylalkohol und inaktive Valeriansäure. Mit *Bacterium ascendens* entstand in zwei Fällen inaktive Säure, aber in einem Falle, in dem ein Aceton-Trocken-Präparat des Erregers benutzt wurde, ein schwach lävogyrer Amylalkohol.

Um einen weiteren Beitrag zu diesem Problem zu erbringen, haben wir die Dismutation des Methyl-äthyl-acetaldehyds auch durch tierische Zellen, und zwar durch Pferdeleber, nach der Vorschrift vorgenommen, die I. K. Parnas<sup>3)</sup> für die Verwirklichung der Cannizzaroschen Reaktion durch animalische Gewebe empfohlen hat. Wir konnten uns nicht genau an die Angaben dieses Forschers halten, weil der Methyl-äthyl-acetaldehyd anscheinend langsamer umgelagert wird, als der von dem Autor verwendete Isovaleraldehyd und *n*-Valeraldehyd. In 3 Stunden war nämlich (entgegen den Erfahrungen von Parnas) die Reaktion keineswegs beendet. Bei längerer Dauer der Versuche trat nicht unbeträchtliche Fäulnis ein. Wir haben deshalb in Gegenwart eines Antiseptikums gearbeitet und als solches Allyl-senföl benutzt, da sich dieses wieder entfernen läßt<sup>4)</sup> und somit sich dem in Substanz abzuschheidenden und auf seine Drehung zu prüfenden Amylalkohol nicht beimengt. Trotz

1) C. Neuberg und M. Ringer, diese Zeitschr. 90, 388, 1918.

2) W. Marckwald, Ber. 35, 1599, 1902.

3) I. K. Parnas, diese Zeitschr. 28, 274, 1910.

4) R. Iwatsuru, ebendasselbst 173, 351, 1926.

Ausdehnung des Versuchs auf zwei Tage blieb vom d,l-Valeraldehyd ein Teil unangegriffen, doch gelang es uns, Amylalkohol aus dem Reaktionsprodukt herauszufractionieren. Dieser zeigte keinerlei Drehung.

In den nicht ganz einwandfrei verlaufenen, ohne Desinfizienz angestellten Versuchen wurden dagegen in beiden Fällen schwach lävo-gyre Amylalkohole erhalten, doch kann hier eine Mitwirkung von Bakterien nicht ausgeschlossen werden.

Im ganzen folgt aus den Versuchen, daß im Falle des razemischen Valeraldehyds keine besondere Neigung zur asymmetrischen Vollziehung der Dismutation besteht.

Für das anfangs erwähnte Problem bringen diese Ergebnisse nur statistische Beiträge; in einem anderen Falle, beim *Acetaldol*, vermochte Herr *G. Binder-Kotrba*<sup>1)</sup> eine außerordentlich starke optische Aktivierung des durch Dismutation erzeugten  $\beta$ -Butylenglykols zu konstatieren.

Wir bemerken schließlich, daß wir in allen diesen Fällen auf die Entstehung sowie auf die polarimetrischen Eigenschaften des Alkohols größeren Wert legen als auf die Säure; denn letztere kann auch durch unspezifische Autoxydation des Aldehyds, ein Alkohol mit Drehungsvermögen aber nur durch biochemische Faktoren gebildet sein, weil nur diese die Bedingungen für eine solche „Reduktion“ schaffen.

#### Experimenteller Teil.

Zu den Versuchen diente ein nach der Vorschrift von *L. Claisen*<sup>2)</sup> und *V. Neustädter*<sup>3)</sup> synthetisch bereiteter d,l-Methyl-äthyl-acetaldehyd. Vor jedem Ansatz wurde der Aldehyd frisch rektifiziert und nur der bei 91° übergehende Anteil benutzt.

##### I. Versuche mit Bakterien.

a) Die gut gewaschene Kultur von *Bacterium xylinum* wurde in einer sterilisierten 2-Liter-Stöpselflasche in 1000 ccm physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Mit einem Teile der Bakterien wurde der Gehalt an Trockensubstanz zu 3,4 g für den ganzen Ansatz bestimmt. Nach Zugabe von 20 g kohlensauren Kalks wurde durch die Bakterienaufschwemmung 10 Minuten lang mit Kaliumpermanganat gewaschene Kohlensäure geleitet, dann Methyl-äthyl-acetaldehyd (3 g = 3,75 ccm) hinzugesetzt und die Flasche gut paraffiniert. Das Gemisch wurde im Brutschrank bei 37° aufbewahrt und vielfach geschüttelt. Nach 2 Tagen war in entnommenen 10,0 ccm kein Aldehyd nach erfolgter Destillation mehr nachzuweisen, so daß zur Aufarbeitung geschritten werden konnte. Das gesamte Gemisch wurde darauf mit Wasserdampf behandelt und die 1½fache Menge des Flüssigkeitsvolumens an Destillat aufgefangen. Durch anreichernde Destillation wurde der Alkohol bis auf 20 ccm eingeengt und die Endlösung, die in

<sup>1)</sup> *G. Binder-Kotrba*, diese Zeitschr. 174, 448, 1926.

<sup>2)</sup> *L. Claisen*, Ber. 88, 707, 1905.

<sup>3)</sup> *V. Neustädter*, Monatsh. f. Chem. 27, 887, 1906.



einem fein graduierten Zylinder aufgefangen war, mit Kaliumcarbonat gesättigt. Es schieden sich 1,3 ccm Amylalkohol ab, die durch den Siedepunkt charakterisiert wurden. Im 2-cm-Rohre war keine Drehung festzustellen.

Der bei der Wasserdampfdestillation verbliebene Kolbeninhalt wurde heiß filtriert, mit Wasser nachgewaschen und in einer Schale mit Kaliumcarbonat eingedampft. Das Residuum wurde mit Alkohol extrahiert, der Alkohol verdampft und das in Lösung gegangene valeriansaure Kalium mit Wasser aufgenommen. Darauf wurde die Flüssigkeit mit Phosphorsäure kongosauer gemacht und wiederum mit Wasserdampf destilliert. Das Gesamtvolumen des Destillats betrug 1120 ccm. 50 ccm der Flüssigkeit verbrauchten 7,5 ccm n/10 NaOH, was einem Gehalt von 1,71 g Valeriansäure entspricht. Entstehen konnten 1,77 g Valeriansäure. Das Destillat wurde nochmals mit  $K_2CO_3$  eingedampft, der feste Rückstand mit Alkohol extrahiert und nach der Entfernung des Weingeistes in 10 ccm Wasser aufgenommen. Im 2-cm-Rohr ließ sich keine Drehung wahrnehmen. Die Lösung wurde nunmehr zur Entfernung vorhandener Chlorionen mit einigen Tropfen verdünnter Silbernitratlösung versetzt, über Nacht stehengelassen und am nächsten Tage filtriert. Durch Zufügen von konzentrierter  $AgNO_3$ -Lösung wurde dann das Silbersalz ausgefällt. Der flockige, weiße Niederschlag wurde abgesaugt, zweimal mit 30proz., einmal mit 50proz. und zweimal mit 100proz. Alkohol gewaschen. Das Salz wurde schließlich im Vakuumexsikkator getrocknet.

0,2855 g Substanz gaben 0,1497 g Ag.

$C_8H_{10}O_2$  Ag. Ber.: Ag = 51,68 Proz.; gef.: Ag 52,43 Proz.

b) Ein mit *Bacterium ascendens* vorgenommener Ansatz (3 g Aldehyd und eine 13,7 g Trockensubstanz entsprechende Bakterienmenge enthaltend) wurde in der gleichen Weise aufgearbeitet und lieferte folgende Resultate:

Gef.: 1,70 g Valeriansäure; ber.: 1,77 g Valeriansäure,  
 „ 1,3 ccm Amylalkohol; „ 1,8 ccm Amylalkohol.

Weder der Alkohol noch die Säure waren optisch aktiv.

c) und d) In zwei anderen Versuchen wurden *Aceton-Trocken-Präparate*<sup>1)</sup> von *Bacterium ascendens* (8 bzw. 11 g) verwendet. Der nach Destillation abgeschiedene und richtig siedende Amylalkohol wies im 2-cm-Rohr eine Linksdrehung von  $-0,4^\circ$  auf. Die Säure besaß keinerlei Drehungsvermögen.

Gef.: 1,80 g Säure bzw. 1,63 g Säure; ber.: 1,77 g Säure.

## II. Versuche mit Pferdeleber.

Die Leber war den Tieren unmittelbar nach dem Tode entnommen und in der Fleischhackmaschine zu einem feinen Brei zerkleinert.

Der Ansatz wurde folgendermaßen bereitet:

- a) 500 ccm 0,85proz. NaCl-Lösung,  
 10 g  $CaCO_3$ ,  
 250 g Leberbrei,  
 5 g (6,25 ccm) Methyl-äthyl-acetaldehyd.

Erhalten wurden 2,8 ccm Amylalkohol.

<sup>1)</sup> Darstellung wie für Aceton-Trocken-Hefe.

Im 2-cm-Rohr betrug  $\alpha = -1,20^\circ$ , was einem Überschuß an d-Amylalkohol von etwa 11 Proz. entspricht.

b) und c) In gemeinsam verarbeiteten Ansätzen mit 1000 g Leberbrei, 2000 ccm  $H_2O$ , 30 g  $CaCO_3$  und 10 g (12,5 ccm) Methyl-äthyl-acetaldehyd wurden 5,1 ccm Amylalkohol erzielt, die im 2-cm-Rohr eine Linksdrehung von  $-0,4$  bzw.  $-0,15^\circ$  aufwiesen.

d) In den Versuchen, die unter Beigabe von Allylsenföls als Antiseptikum angestellt waren, mußte der Analysengang zwecks Beseitigung des Senföls, das mit dem Amylalkohol zusammen überdestilliert, etwas modifiziert werden<sup>1)</sup>.

Nach der Anreicherung auf rund 500 ccm wurden 35 ccm Ammoniak hinzugefügt. Nach Stehen über Nacht wurde destilliert, das Destillat mit Schwefelsäure angesäuert und nach erneuter Destillation zur Bindung schwefelhaltiger Bestandteile mit alkalischer Bleilösung versetzt. Die weitere Aufarbeitung geschah in üblicher Weise. Der abgeschiedene Amylalkohol wurde von der mit  $K_2CO_3$  gesättigten Lösung abgehoben, über frisch geglühtem Natriumsulfat getrocknet und rektifiziert. Dabei zeigte es sich, daß noch etwas unveränderter Aldehyd zugegen war. Eine optische Aktivität der herausfraktionierten Alkohole konnte nicht nachgewiesen werden. Die Valeriansäure wurde in folgender Weise erhalten: Der Rückstand der Wasserdampfdestillation wurde zentrifugiert und die erhaltene Flüssigkeit in einer Schale mit  $K_2CO_3$  eingedampft, mit Wasser aufgenommen, filtriert und nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure der Wasserdampfdestillation unterworfen. Die Titration ergab, da der Aldehyd nicht quantitativ umgewandelt gewesen war, einen zu niedrigen Wert. Das Destillat wurde wieder mit einem geringen Überschuß von  $K_2CO_3$  eingedampft, mit Alkohol extrahiert; nach dem Verjagen des letzteren wurde das Salz mit Wasser in ein 10 ccm Meßkölbchen übergeführt. Im 2-cm-Rohr konnte eine schwache Rechtsdrehung wahrgenommen werden. Bekanntlich gehören lävogyrer Amylalkohol und dextrogyre Valerianate zur gleichen sterischen Gruppe.

---

<sup>1)</sup> Vgl. *R. Iwatsuru*, l. c.

# Über die Verschiedenheit der Sulfatase und Myrosinase.

## VIII. Mitteilung über Sulfatase.

Von

Carl Neuberg und Joachim Wagner.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

Bald nach Auffindung der *Sulfatase*, die zunächst in pflanzlichen Materialien<sup>1)</sup>, dann auch als ein sogar besonders weit verbreitetes Enzym im Tierkörper<sup>2)</sup> nachgewiesen werden konnte, haben wir die Frage nach der *spezifischen Wirkung dieses Ferments* in Angriff genommen<sup>3)</sup>. Wir hatten bereits festgestellt, daß die Sulfatase nur auf solche Verbindungen spaltend einwirkt, bei denen ein Hydroxyl von aromatischem Charakter mit der Schwefelsäure verestert ist. Wir haben gezeigt, daß die ätherschwefelsauren Salze der einfachen Phenole und Naphthole, der Dioxycbenzole, der substituierten Phenole, der Phenolaldehyde und der Phenolcarbonsäuren dem Angriff durch das genannte Enzym zugänglich sind. Ebenso verhalten sich die Ätherschwefelsäuren, die sich von den Hydroxylverbindungen stickstoffhaltiger Ringsysteme, vom Oxychinolin und Indoxyl, ableiten; bekanntermaßen besitzen die hydroxylierten Indole und Chinoline Phenolcharakter. Hingegen haben sich die ätherschwefelsauren Salze des Äthylalkohols, des Amylalkohols, des m-Methyl-zyklohexanols sowie des d- und l-Borneols als resistent gegen die Sulfatase animalischer und vegetabilischer Herkunft erwiesen. Ebenso widerstandsfähig war das Äthersulfat der Mandelsäure. Aus diesem Verhalten ergibt sich, daß hydroaromatische oder aliphatische Ätherschwefelsäuren (im Mandelsäurederivat haftet die Schwefelsäure an der aliphatischen Seitenkette) sulfatatisch nicht zerlegt werden. Die bereits früher aufgeworfene<sup>4)</sup> Frage, ob die *Schwefelsäure-ester der einfachen und stickstoffhaltigen Kohlenhydrate* von der typischen Sulfatase gespalten würden, haben wir jetzt einer näheren Prüfung unterzogen.

<sup>1)</sup> C. Neuberg und K. Kurono, diese Zeitschr. 140, 295, 1923.

<sup>2)</sup> C. Neuberg und E. Simon, ebendasselbst 156, 365, 1925.

<sup>3)</sup> C. Neuberg und J. Wagner, ebendasselbst 161, 492, 1925.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. 140, 297, 1923; Naturw. 12, 797, 1924.

Ganz kurz sei bemerkt, daß wir bislang eine Angreifbarkeit der *künstlich bereiteten*<sup>1)</sup> Schwefelsäure-ester von Kohlenhydraten, der Saccharose- und Galaktose-schwefelsäure, durch tierische und pflanzliche Sulfatase nicht konstatiert haben. Wichtiger war der Vergleich mit hierhin gehörigen Naturprodukten. Von diesen sind zwei Körperklassen weit verbreitet, die Verbindungen der Chondroitin-schwefelsäuregruppe und die gepaarten Senfölglycoside vom Typus des Sinigrins.

Die Versuche ergaben, daß das Sinigrin (myronsaures Kalium = esterschwefelsaures Kaliumsalz des Allylsenfölglycosids) der pflanzlichen und tierischen Sulfatase durchaus widersteht, während umgekehrt die Myrosinase, das auf Senfölglycoside eingestellte Enzym, ohne jede Einwirkung auf die Substrate der eigentlichen Sulfatase, beispielsweise auf phenolätherschwefelsaure Salze, ist. Solche Versuche haben wir stets nebeneinander und unter gleichen äußeren Bedingungen vorgenommen. Die benutzte Myrosinase war unter Verwendung einer von *L. A. Schütz*<sup>2)</sup> stammenden Vorschrift dargestellt und von außerordentlicher Wirksamkeit. Sie zerlegte eine m/20 Sinigrinlösung in wenigen Minuten kräftig und — gemessen an der Schwefelsäureablösung — vollständig innerhalb eines Tages. Das phenolätherschwefelsaure Kalium, das gegen diese Myrosinase resistent war, wurde von Pilzsulfatase in dem früher von uns festgestellten Umfange hydrolysiert; dieser betrug beispielsweise nach 12 Tagen 69 Proz. Im gleichzeitig angesetzten Versuch mit Myrosinase war auch nicht eine Spur von Schwefelsäure aus dem Phenoläthersulfat frei geworden.

Das Myrosinase-ferment gewinnt man aus dem Samen des weißen Senfs (*Sinapis alba*). Es enthält daher zunächst kleine Mengen von *Sinalbin*. Dieses ist ein ätherschwefelsaures Salz des p-Oxybenzylsenfölglycosids; bei ihm ist das in den natürlich vorkommenden ätherschwefelsauren Salzen für gewöhnlich enthaltene Kalium durch die organische Basis Sinapin ersetzt. Wegen dieser Ätherschwefelsäurenatur des Sinalbins werden in einer Lösung des Myrosinase-ferments langsam Sulfationen abgespalten. Man kann die hieraus sich ergebenden Unbequemlichkeiten nun leicht umgehen, wenn man eine *gealterte Myrosinaselösung* benutzt, d. h. eine solche, in der das arteigene Substrat bereits vollkommen zerlegt worden ist. In Anlehnung an die Angaben von *Schütz* gehen wir folgendermaßen vor.

100 g weißer Senfsamen, der in einer Kaffeemühle zwei- bis dreimal durchgemahlen ist, wird mit 300 ccm Wasser versetzt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird zentrifugiert. Die Lösung ist zu-

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *H. Pollak*, diese Zeitschr. 26, 514, 1910; *T. Soda*, ebendasselbst 135, 621, 1923; *S. Akamatsu*, ebendasselbst 142, 181, 1923.

<sup>2)</sup> *L. A. Schütz*, Inauguraldissertation, Jena 1914.

meist nicht klar, sondern durch Öltropfen getrübt. Ohne Rücksicht darauf wird mit dem gleichen Volumen 90proz. Weingeist gefällt. Die ausgeschiedene weiße flockige Masse wird abzentrifugiert, direkt im Zentrifugenbecher mit 70proz. Alkohol aufgerührt und gewaschen. Der nach erneutem Abschleudern verbliebene Rückstand wird in 100 ccm Wasser eingeweicht und nach 12stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur durch Filtrierpapier gegossen. Jetzt resultierte eine völlig klare Myrosinaselösung. Dieselbe enthält enzymatisch abspaltbare, gebundene Schwefelsäure, die auch beim Kochen mit Salzsäure unter Zusatz von Chlorbarium leicht nachgewiesen werden kann. Wir ließen die Fermentlösung unter Zugabe von 1 Proz. des Flüssigkeitsvolumens an Tohuol 3 bis 4 Tage im Eisschrank stehen; dann war alles vorhandene Äthersulfat hydrolysiert. Eine mit Bariumacetat ausgefällte und klar filtrierte Probe lieferte jetzt beim Kochen mit Salzsäure keine Spur Bariumsulfat mehr. Diese Fermentlösung, die also frei von organisch gebundener Schwefelsäure geworden ist, kann nun für alle Fermentversuche benutzt werden. Das Fortschreiten der enzymatischen Ätherschwefelsäurespaltung wird nämlich zweckmäßig indirekt festgestellt, indem man alles anorganische Sulfat mit Bariumacetat niederschlägt und im Filtrat die noch in organischer Verknüpfung verbliebene Schwefelsäure nach Hydrolyse mittels Salzsäure ermittelt.

Wie bereits erwähnt, wirkt eigentliche Sulfatase nur auf Äthersulfate aromatischer Hydroxylkörper, die Myrosinase nur auf die Äthersulfate der Senfölglicoside. Der wechselseitige Austausch von Ferment und Substrat zeigt jeweils völlige Wirkungslosigkeit an.

Diese Ergebnisse erbringen einen neuen Beweis für die ungemein weitgehende Spezifität von Fermenten in ihrem Verhalten gegenüber Substanzen mit chemisch ähnlichem Bau.

#### Versuchsteil.

Als Sulfatase-material benutzten wir das Trockenpräparat aus dem Schimmelpilz *Aspergillus oryzae*, welches vor tierischem Enzym den Vorzug größerer Wirksamkeit und einfacherer Handhabung besitzt. Die Bereitung der Myrosinaselösung ist schon im allgemeinen Teile erwähnt.

Das zu den Versuchen nötige myronsaure Kalium gewannen wir aus den Samen des schwarzen Senfs (*Brassica nigra*) nach der Vorschrift, die *J. Gadamer* in einer grundlegenden Arbeit<sup>1)</sup> angegeben hat. Seine Daten über die Ausbeute können wir bestätigen. Das Präparat wurde so lange aus verdünntem Alkohol umkristallisiert, bis keine Spur

<sup>1)</sup> *J. Gadamer*, Habilitationsschrift, Marburg 1897, S. 4; siehe ferner *W. Schneider* und *F. Wrede*, B. 47, 2225, 1914.

von anorganischer Schwefelsäure mehr darin nachweisbar war. Von hinreichender Reinheit des Sinigrins überzeugten wir uns außer durch Kontrolle des Schmelzpunkts (127 bis 128°) auch durch Bestimmung der spezifischen Drehung. In wässriger 5proz. Lösung fanden wir diese zu  $-17,4$  bis  $-17,6^{\circ}$ , während *Gadamer* (l. c.)  $-15,4^{\circ}$  festgestellt hatte, eine Zahl, die dann später von *Schütz* (l. c.) auf den Wert  $-18,1^{\circ}$  im Verlauf der bedeutungsvollen Arbeiten *W. Schneiders* in Jena über die Senfölglycoside erhöht werden konnte.

Das phenol-schwefelsaure Kalium wurde in üblicher Weise bereitet. Seine Reinheit wurde neben der qualitativen Prüfung auf Abwesenheit von anorganischen Beimengungen durch eine Schwefelsäure-analyse kontrolliert.

Die Versuche wurden sämtlich so vorgenommen, daß die Agenzien in trockenen, vollkommen dicht schließenden Glasstöpselflaschen vermennt und einer Temperatur von 37 bis 40° im Brutschrank ausgesetzt wurden. Eine Zugabe von 1 Proz. des Flüssigkeitsvolumens an Toluol sicherte die Sterilität. Zur Vermeidung unspezifischer Hydrolyse durch frei werdende Schwefelsäure fügten wir allen Ansätzen gefälltes reines Calciumcarbonat im Überschuß hinzu.

Die Analysenmethodik war im Prinzip die gleiche, wie sie schon früher von *Neuberg* und *Wagner* (l. c.) beschrieben worden ist.

Wir entnahmen stets 20,0 ccm Reaktionsflüssigkeit, vermischten sie in einem trockenen *Erlenmeyer*-Kolben mit 10,0 ccm 20proz. Bariumacetatlösung, ließen zum Absitzen des Niederschlags 1 Stunde stehen und gossen dann durch ein trockenes Filter. 25,0 ccm klares Filtrat wurden in ein trockenes Becherglas übergeführt, darin mit 15 ccm verdünnter Salzsäure versetzt und 6 bis 8 Stunden im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dieser Zeit ist die Hydrolyse des restierenden, ungefällt gebliebenen myronsauren Kaliums durch die Säure völlig quantitativ vollzogen.

Die Heranziehung von Bariumacetat als Fällungsmittel für die abgespaltene Schwefelsäure erwies sich deshalb als geboten, weil das myronsaure Kalium durch alkalische Chlorbariumlösung, die man sonst zur Ausfällung verwendet, auch in der Kälte etwas zersetzt werden kann, während das Glucosid gegen die Bariumacetatlösung durchaus beständig war.

Sofort nach Ansatz der Versuche ausgeführte Anfangsbestimmungen und in bestimmten Zeitintervallen wiederholte Analysen belehrten uns über den jeweiligen Gesamtgehalt der Lösungen an organisch gebundener Schwefelsäure und damit über den Fortgang der enzymatischen Hydrolyse.

### 1. Sulfatase und Sinigrin.

Das Sinigrin gelangte in rund  $m/20$  und  $m/40$  Lösungen zur Anwendung. Die benutzte Sulfatase ließen wir zugleich zwecks Kontrolle ihrer Wirksamkeit auf phenolschwefelsaures Kalium ebenfalls in  $m/20$  und  $m/40$  Lösungen einwirken. Außerdem wurden Lösungen beider Verbindungen ohne Enzym nur mit Calciumcarbonat zusammen unter sonst gleichen Bedingungen im Thermostaten aufgehoben, um die

Beständigkeit der Salze für sich zu prüfen. Die enzymfreien Lösungen des Phenolderivats waren, im Einklange mit allen unseren früheren Ergebnissen, absolut resistent, während das myronsaure Kalium eine ganz geringfügige Selbstzersetzung erfuhr, wie aus der Tabelle I hervorgeht. Das benutzte Fermentmaterial war praktisch frei von organischer Schwefelsäure.

Zusammensetzung der Lösungen.

<i>Stammlösung A.</i>	Sinigrin etwa m/20:	4,1514 g	in 200 ccm Wasser,
„ B.	„ „	m/40: 2,0781 g	„ 200 „ „
„ C.	Phenolsalz etwa m/20:	2,6230 g	in 250 ccm Wasser,
„ D.	„ „	m/40: 1,3125 g	„ 250 „ „

*Ansätze:*

I.	Stammlösung A	100 ccm
	Sulfatase	2 g
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
II.	Stammlösung A	100 ccm
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
III.	Stammlösung B	100 ccm
	Sulfatase	2 g
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
IV.	Stammlösung B	100 ccm
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
V.	Stammlösung C	100 ccm
	Sulfatase	2 g
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
VI.	Stammlösung C	100 ccm
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
VII.	Stammlösung D	100 ccm
	Sulfatase	2 g
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
VIII.	Stammlösung D	100 ccm
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.
IX.	Sulfatase	2 g
	Wasser	100 ccm
	CaCO <sub>3</sub>	2 g
	Toluol	1 ccm.

Die folgende Tabelle I zeigt die bei diesem Versuche gewonnenen Ergebnisse.





2. *Myrosinase und phenol-schwefelsaures Kalium.*

Myrosinaselösung wurde direkt als Solvens für das Phenolsalz verwendet. Die Myrosinase ließen wir zur Kontrolle ihres Spaltungsvermögens auf Sinigrin als adäquates Substrat einwirken. Die fermentative Zerlegung war hier so groß, daß schon nach wenigen Minuten starker Geruch nach Allylsenföhl als Zeichen der enzymatischen Tätigkeit auftrat, so daß die Anfangsbestimmung mit möglichster Beschleunigung durchgeführt werden mußte.

Die Beständigkeit der beiden Salze wurde nochmals in fermentfreien Ansätzen, nur mit Calciumcarbonat als Bodenkörper geprüft. Die Myrosinaselösung enthielt keine irgendwie ins Gewicht fallenden Mengen von organischem Sulfat. Die Substrate gelangten wieder in Konzentrationen von m/20 sowie m/40 zur Anwendung.

Zusammensetzung der Lösungen.

I. Myrosinaselösung . . . . .	100 ccm
Phenolsalz rund m/20 . . . . .	1,0610 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
II. Wasser . . . . .	100 ccm
Phenolsalz rund m/20 . . . . .	1,0613 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
III. Myrosinaselösung . . . . .	100 ccm
Phenolsalz rund m/40 . . . . .	0,5310 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
IV. Wasser . . . . .	100 ccm
Phenolsalz rund m/40 . . . . .	0,5321 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
V. Myrosinaselösung . . . . .	100 ccm
Sinigrin etwa m/20. . . . .	2,0741 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
VI. Wasser . . . . .	100 ccm
Sinigrin etwa m/20. . . . .	2,0756 g
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.
VII. Myrosinaselösung . . . . .	100 ccm
CaCO <sub>3</sub> . . . . .	2 g
Toluol . . . . .	1 ccm.

In Tabelle II sind die erzielten Ergebnisse zusammengestellt.

Die Tabelle III gibt Auskunft über die jeweiligen Aciditätsverhältnisse in den einzelnen Ansätzen. Diese Werte blieben während der Dauer der Versuche praktisch unverändert.

**Weiteres über die Reaktion einzelner Zuckerarten  
mit verschiedenen Aminosäuren nebst Bemerkungen über die  
Vergärung von Aminosäuren-Zucker-Gemischen.**

Von

**Carl Neuberg und Maria Kobel.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

Vor Jahresfrist haben wir mitgeteilt<sup>1)</sup>, daß der *Fruchtzucker* die eigentümliche Fähigkeit aufweist, sich mit *d,l-Alanin* momentan und bei Zimmertemperatur sowie bei neutraler Reaktion umzusetzen. Die eintretende Veränderung ist an einer beträchtlichen, *augenblicklich* erfolgenden *Zunahme der Linksdrehung* zu konstatieren. Darin unterscheidet sich die von uns beobachtete Erscheinung grundsätzlich von jeder früher angegebenen Reaktion zwischen Zuckerarten und Aminosäuren; denn sie verlangten entweder hohe Wärmegrade oder alkalisches Milieu und zum Teil auch eine Ausdehnung der Versuche auf Wochen und Monate.

Unter den von uns gewählten Bedingungen, bei denen *absichtlich* der *Zusatz* irgendwelcher regulierender Alkalien oder Säuren unterblieb, d. h. in Versuchen bei derjenigen Wasserstoffionenkonzentration, die reinem Zucker plus reiner Aminosäure eigen ist, reagiert in deutlicher Weise nur der Fruchtzucker mit dem racemischen Alanin, nicht aber die d-Glucose.

Verläßt man das Gebiet der Neutralität, so gibt, wie jüngst — im Einklang mit den älteren Ergebnissen — in interessanten Ausführungen *H. Borsook* und *H. Wasteneys*<sup>2)</sup> und ferner *H. von Euler* und *K. Josephson*<sup>3)</sup> beschreiben, auch die Glucose einen Ausschlag, wenn man sie mit Lösungen von *Glykokoll* zusammenbringt. Die Drehungsänderung, und zwar die Verminderung der Anfangsdrehung, ist im *alkalischen Bereich* (Zusatz von Natronlauge) größer als im sauren. Die Autoren vermuten, daß nicht die Gleichgewichts-Glucose selbst, sondern ein in alkalischem Milieu aus ihr entstehendes Umwandlungs-

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *M. Kobel*, diese Zeitschr. 162, 496, 1925.

<sup>2)</sup> *H. Borsook* und *H. Wasteneys*, Biochem. Journ. 19, 1136, 1925.

<sup>3)</sup> *H. v. Euler* und *K. Josephson*, H. 158, 3, 1926.

produkt (acyclische Modifikation) mit der Aminogruppe reagiert, wobei vielleicht aus der Lactonform des Zuckers ein Gebilde mit wahrer Aldehydgruppe hervorgeht; die gleiche Anschauung hat früher *J. Groot*<sup>1)</sup> geäußert.

Die früher angekündigte Fortsetzung unserer *Versuche in der Neutralitätszone* haben wir vorgenommen und hierfür zunächst, um vorbereitend eventuell Anhaltspunkte für ein ungleiches Verhalten der beiden Alanin-antipoden gegenüber dem optisch aktiven Zucker zu finden, *aktives Alanin* benutzt und sodann auch höhere Aminosäuren herangezogen. Verwendet wurden außer *l (+)-Alanin* die *l (+)-Asparaginsäure* und die zur gleichen Konfigurationsgruppe<sup>2)</sup> gehörenden *Glutaminsäure* sowie *Arginin*. Die Wahl fiel gerade auf diese Aminosäuren, weil sie Bausteine der natürlichen Proteine sind und weil sie in gewisser Beziehung extreme Verhältnisse darbieten, die letztgenannte Verbindung als *Diaminosäuren-derivat* und die beiden erstgenannten Substanzen wegen ihrer *Dicarbonsäuren-natur*. Um das von uns befolgte Prinzip möglicher Neutralität bei diesen Aminosäuren gleichfalls zu wahren, haben wir deren Salze verwenden müssen. Das Arginin wurde als Nitrat, die beiden Dicarbonsäuren als Mono-Natriumsalze benutzt. Das  $p_H$  wurde überall auf 7,0 eingestellt. Überraschenderweise hat sich gezeigt, daß *außerordentlich große Ausschläge mit der Asparaginsäure und Glutaminsäure* zustande kommen. Diese drehungsändernde Wirkung äußern die genannten Amino-di-carbonsäuren wiederum stark gegenüber der *Fructose*, während die Effekte bei den Aldosen *Glucose* und *Maltose* minimal waren.

Auch die Einwirkung von *d, l-Alanin* auf *Fructose* und *Glucose* haben wir nochmals kontrolliert und in Bestätigung unserer älteren Befunde nur bei der *Lävulose*, nicht aber beim *Traubenzucker*, einen polarimetrischen Ausschlag feststellen können. Ebenso wie die Arbeitsweise früherer Autoren benutzt die Versuchsanordnung von *Euler* und *Josephson* unnatürliche  $p_H$ -Verhältnisse; ihre Ergebnisse haben wir daher nicht nachgeprüft.

Ganz *bedeutende Differenzen* wurden nun bei der erstmalig in den Kreis dieser Untersuchungen gezogenen *Hexose-di-phosphorsäure* festgestellt. Sie kam in Gestalt des nach *C. Neuberg* und *S. Sabetay*<sup>3)</sup> leicht zugänglichen und sehr löslichen Magnesiumsalzes zur Verwendung. Dasselbe besitzt im Zustande größter Reinheit ein  $p_H$  von 7,2, das mit Spuren *Essigsäure* leicht auf 7,0 gebracht werden kann.

<sup>1)</sup> *J. Groot*, diese Zeitschr. 146, 90, 1924.

<sup>2)</sup> Vgl. hierzu *P. Karrer*, Helv. 6, 957, 1923; *P. Karrer, K. Escher* und *R. Widmer*, Helv. 9, 308, 1926; *K. Freudenberg* und *F. Rhino*, Ber. 57, 1547, 1924.

<sup>3)</sup> *C. Neuberg* und *S. Sabetay*, diese Zeitschr. 161, 240, 1925.

Die *nach links gerichtete Drehungssteigerung*, die beim Mischen einer 3 m Fructoselösung mit 2 m Asparaginat auftritt, beträgt bis 3,1<sup>0</sup> und gleichsinnig bei entsprechenden Ansätzen mit Glutaminat 3,4<sup>0</sup>. Mit Hexose-di-phosphat, das an sich rechts dreht, erfolgt z. B. bei Zugabe von *linksdrehendem* Asparaginat eine *Zunahme der Rechtsdrehung* von 100 Proz. In der Gegend des Neutralpunktes weisen ersichtlich in bezug auf die Drehungssteigerung unter dem Einflusse von Aminosäuren Fructose und Hexose-di-phosphat die meiste Ähnlichkeit miteinander auf.

Von den einfachen Säureamiden haben wir sodann *Acetamid*, *Harnstoff* und *Thio-harnstoff* geprüft. m Thioharnstoff zeigt sogar einen etwas größeren Ausschlag als m Harnstoff. Erheblich drehungssteigernd wirken beim Neutralpunkt konzentrierte Harnstofflösungen, und zwar unter unseren Versuchsbedingungen — im Einklange mit unseren früheren Beobachtungen — hauptsächlich in Berührung mit dem Fruchtzucker. Hier belief sich die Erhöhung der Linksdrehung beim Zusammenbringen von 3 m Fructoselösung mit 6 m Harnstoff auf 2,7<sup>0</sup>. Diese Drehungsänderung stellte sich *momentan* ein. Sie kann also kaum identisch sein mit der langsam einsetzenden Ureidbildung oder mit der sehr allmählichen Umwandlung des Fruchtzuckers in Glucose, wie sie A. Hynd<sup>1)</sup> annimmt. Dieser Autor hat hauptsächlich die Drehungsänderungen untersucht, die der Traubenzucker erleidet. In allen Fällen hat er bei höherer Temperatur gearbeitet, in dem Beispiel mit Fructose bei 85<sup>0</sup>; dabei erhielt er nach 5 Stunden eine *Abnahme* der Linksdrehung auf etwa ein Viertel des Anfangswertes, während — davon vollkommen verschieden — wir eine *Steigerung* der Linksdrehung bei gewöhnlicher Temperatur an unserer momentan sich abspielenden Reaktion konstatieren konnten. (Daß Thio-harnstoff geringere Ausschläge lieferte, kann damit zusammenhängen, daß dieser Körper wegen seiner Schwerlöslichkeit nur in dünnen Konzentrationen verwendbar war.)

Während der kurzen Zeit sowie bei der niederen Temperatur, die für die Erzielung unserer Effekte ausreichen, haben wir auch in diesen Fällen niemals eine Huminbildung nach Art der *Maillardschen* Reaktion oder Änderungen des  $p_H$  beobachtet. Wir glauben, daß es sich hier um einen Vorgang handelt, der von den sonst in der Literatur beschriebenen Reaktionen zwischen Carbonylzuckern und Aminoverbindungen abzusondern ist; vielleicht stellt er eine bisher übersehene erste Phase der Umsetzung für die anderweitig beobachteten tiefgreifenden und langsam einsetzenden Umwandlungen dar.

<sup>1)</sup> A. Hynd, Biochem. Journ. 20, 195, 1926.

Ob Drehungsänderungen von der hier beschriebenen Art eine Rolle bei der jetzt viel bearbeiteten Frage nach dem Zustande des Zuckers im Blute und in anderen stickstoffhaltigen Flüssigkeiten spielen, erscheint erwägungswert. Wir wollen auch keine bestimmten Vorstellungen über die Natur der stattfindenden Reaktion äußern. Es existieren zahlreiche Möglichkeiten<sup>1)</sup>. Daß die eintretende Veränderung nicht tief geht, darf aus den angestellten Gärungsversuchen geschlossen werden. Aus den Arbeiten von *Felix Ehrlich*<sup>2)</sup> weiß man, daß die sogenannte alkoholische Gärung der Aminosäuren nur stattfindet, wenn gleichzeitig eine Zuckervergärung abläuft. Wenn diese Erscheinung auch im wesentlichen darauf beruht, daß die Desaminierung der Eiweißspaltungsprodukte lediglich im Zusammenhange mit dem Stickstoffumsatz der lebenden Hefe erfolgt, so war immerhin der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß zunächst eine Verbindung zwischen Aminosäuren und Zucker entsteht, deren gemeinsame Vergärung auch zum Abbau des stickstoffhaltigen Bestandteils führt. Für diese Auffassung haben unsere Versuche jedoch keinen sicheren Anhalt ergeben. Immerhin verzeichnen wir das Resultat, daß die Gemenge von Zucker und Aminosäuren mit frischer Hefe schneller vergären als Zuckerlösungen für sich, doch bleibt zu untersuchen, ob diese auch sonst beobachtete Steigerung nicht mit der Decarboxylierung der Aminosäuren zusammenhängt. Bei Hefesäften ergab sich ziemlich eindeutig eine Hemmung der Kohlensäureproduktion, doch müssen wir es dahingestellt lassen, ob sie auf erschwerte Vergärbarkeit der Zucker-Aminosäuren-Komplexe oder auf Unvollständigkeit ihres Wiederzerfalls oder auf veränderte physikalisch-chemische Bedingungen zu beziehen ist.

## 2 m Fructose + m l (+)-Alanin.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm m l (+)-Alanin + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm m l (+)-Alanin	$\alpha$ (l = 1 dcm)
Zu Beginn	— 16,30°	+ 0,09°	— 16,40°	0,19°
Nach 2 Stdn.	— 16,48	+ 0,10	— 16,58	0,22
" 3 "	— 16,48	+ 0,10	— 16,55	0,17
" 4 "	— 16,50	+ 0,11	— 16,58	0,19
" 5 "	— 16,48	+ 0,10	— 16,60	0,22

Drehungsänderung nach links.

(Die kleinen Änderungen im Drehwert der reinen Zuckerlösung beruhen natürlich auf schwer vermeidbaren Temperaturschwankungen.)

<sup>1)</sup> Über ein wahres Aminosäuren-glucosid hat jüngst *K. Maurer* (Ber. 59, 828, 1926) eine beachtenswerte Mitteilung gemacht.

<sup>2)</sup> *F. Ehrlich*, diese Zeitschr. 2, 52, 1906; 18, 391, 1909.

## 3 m Fructose + 2 m 1(+)-Alanin.

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m 1(+)-Alanin + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m 1(+)-Alanin	$\Delta$ (l = 1 dcm)
Zu Beginn	— 24,67 <sup>0</sup>	+ 0,20 <sup>0</sup>	— 25,09 <sup>0</sup>	0,62 <sup>0</sup>
Nach 1 Std.	— 24,58	+ 0,20	— 24,99	0,61
" 3 Stdn.	— 24,48	+ 0,21	— 24,94	0,67
" 4 "	— 24,51	+ 0,20	— 24,95	0,64
" 5 "	— 24,50	+ 0,21	— 24,95	0,66

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Fructose + 6 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 50,16 <sup>0</sup>	— 52,90 <sup>0</sup>	2,74 <sup>0</sup>
Nach 1 Std.	— 50,11	— 52,88	2,77
" 2 Stdn.	— 50,15	— 52,84	2,69
" 5 "	— 50,10	— 52,77	2,67
" 22 "	— 50,25	— 52,95	2,70

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Fructose + 3 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 3 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 50,16 <sup>0</sup>	— 51,50 <sup>0</sup>	1,34 <sup>0</sup>
Nach 1 Std.	— 50,11	— 51,44	1,33
" 2 Stdn.	— 50,15	— 51,54	1,39
" 5 "	— 50,10	— 51,48	1,38
" 22 "	— 50,25	— 51,60	1,35

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Fructose + 6 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 33,75 <sup>0</sup>	— 35,45 <sup>0</sup>	1,70 <sup>0</sup>
Nach 1 Std.	— 33,65	— 35,37	1,72
" 2 Stdn.	— 33,54	— 35,30	1,76
" 3 "	— 33,50	— 35,27	1,77
" 5 "	— 33,47	— 35,24	1,77

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Fructose + 4 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm 4 m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 33,75°	— 34,78°	1,03°
Nach 1 Std.	— 33,65	— 34,70	1,05
„ 2 Stdn.	— 33,54	— 34,65	1,11
„ 3 „	— 33,50	— 34,64	1,14
„ 5 „	— 33,47	— 34,62	1,15

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Fructose + 2 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm 2 m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 33,75°	— 34,25°	0,50°
Nach 1 Std.	— 33,65	— 34,20	0,55
„ 2 Stdn.	— 33,54	— 34,11	0,57
„ 3 „	— 33,50	— 34,12	0,62
„ 5 „	— 33,47	— 34,10	0,63

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Fructose + m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 32,61°	— 32,87°	0,26°
Nach 2 Stdn.	— 32,78	— 33,10	0,32
„ 3 „	— 32,80	— 33,14	0,34

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Fructose + m Thioharnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm m Thioharnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 32,61°	— 33,10°	0,49°
Nach 2 Stdn.	— 32,78	— 33,25	0,47
„ 3 „	— 32,80	— 33,31	0,51

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Fructose + 2 m l (+)-Alanin.

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m l (+)-Alanin + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m + 2 m l
Zu Beginn	- 24,67°	+ 0,20°	
Nach 1 Std.	- 24,58	+ 0,20	
" 3 Stdn.	- 24,48	+ 0,21	
" 4 "	- 24,51	+ 0,20	
" 5 "	- 24,50	+ 0,21	

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Fructose

Zeit	5 ccm 3 m Fruct + 5 ccm Was	- dcm)
Zu Beginn	- 50	(0,02°)
Nach 1 Std.	- 5	0,39
" 2 Stdn.	-	,08
" 5 "		- 49,64
" 22 "		- 49,84

Drehungsänderung

Fructose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	- 52,10°	- 0,75°	- 55,97°	3,12°
Nach 1 Std.	- 52,00	- 0,74	- 55,77	3,03
" 3 Stdn.	- 51,92	- 0,75	- 55,68	3,01
" 5 "	- 52,08	- 0,75	- 55,88	3,05

Drehungsänderung nach links.

3 m Fructose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	- 52,06°	- 0,75°	- 55,79°	2,98°
Nach 1 Std.	- 52,08	- 0,76	- 55,72	2,88
" 2 Stdn.	- 52,12	- 0,76	- 55,73	2,85
" 3 "	- 52,11	- 0,75	- 55,77	2,91

Drehungsänderung nach links.



1 m Fructose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

1 m Fructose Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Glutaminat	$d(l = 2 \text{ dcm})$
	- 0,75°	- 55,66°	3,47°
	- 0,75	- 55,86	3,35
	- 0,75	- 55,80	3,31
	- 0,75	- 55,80	3,32

1 m Fructose + 2 m Argininnitrat.  $p_H = 7,0$ .

	5 ccm 2 m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Glutaminat	$d(l = 2 \text{ dcm})$
	0,75°	- 55,88°	3,35°
	- 0,73	- 55,88	3,38
	- 0,75	- 55,91	3,36
0,90	- 0,75	- 55,98	3,33
- 51,91	- 0,75	- 55,99	3,33

Drehungsänderung nach links.

3 m Fructose +  $\frac{2}{3}$  m Argininnitrat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat	$d(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,60°	+ 1,52°	- 50,98°	0,90°
Nach 1 Std.	- 51,85	+ 1,55	- 51,15	0,85
" 2 Stdn.	- 51,90	+ 1,55	- 51,17	0,82
" 24 "	- 52,05	+ 1,54	- 51,33	0,82

Drehungsänderung nach links.

3 m Fructose +  $\frac{1}{3}$  m Argininnitrat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{3}$ m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm $\frac{1}{3}$ m Argininnitrat	$d(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,80°	+ 1,42°	- 51,16°	0,78°
Nach 1 Std.	- 51,99	+ 1,44	- 51,28	0,73
" 2 Stdn.	- 52,08	+ 1,46	- 51,32	0,70
" 24 "	- 52,15	+ 1,50	- 51,32	0,67

Drehungsänderung nach links.

\*Zuckerarten mit verschiedenen Aminosäuren usw.  
 Fructose - 4 m Harnstoff.  
 100°  
 175  
 111

## 2 m Fructose + m Thioharnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Fructose + 5 ccm m Thioharnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 33,09°	— 33,45°	0,36°
Nach 1 Std.	— 33,27	— 33,70	0,43
„ 3 Stdn.	— 33,38	— 33,84	0,46
„ 15 „	— 33,40	— 33,84	0,44

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Fructose + 6 m Acetamid.

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 6 m Acetamid	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 50,14°	— 50,16°	(0,02°)
Nach 1 Std.	— 50,09	— 49,70	0,39
„ 2 Stdn.	— 50,08	— 49,68	0,40
„ 5 „	— 50,10	— 49,64	0,46
„ 22 „	— 50,30	— 49,84	0,46

Drehungsänderung nach rechts.

3 m Fructose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 52,10°	— 0,75°	— 55,97°	3,12°
Nach 1 Std.	— 52,00	— 0,74	— 55,77	3,03
„ 3 Stdn.	— 51,92	— 0,75	— 55,68	3,01
„ 5 „	— 52,08	— 0,75	— 55,88	3,05

Drehungsänderung nach links.

3 m Fructose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	— 52,06°	— 0,75°	— 55,79°	2,98°
Nach 1 Std.	— 52,08	— 0,76	— 55,72	2,88
„ 2 Stdn.	— 52,12	— 0,76	— 55,73	2,85
„ 3 „	— 52,11	— 0,75	— 55,77	2,91

Drehungsänderung nach links.

3 m Fructose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Glutaminat	$\Delta(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,44°	- 0,75°	- 55,66°	3,47°
Nach 1 Std.	- 51,76	- 0,75	- 55,86	3,35
" 3 Stdn.	- 51,74	- 0,75	- 55,80	3,31
" 7 "	- 51,73	- 0,75	- 55,80	3,32

Drehungsänderung nach links.

 3 m Fructose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm 2 m Glutaminat	$\Delta(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,78°	- 0,75°	- 55,88°	3,35°
Nach 1 Std.	- 51,77	- 0,73	- 55,88	3,38
" 2 Stdn.	- 51,80	- 0,75	- 55,91	3,36
" 4 "	- 51,90	- 0,75	- 55,98	3,33
" 6 "	- 51,91	- 0,75	- 55,99	3,33

Drehungsänderung nach links.

 3 m Fructose +  $\frac{2}{3}$  m Argininnitrat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat	$\Delta(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,60°	+ 1,52°	- 50,98°	0,90°
Nach 1 Std.	- 51,85	+ 1,55	- 51,15	0,85
" 2 Stdn.	- 51,90	+ 1,55	- 51,17	0,82
" 24 "	- 52,05	+ 1,54	- 51,33	0,82

Drehungsänderung nach links.

 3 m Fructose +  $\frac{2}{3}$  m Argininnitrat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat	$\Delta(l = 2 \text{ dcm})$
Zu Beginn	- 51,80°	+ 1,42°	- 51,16°	0,78°
Nach 1 Std.	- 51,99	+ 1,44	- 51,28	0,73
" 2 Stdn.	- 52,08	+ 1,46	- 51,32	0,70
" 24 "	- 52,15	+ 1,50	- 51,32	0,67

Drehungsänderung nach links.

$\frac{1}{3}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 6 m Harnstoff.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\alpha$ ( $l = 2$ dcm)
Zu Beginn	+ 1,60°	+ 1,75°	0,15°
Nach 2 Stdn.	+ 1,61	+ 1,78	0,17
" 4 "	+ 1,61	+ 1,79	0,18

Drehungsänderung nach rechts.

$\frac{1}{3}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium +  $\frac{2}{3}$  m Argininnitrat.  
 $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm $\frac{2}{3}$ m Argininnitrat	$\alpha$ ( $l = 2$ dcm)
Zu Beginn	+ 2,08°	+ 1,55°	+ 3,60°	0,03°
Nach 1 Std.	+ 2,09	+ 1,55	+ 3,58	0,06
" 2 Stdn.	+ 2,10	+ 1,55	+ 3,64	0,01
" 4 "	+ 2,09	+ 1,55	+ 3,65	0,01
" 24 "	+ 2,09	+ 1,55	+ 3,65	0,01

$\frac{1}{3}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm 2 m Asparaginat	$\alpha$ ( $l = 2$ dcm)
Zu Beginn	+ 1,90°	- 0,74°	+ 3,04°	1,88°
Nach 1 Std.	+ 1,90	- 0,74	+ 3,05	1,89
" 4 Stdn.	+ 1,91	- 0,73	+ 3,07	1,89
" 6 "	+ 1,93	- 0,74	+ 3,07	1,88

Drehungsänderung nach rechts.

$\frac{1}{3}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm 2 m Asparaginat	$\alpha$ ( $l = 2$ dcm)
Zu Beginn	+ 1,86°	- 0,74°	+ 3,00°	1,88°
Nach 1 Std.	+ 1,90	- 0,73	+ 3,04	1,87
" 4 Stdn.	+ 1,94	- 0,72	+ 3,04	1,82
" 6 "	+ 1,92	- 0,72	+ 3,06	1,86

Drehungsänderung nach rechts.

Reaktion einzelner Zuckerarten mit verschiedenen Aminosäuren usw. 473

$\frac{1}{2}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm 2 m Glutaminat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 1,97°	- 0,74°	+ 1,82°	0,59°
Nach 1 Std.	+ 2,00	- 0,74	+ 1,83	0,57
" 2 Stdn.	+ 2,00	- 0,75	+ 1,83	0,58
" 4 "	+ 2,01	- 0,75	+ 1,85	0,59

Drehungsänderung nach rechts.

$\frac{1}{2}$  m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm $\frac{1}{2}$ m hexose-di-phosphorsaures Magnesium und 5 ccm 2 m Glutaminat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 2,03°	- 0,75°	+ 1,85°	0,57°
Nach 1 Std.	+ 2,04	- 0,73	+ 1,86	0,55
" 4 Stdn.	+ 2,03	- 0,75	+ 1,88	0,60
" 5 "	+ 2,05	- 0,75	+ 1,87	0,57

Drehungsänderung nach rechts.

3 m Glucose + 2 m d, l-Alanin.

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m d, l-Alanin	$\Delta$ (l = 1 dcm)
Zu Beginn	+ 13,80°	+ 13,81°	0,01°
Nach 1 Std.	+ 13,65	+ 13,66	0,01
" 4 Stdn.	+ 13,65	+ 13,65	0,00
" 22 "	+ 13,65	+ 13,65	0,00

3 m Glucose + 2 m l(+)-Alanin.

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m l(+)-Alanin + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m l(+)-Alanin	$\Delta$ (l = 1 dcm)
Zu Beginn	+ 13,81°	+ 0,20°	+ 14,05°	0,04°
Nach 1 Std.	+ 13,65	+ 0,20	+ 13,90	0,05
" 4 Stdn.	+ 13,65	+ 0,20	+ 13,95	0,10
" 22 "	+ 13,65	+ 0,20	+ 13,95	0,10

Drehungsänderung nach rechts.

3 m Glucose + 3 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 3 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 27,68°	+ 27,57°	0,11°
Nach 1 Std.	+ 27,46	+ 27,11	0,35
" 3 Stdn.	+ 27,37	+ 27,03	0,34
" 48 "	+ 27,37	+ 27,04	0,33

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Glucose + 6 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 27,68°	+ 27,52°	0,16°
Nach 1 Std.	+ 27,46	+ 27,03	0,43
" 3 Stdn.	+ 27,37	+ 26,85	0,52
" 48 "	+ 27,37	+ 26,81	0,56

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Glucose + 6 m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 18,30°	+ 18,20°	0,10°
Nach 1 Std.	+ 18,20	+ 18,10	0,10
" 2 Stdn.	+ 18,16	+ 18,00	0,16
" 24 "	+ 18,15	+ 17,90	0,25

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Glucose + m Harnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm m Harnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 18,30°	+ 18,27°	0,03°
Nach 1 Std.	+ 18,20	+ 18,12	0,08
" 2 Stdn.	+ 18,16	+ 18,06	0,10
" 24 "	+ 18,15	+ 18,00	0,15

Drehungsänderung nach links.

## 2 m Glucose + m Thioharnstoff.

Zeit	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glucose + 5 ccm m Thioharnstoff	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 18,30°	+ 18,22°	0,08°
Nach 1 Std.	+ 18,20	+ 18,12	0,08
" 2 Stdn.	+ 18,16	+ 18,06	0,10
" 24 "	+ 18,15	+ 18,06	0,09

Drehungsänderung nach links.

## 3 m Glucose + 6 m Acetamid.

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 6 m Acetamid	$\alpha$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 27,65°	+ 27,75°	0,10°
Nach 1 Std.	+ 27,47	+ 27,73	0,26
" 3 Stdn.	+ 27,38	+ 27,73	0,35
" 48 "	+ 27,38	+ 27,72	0,34

Drehungsänderung nach rechts.

3 m Glucose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 27,30°	- 0,70°	+ 26,75°	0,15°
Nach 1 Std.	+ 27,00	- 0,69	+ 26,41	0,10
" 2 Stdn.	+ 26,98	- 0,71	+ 26,38	0,11
" 20 "	+ 26,98	- 0,70	+ 26,40	0,12

Drehungsänderung nach rechts.

 3 m Glucose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 27,75°	- 0,70°	+ 27,24°	0,19°
Nach 1 Std.	+ 27,60	- 0,71	+ 27,02	0,13
" 2 Stdn.	+ 27,48	- 0,71	+ 26,87	0,10
" 4 "	+ 27,50	- 0,70	+ 26,92	0,12
" 20 "	+ 27,50	- 0,70	+ 26,92	0,12

Drehungsänderung nach rechts.

 3 m Glucose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m Gluta- minat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 28,16°	- 0,75°	+ 27,96°	0,15°
Nach 1 Std.	+ 28,04	- 0,75	+ 27,09	0,20
" 2 Stdn.	+ 27,93	- 0,75	+ 27,07	0,11
" 24 "	+ 27,81	- 0,75	+ 27,03	0,03

Drehungsänderung nach links.

 3 m Glucose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm 2 m Gluta- minat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 28,10°	- 0,75°	+ 27,90°	0,15°
Nach 1 Std.	+ 27,92	- 0,75	+ 27,06	0,11
" 3 Stdn.	+ 27,90	- 0,75	+ 27,04	0,11
" 24 "	+ 27,87	- 0,75	+ 27,06	0,06

Drehungsänderung nach links.

 1 1/2 m Maltose + 6 m Harnstoff.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm 1 1/2 m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 1 1/2 m Maltose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 73,13°	+ 72,55°	0,58°
Nach 1 Std.	+ 72,97	+ 72,34	0,63
" 3 Stdn.	+ 72,94	+ 72,14	0,80
" 48 "	+ 73,03	+ 72,20	0,83

Drehungsänderung nach links.

$1\frac{1}{2}$  m Maltose + 6 m Harnstoff.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm 6 m Harnstoff	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 73,13°	+ 72,56°	0,57°
Nach 1 Std.	+ 72,97	+ 72,36	0,61
" 3 Stdn.	+ 72,94	+ 72,17	0,77
" 48 "	+ 73,03	+ 72,22	0,81

Drehungsänderung nach links.

 $1\frac{1}{2}$  m Maltose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 73,13°	— 0,70°	+ 72,85°	0,42°
Nach 1 Std.	+ 72,97	— 0,70	+ 72,66	0,39
" 3 Stdn.	+ 72,95	— 0,71	+ 72,62	0,38
" 48 "	+ 73,03	— 0,70	+ 72,76	0,43

Drehungsänderung nach rechts.

 $1\frac{1}{2}$  m Maltose + 2 m Asparaginat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Asparaginat + 5 ccm Wasser	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm 2 m Aspa- raginat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 73,13°	— 0,70°	+ 72,80°	0,37°
Nach 1 Std.	+ 72,97	— 0,70	+ 72,65	0,38
" 3 Stdn.	+ 72,95	— 0,71	+ 72,61	0,37
" 48 "	+ 73,03	— 0,70	+ 72,74	0,41

Drehungsänderung nach rechts.

 $1\frac{1}{2}$  m Maltose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm 2 m Gluta- minat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 68,58°	— 0,75°	+ 67,85°	0,02°
Nach 1 Std.	+ 68,56	— 0,74	+ 67,90	0,08
" 3 Stdn.	+ 68,53	— 0,74	+ 67,89	0,10
" 22 "	+ 68,54	— 0,74	+ 67,89	0,09

Drehungsänderung nach rechts.

 $1\frac{1}{2}$  m Maltose + 2 m Glutaminat.  $p_H = 7,0$ .

Zeit	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 2 m Glutaminat + 5 ccm Wasser	5 ccm $1\frac{1}{2}$ m Maltose + 5 ccm 2 m Gluta- minat	$\Delta$ (l = 2 dcm)
Zu Beginn	+ 68,70°	— 0,75°	+ 68,09°	0,14°
Nach 1 Std.	+ 68,53	— 0,75	+ 68,04	0,26
" 3 Stdn.	+ 68,52	— 0,75	+ 68,04	0,27
" 5 "	+ 68,54	— 0,74	+ 68,05	0,25
" 23 "	+ 68,55	— 0,74	+ 68,04	0,23

Drehungsänderung nach rechts.



**Tabelle I.** Vergärung der Zucker-Aminosäuren- bzw. Zucker-Harnstoff-Gemische mit frischer Oberhefe *Sinner*.  
 ccm CO<sub>2</sub> aus je 5,0 ccm Gärgemisch bei 18°.

Zeit nach Stunden	Zusammensetzung der Gärgemische:									
	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Wasser	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm Harnstoff	5 ccm 3 m Glucose + 5 ccm d, l-Alanin	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Asparaginat	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm Harnstoff	5 ccm 3 m Fructose + 5 ccm d, l-Alanin	5 ccm 1 1/2 m Maltose + 5 ccm Wasser	5 ccm 1 1/2 m Maltose + 5 ccm Asparaginat	5 ccm 1 1/2 m Maltose + 5 ccm Harnstoff	
2	0,4	0,3	0,5	0,2	0,1	0,3	0,1	0	0	
3	1,9	1,6	2,2	1,5	1,4	1,9	0,9	0,4	0,3	
4	3,0	2,8	3,4	2,8	2,5	3,1	1,7	1,0	0,6	
7	6,8	6,8	8,4	8,2	6,2	7,8	5,0	5,4	2,5	
19	18,6	19,5	31,1	31,7	18,5	28,7	13,6	21,6	7,0	
21	21,1	21,5	35,9	36,4	21,2	33,2	15,0	24,1	8,1	
24	25,6	26,2	44,5	45,5	26,5	41,4	17,4	28,4	9,8	
27	29,0	30,2	51,1	52,0	30,7	47,4	19,3	32,2	10,9	

+ 20 ccm Wasser + 0,5 g Hefe

**a) Zuckerkonzentration der Ansätze 9 Proz.**

2	0,4	0,3	0,5	0,4	0,2	0,3	0,1	0	0
3	1,6	1,9	2,2	1,5	1,4	1,9	0,9	0,4	0,3
4	3,0	3,0	3,4	2,8	2,5	3,1	1,7	1,0	0,6
7	6,8	6,8	8,4	8,2	6,2	7,8	5,0	5,4	2,5
19	18,6	18,1	31,1	31,7	18,5	28,7	13,6	21,6	7,0
21	21,1	20,6	35,9	36,4	21,2	33,2	15,0	24,1	8,1
24	25,6	24,2	44,5	45,5	26,5	41,4	17,4	28,4	9,8
27	29,0	27,5	51,1	52,0	30,7	47,4	19,3	32,2	10,9

**b) Zuckerkonzentration\*) der Ansätze 4 1/2 Proz.**

2	0,2	0,5	0,4	0,4	0,2	0,2	0	0	0
3	1,6	2,5	2,0	2,0	1,9	1,6	0,9	1,1	0,5
4	2,6	4,1	3,1	4,5	3,1	3,0	1,8	2,2	1,5
7	6,4	9,2	8,0	10,2	7,6	7,5	4,9	6,7	3,8
19	17,3	32,1	28,1	32,5	23,5	23,0	13,3	21,1	16,0
21	20,1	32,8	32,4	37,5	26,5	25,8	15,1	24,2	20,1
24	23,8	38,8	38,3	44,2	31,8	30,1	17,9	28,3	24,7
27	25,8	41,4	40,5	47,0	35,4	33,6	19,8	32,1	28,6

\*) Hier waren stets 30,0 ccm H<sub>2</sub>O und 1,0 g Hefe zu den sonst ebenso bereiteten Gemischen gefügt.

Tabelle II.

Vergärung von Zucker-Aminosäuren- bzw. Zucker-Harnstoff-Gemischen durch Mazerationsaft von Unterhefe.  
 cem CO<sub>2</sub> aus je 10,0 cem Gärgemisch bei 18°.

a) Zuckerkonzentration der Ansätze 10,8 Proz. p<sub>H</sub> = 6,2 — 6,4.

Zeit nach Stunden	Zusammensetzung der Gärgemische:											
	3 cem 3 m Glucose + 3 cem Wasser	3 cem 3 m Glucose + 3 cem 2 m Asparaginat	3 cem 3 m Glucose + 3 cem 6 m Harnstoff	3 cem 3 m Glucose + 3 cem 2 m Harnstoff	3 cem 3 m Glucose + 3 cem 2 m Asparaginat	3 cem 3 m Fructose + 3 cem 2 m Harnstoff	3 cem 3 m Fructose + 3 cem 6 m Harnstoff	3 cem 3 m Fructose + 3 cem 2 m Harnstoff	3 cem 3 m Fructose + 3 cem 2 m Harnstoff	3 cem 3 m Fructose + 3 cem 2 m Harnstoff	3 cem 1 1/2 m Maltose + 3 cem Wasser	3 cem 1 1/2 m Maltose + 3 cem 2 m Asparaginat
4	1,3	0,1	0,5	0	0	0	0	0	0	2,8	0,3	0,1
5	5,2	1,2	4,2	0	0	0	0	0	0	3,8	0,4	0,8
6	7,5	3,4	7,3	0	0	0,6	0	0	0	4,9	1,2	2,1
8	11,2	8,1	11,2	0,4	0	5,8	0,1	0,1	0,1	7,9	4,2	4,4
12	17,2	11,7	16,0	8,4	0,5	9,8	8,0	8,0	8,0	14,8	9,0	5,8
24	30,2	18,3	28,1	23,7	13,4	13,3	20,6	20,6	20,6	30,1	14,6	7,0

+ 9 cem Saft

b) Zuckerkonzentration der Ansätze 5,4 Proz. p<sub>H</sub> = 5,8 — 6,0.

Zeit nach Stunden	Zusammensetzung der Gärgemische:											
	2 cem 3 m Glucose + 2 cem Wasser	2 cem 3 m Glucose + 2 cem 2 m Asparaginat	2 cem 3 m Glucose + 2 cem 6 m Harnstoff	2 cem 3 m Glucose + 2 cem 2 m Harnstoff	2 cem 3 m Fructose + 2 cem 2 m Asparaginat	2 cem 3 m Fructose + 2 cem 6 m Harnstoff	2 cem 3 m Fructose + 2 cem 2 m Harnstoff	2 cem 3 m Fructose + 2 cem 2 m Harnstoff	2 cem 3 m Fructose + 2 cem 2 m Harnstoff	2 cem 1 1/2 m Maltose + 2 cem Wasser	2 cem 1 1/2 m Maltose + 2 cem 2 m Asparaginat	2 cem 1 1/2 m Maltose + 2 cem 6 m Harnstoff
4	1,6	1,3	1,4	0	0	0,2	0	0	0,1	0,1	0,1	0
5	5,6	2,4	4,3	1,3	0,5	4,8	1,1	1,1	2,2	0,6	0,6	0
6	10,0	4,5	8,3	5,2	2,8	10,4	4,7	4,7	6,0	2,1	2,1	0
8	15,3	10,0	14,3	15,7	13,8	15,2	14,4	14,4	12,0	8,1	8,1	0,2
12	23,6	16,1	22,0	24,3	22,0	22,2	22,2	22,2	19,2	13,7	13,7	2,5
24	42,7	30,0	40,2	47,8	38,4	43,5	44,0	44,0	36,2	26,0	26,0	6,0

+ 16 cem Saft

Tabelle III.

Vergärung von Hexose-di-phosphat-Aminosäuren- bzw. Hexose-di-phosphat-Harnstoff-Gemischen durch Mazerationsaft von Unterhefe.  $p_H = 7,0$ .

ccm CO <sub>2</sub> aus je 10,0 ccm Gärgemisch bei 18°.					
Saftkonzentration *) an					
Zeit nach Stunden	hexose-di-phosphorsaurem Magnesium = m/4	hexose-di-phosphorsaurem Magnesium = m/4 und an Asparaginat = m	hexose-di-phosphorsaurem Magnesium = m/4 und an Glutaminat = m	hexose-di-phosphorsaurem Magnesium = m/4 und an Harnstoff = 3 m	hexose-di-phosphorsaurem Magnesium = m/4 und an 1(+)-Alanin = m
8	0	0	0	0	0
12	0,25	0	0	0	0,1
23	7,3	1,6	0,9	0	3,4
25	8,3	2,2	1,4	0	4,3

\*) Sowohl das hexose-di-phosphorsaure Magnesium als auch die Aminosäuren bzw. der Harnstoff wurden direkt im Mazerationsaft gelöst.

**Neue vergleichende Versuche über die Vergärung von  
Hexose-di-phosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose  
und Invertzucker durch Hefensäfte sowie frische Hefen  
unter verschiedenen Bedingungen.**

Von

**Carl Neuberg und Maria Kobel.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

In einer ersten Untersuchung<sup>1)</sup> über den hier behandelten Gegenstand haben wir vor Jahresfrist dargelegt, aus welchen Gründen der Vergleich der Gärgeschwindigkeiten phosphorylierten und nicht phosphorylierten Zuckers ein erhebliches Interesse bietet. Es hatte sich ergeben, daß entgegen wohlbegründeten Vorstellungen das Hexose-di-phosphat keineswegs besser vergoren wird, als irgend ein phosphorfreier Zucker. *Das besagt, daß selbst im Augenblicke der Zerlegung keine bevorzugte Form der Hexose vorhanden oder zum mindesten nicht so lange haltbar ist, daß sie eine größere Gärgeschwindigkeit als die Gleichgewichtszucker aufweist.* Man kann sich schwerlich vorstellen, daß ein *am-Gebilde* (Hetero-, Neo-, Bio-Zucker) in zerfallsbereiterer Form auftritt, als in Berührung mit dem Fermentsystem der Hefensäfte, in denen außer der Phosphatase die desmolytischen Agenzien gelöst sind. Immerhin bleibt der Einwand bestehen, daß reine, isolierte Hexose-di-phosphorsäure als ein bereits stabilisiertes Präparat zu betrachten sei; aber wir sehen nicht, wie man zur Zeit ohne anfechtbare Prämissen solche Versuche sonst vornehmen kann.

Bei der Wichtigkeit des Problems haben wir neue Beiträge für nicht überflüssig gehalten und haben uns dabei von folgenden Gedankengängen leiten lassen.

Nach einer Angabe von *A. Harden* und *W. J. Young*<sup>2)</sup>, die gleich *O. Meyerhof*<sup>3)</sup> auch wir bestätigen können, beschleunigt ein Zusatz von Arsenat die zellfreie Vergärung von hexose-di-phosphorsaurem Salz.

<sup>1)</sup> *C. Neuberg* und *M. Kobel*, diese Zeitschr. **166**, 488, 1925.

<sup>2)</sup> *A. Harden* und *W. J. Young*, Proc. Roy. Soc. [B] **88**, 451, 1911.

<sup>3)</sup> *O. Meyerhof*, H. **102**, 185, 1918.

Diese Erscheinung wird von den Autoren auf eine Aktivierung der Phosphatase zurückgeführt. Es war somit denkbar, daß bei noch schnellerer Dephosphorylierung, als sie mit nativem Mazerationssaft allein geschieht, eine Hexose entsteht, die besser als Gleichgewichtshexose vergoren wird. Ziemlich übereinstimmend zeigen unsere Versuche, daß zwar die Angärung in Gegenwart von Arsenat bei Hexose-di-phosphorsäure-ester schneller erfolgt als bei den einfachen Zuckern, daß sich aber diese Differenz bald ausgleicht und daß dann die nicht phosphorylierten Zucker voraneilen; daran ändert sich auch kaum etwas, wenn zu den nicht phosphorylierten Zuckern anorganisches Phosphat gefügt wird oder Coferment, das nach *Euler* im Phosphorylierungsakt angreift (s. Tabellen II bis VI).

Bei der Ähnlichkeit, die in vielfachen Beziehungen zwischen der Arsensäure und den Säuren homologer Elemente besteht, haben wir einige Experimente auch mit *Vanadat* sowie *Sulfantimonat* angestellt. Wir gelangten zu dem beachtenswerten Resultat, daß in 0,02 bis 0,005 m Konzentration das Vanadat beschleunigend auf die Vergärung von hexose-di-phosphorsaurem Salz wirken kann, aber keineswegs so stark wie Arsenat von gleicher Molarität. (Die höhere Konzentration von 0,1 m Vanadat wirkte hemmend.) Gewöhnlicher Fruchtzucker wird bei Gegenwart von entsprechenden Mengen Vanadat geschwinder vergoren als Hexose-di-phosphat, aber wegen der Giftwirkung des Vanadats schlechter als in gleich konzentrierter, vanadinfreier Lösung (Tabellen II, V, VI, VII, VIII). Sulfantimonat hat eine hemmende Wirkung (Tabelle II); es beeinträchtigt aber die Vergärung von Hexose-di-phosphat schwächer als die nicht phosphorylierten Zuckers. Bei Gemischen von Arsenat und Vanadat (Tabellen III bis VIII) zeigt sich im allgemeinen insofern ein mittleres Verhalten, als das weniger günstige Vanadat die Wirkung des Arsenats herabdrückt. Bei Hefensäften verschiedener Herkunft kann jedoch die schwächende Wirkung des Vanadats zurücktreten.

Um zu prüfen, ob Hexose-di-phosphat-lösungen nach vorangegangener Dephosphorylierung einen Zucker enthalten, der rascher vergoren wird, als das Ausgangsmaterial, haben wir Ansätze mit frischen Hefen und Trockenhefen vorgenommen. In diesen kamen vergleichsweise ungespaltenes Hexose-di-phosphat und solches zur Anwendung, das vorher der Phosphatase aus dem Saft von Pferdenieren ausgesetzt gewesen war. Entsprechende Experimente mit Gleichgewichtszuckern liefen in dieser Versuchsreihe mit. Sie lehrten (Tabellen Ia und Ib), daß der aus Hexose-di-phosphat zuvor abgespaltene Zucker nicht schneller vergoren wird, als fertige Fructose oder Glucose; im Falle der Trockenhefe vergor die verwendete dünne Lösung von ungespaltenem Hexose-di-phosphorsäure-ester angenähert ebenso gut, wie fertig zugefügter Zucker oder wie gespaltene Zymophosphat; in bezug auf den

normalen Hexose-di-phosphorsäure-ester steht Trockenhefe in ihrer Wirkung dem Mazerationssaft gleich.

Zu den Aktivatoren der Gärung zählen, wenn auch ihr Wirkungsmechanismus verschieden ist, Coferment, Carbonylkörper und anorganische Salze<sup>1)</sup>. Versuche, die mit solchen Materialien und Zymophosphat angestellt sind, findet man in den Tabellen III bis VIII verzeichnet. Die Resultate berechtigen, trotz vielfacher Variierung der Versuche, noch zu keiner Schlußfolgerung. Anführen möchten wir nur, daß Cofermentbeigaben zu dem Gemisch von hexose-di-phosphorsauren Salzen mit Mazerationssaft zumeist eine kleine Beschleunigung bewirkten, jedenfalls aber keine Hemmung, wie man sie nach der synthese-fördernden Wirkung der Cozymase immerhin hätte erwarten können.

In weiteren Experimenten wurde von neuem versucht, die bisher noch niemals gelungene Vergärung von Hexose-di-phosphorsäure durch intakte Hefe zu erzwingen. Für die Gärunfähigkeit des phosphorylierten Zuckers hat man mangelnde oder geringe Permeabilität verantwortlich gemacht. Die Stichhaltigkeit dieses Einwandes kann zweifelhaft erscheinen, wenn man bedenkt, daß die Rohrzuckerphosphorsäure, die ein höheres Molekulargewicht hat, unbedingt auch von frischer Hefe vergoren wird. Nun hat in bemerkenswerten Arbeiten *Fr. Boas*<sup>2)</sup> ein Mittel gefunden, lebenden Hefezellen größere Durchlässigkeit zu verleihen. Es besteht in der Zugabe kleinerer Mengen von gallensauren Salzen oder Saponin. Aus diesem Grunde verwendeten wir cholsaures Natrium und Saponin. Bei einer Konzentration von 0,08 Proz. Natriumcholat trat der von *Boas* beschriebene Effekt deutlich zutage, wenn z. B. Rohrzucker mit Patzenhofer Unterhefe vergoren wurde (Tabelle IX); dasselbe System zeigte bei Verwendung unserer Unterhefe mit Saponin *Merck* nur beschleunigte Angärung (Tabelle IX). Auch nach Zufügung von Cholat und Saponin gelang es bisher nicht, Hexose-di-phosphat innerhalb 24 Stunden mittels frischer untergäriger Hefe oder obergäriger Hefe (*Sinner*) zu vergären. (Die entsprechende Tabelle, die lauter Nullwerte aufweist, ist deshalb fortgelassen.) Nach 45 Stunden freilich war eine sehr geringe Gasentwicklung zu bemerken, die aber auf Selbstgärung zu beziehen ist. Versucht man, Permeabilitätsänderungen des Protoplasmas durch Toluol herbeizuführen, so findet man (Tabelle X) folgendes: In 5 Stunden zeigt sich kein Einfluß. Nach 21 Stunden aber ist Hexose-di-phosphat in den toluolhaltigen Gemischen in mäßigem Umfange gespalten, und diese Zerlegung kann durch Zugabe von Arsenat zu dem Toluolansatz noch beschleunigt werden. Die entwickelten Gasmengen sind unvergleichlich größer, als der Selbstgärung

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu *H. v. Euler, K. Myrbäck* und *S. Karlsson*, H. 148, 243, 1925.

<sup>2)</sup> *Fr. Boas*, diese Zeitschr. 117, 165, 1921; 129, 144, 1922.

in den Kontrollproben entspricht. Das besagt aber wohl kaum etwas anderes, als daß in Gegenwart von Toluol Autolyse der Hefe und damit ein Austritt wenn auch vermindert wirksamer zymatischer Faktoren aus dem Zellinnern erfolgt.

Für alle Versuche, auf die in dieser Arbeit Bezug genommen wird, hat es sich als gleichgültig erwiesen, ob hexose-di-phosphorsaures Natrium oder hexose-di-phosphorsaures Magnesium zur Anwendung gelangte.

Tabelle Ia.

Vergleich der Vergärung von aus Hexose-di-phosphat abgespaltenem Zucker, Hexose-di-phosphat, Fructose und Glucose.

a) Mit Trockenhefe und Toluol.

ccm CO<sub>2</sub> aus je 10 ccm Gärgemisch bei 23°.

Zeit nach Stunden	Zucker aus 1proz. hexose-di-phosphorsaurer Magnesiumlösung in Nierensaft + 10 Proz. Trockenunterhefe + 1 Proz. Toluol	Nierensaft + 10 Proz. Trockenunterhefe + 1 Proz. Toluol	Wässrige 1proz. Hexose-di-phosphat-Lösung + 10 Proz. Trockenunterhefe + 1 Proz. Toluol	0,466proz. Glucose-lösung in Nierensaft + 10 Proz. Trockenunterhefe + 1 Proz. Toluol	0,466proz. Fructose-lösung in Nierensaft + 10 Proz. Trockenunterhefe + 1 Proz. Toluol	Selbstgärung der Hefe bei Zugabe von 1 Proz. Toluol
1	0,4	0	0,1	0,5	0,7	0
2	2,5	0,3	1,8	2,4	2,8	0,6
4	5,5	1,0	4,9	6,0	6,0	2,4
5	6,5	1,8	6,0	7,4	7,3	3,1
20	10,3	3,8	11,3	11,0	11,1	6,5
25	11,1	4,4	12,5	11,7	11,8	7,1

Tabelle Ib.

b) Mit frischer Unterhefe.

ccm CO<sub>2</sub> aus je 10 ccm Gärgemisch bei 23°.

Zeit nach Stunden	Zucker aus 1proz. hexose-di-phosphorsaurer Magnesiumlösung in Nierensaft + 40 Proz. frische Unterhefe	Wässrige 1proz. Hexose-di-phosphat-Lösung + 40 Proz. frische Unterhefe	0,466proz. Glucoselösung in Nierensaft + 40 Proz. frische Unterhefe	0,466proz. Fructoselösung in Nierensaft + 40 Proz. frische Unterhefe	Selbstgärung der Hefe
1/2	0,9	0,5	1,9	1,0	0,1
1 1/2	2,2	0,7	3,9	3,0	0,2
2 1/2	3,0	0,7	4,4	3,6	0,2
3 1/2	3,6	0,7	5,4	4,3	0,2
7	5,8	0,8	7,2	6,2	0,2
22	10,1	2,2	11,1	10,7	1,6

Vergärung von Hexose-di-phosphat, Fructose, Glucose, Saccharose  
Mazerationssaft von U  
cem CO<sub>2</sub> aus 5

Zeit nach Stunden	Saftk										
	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	hexosediphosphor, saurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	Fructose = m/4	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	Glucose = m/4	Glucose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	Glucose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	Saccharose = m/8	Saccharose = m/8 und an Kaliumarsenat = 0,01 m
1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	0	2	0,7	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	7,4	4,7	0	0	0	0	0,6	0,2	2,6	0,2
3	0	12,0	8,0	0,2	0	0	2,4	1,0	1,8	7,0	2,6
4	0,1	13,9	12,9	5,0	0	0,1	5,7	1,7	6,4	8,8	8,8
5	0,1	14,5	15,8	7,2	0	3,3	7,2	2,9	12,0	10,2	16,8
20	2,0	36,4	41,0	25,4	53,6	50,0	21,8	52,6	39,4	27,0	49,4
23	2,8	40,3	43,8	27,5	54,5	50,5	24,2	53,6	40,2	28,6	50,0
68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Vergärung von Hexose-di-phosphat und Fructose mit Arsen  
Mazerationssaft von U  
cem CO<sub>2</sub> aus 5

Zeit nach Stunden	Saftk										
	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,005 m und an Natriumvanadat = 0,005 m	Fructose = m/4	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m	Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,005 m	Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,005 m
1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	0	0,8	0,4	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	4,2	2,2	0	0	0	0	0	0	0	
3	0	7,8	4,9	0	1,2	0,2	0	0	0	0	
4	0	11,2	7,6	0	4,4	3,0	0	0,2	0	0	
5	0	14,3	11,0	0	9,6	6,5	0,4	3,3	0	0	
22	3,5	45,0	40,4	17,0	20,0	25,4	50,0	51,3	0	0	



d Invertzucker mit Arsenat, Vanadat sowie Sulfantimonat durch

e.  $p_H = 6,0$  bis  $6,2$ .

gemisch bei  $23^\circ$ .

	Fructose = m/8, an Glucose = m/8 und an Kaliumarsenat = 0,01 m	Fructose = m/8, an Glucose = m/8 und an Kaliumarsenat = 0,005 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,1 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,005 m	Fructose = m/4 und an Natriumvanadat = 0,1 m	Fructose = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m	Fructose = m/4 und an Natriumvanadat = 0,005 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Sulfantimonat = 0,01 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Sulfantimonat = 0,005 m	Fructose = m/4 und an Sulfantimonat = 0,01 m	Fructose = m/4 und an Sulfantimonat = 0,005 m
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	3,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4	3,1	6,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	9,2	13,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,8	16,3	22,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,0	47,5	50,2	0	4,5	3,7	0	6,7	15,0	1,5	2,8	2,6	8,2
1,0	48,2	50,8	0	5,8	5,0	0	8,8	16,7	1,5	2,8	3,0	10,0
-	-	-	1,0	18,6	17,2	0	27,2	30,0	3,1	5,2	21,2	30,1

nat + Vanadat, Aldehyden sowie Natriumfluorid durch

e.  $p_H = 6,0$  bis  $6,2$ .

gemisch bei  $23^\circ$ .

	Acetaldehyd = 0,001 m und an	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Furfurol = 0,001 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Anisaldehyd = 0,001 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Natriumfluorid = 0,1 m	hexose-di-phosphor, saurem Mg = m/4 und an Natriumfluorid = 0,01 m	Fructose = m/4 und an Acetaldehyd = 0,001 m	Fructose = m/4 und an Furfurol = 0,001 m	Fructose = m/4 und an Anisaldehyd = 0,001 m	Fructose = m/4 und an Natriumfluorid = 0,1 m	Fructose = m/4 und an Natriumfluorid = 0,01 m
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	0	0	0	0	0	0,2	0,4	1,0	0	0
0,4	0	0	0	0	0	3,4	3,4	4,6	0	0
0,5	0	0	0	0	0	5,8	6,9	7,7	0	0
0,8	4,6	3,8	0	1,8	25,4	27,3	28,0	0	0	0

Zellfreie Vergärung von Hexose-di-phosphat und Fructose mit Arsen  
ferner von Hexose-di-phosphat und Fructose-Phosphatgemccm CO<sub>2</sub> aus 5

Zeit nach Stunden	Saftke										
	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Acetaldehyd = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Furfurol = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Anisaldehyd = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Brenztraubensäure = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Acetaldehyd = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Furfurol = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Anisaldehyd = 0,01 m + 10 Proz. Wasser
1 1/2	0	1,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	6,0	0,9	0	0	0	0	0	1,2	0,6	0,9
2 1/2	0	9,3	4,3	0	0	0	0	0	5,1	3,7	5,2
3	0	11,6	6,1	0	0	0	0	0	6,5	5,9	6,9
3 1/2	0	13,3	7,0	0	0	0	0	0	7,3	6,9	7,8
4	0,1	14,6	7,8	0	0	0	0	0	8,1	7,8	8,5
5	0,2	15,6	9,5	0	0	0	0,1	0,1	10,0	9,4	10,0
6	0,4	16,2	11,2	0	0,2	0,2	0,4	0,1	11,8	11,0	11,7
7	0,8	16,6	13,6	0	0,6	0,6	0,9	0,3	14,1	13,3	13,9
22	11,5	29,5	33,0	0	10,1	9,7	13,3	9,5	34,5	34,0	33,1
24	13,7	31,9	35,8	0	13,0	11,7	15,6	12,0	36,6	36,4	35,0

Zellfreie Vergärung von Hexose-di-phosphat, Fructose und Glucose  
mit und ohne Calcium  
ccm CO<sub>2</sub> aus je 5

Zeit nach Stunden	Saftke										
	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,1 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,02 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,02 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,02 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	Fructose = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser
1	0	3,2	3,3	0	0	0	0,2	0	0	0	
1 1/2	0	6,2	6,3	0	0	0	1,7	0,1	0	0	
2	0	10,0	10,4	0	0	0	4,0	5,5	0	0	
2 1/2	0	11,9	12,1	3,0	0	0	6,0	19,4	2,0	0	
3	0,1	12,6	12,7	5,3	0,1	0,1	7,4	29,3	12,2	1,3	
4	0,2	12,8	13,0	6,8	0,2	0,2	8,6	36,9	21,0	3,5	
5	0,2	17,3	17,2	7,1	0,2	0,2	8,6	36,9	28,0	4,6	
22	5,2	17,3	17,2	7,1	4,2	4,8	21,3	51,5	54,5	14,4	



Tabell

 Zellfreie Vergärung von Hexose-di-phosphat und Fructose mit Arsenat  
 ccm CO<sub>2</sub> aus je 5 ccr

Zeit nach Stun- den	Saftkonz.											
	hexose- di-phosphor- saurem Mg = m/4 + 10 Proz. Wasser		hexose- di-phosphor- saurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser		hexose- di-phosphor- saurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natrium- vanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser		hexose- di-phosphor- saurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser		Fructose = m/4 + 10 Proz. Wasser		Fructose = m,4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser	
	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II
1	0	0	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 1/2	0	0	2,7	0,8	0	0	0	0	0,7	0,1	0	0
2 1/2	0	0	3,0	3,0	0	0	0	0	2,6	0,3	0,4	0
4	0	0	4,2	7,0	8,7	0	0	0	4,0	0,5	4,4	0,8
5	0	0	4,8	9,1	17,0	0	0	0	5,2	0,7	9,1	2,7
21	2,9	0,1	24,6	12,3	19,1	8,2	3,8	0,2	19,7	5,5	47,8	41,5
25	4,7	0,2	30,7	13,0	21,4	9,8	5,7	0,7	23,0	7,3	48,7	49,0

Tabell

 Zellfreie Vergärung von hexose-di-phosphorsaurem Magnesium mit  
 ccm CO<sub>2</sub> aus je 5 ccr

Zeit nach Stunden	Saftkonz.											
	hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4				hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Kalium- arsenat = 0,01 m				hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Kalium- arsenat = 0,02 m			
	+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment	
Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	
3/4	0	0	0	0	0,2	0,1	0,4	0	0,3	0,1	0,7	0
2 1/4	0	0	0	0	7,5	6,2	7,7	4,7	8,0	6,3	9,5	5,7
3	0	0	0	0	10,6	10,3	11,2	8,5	9,5	10,0	10,7	9,8
4	0	0	0	0	11,8	12,7	12,2	11,8	10,6	11,4	11,2	13,0
5 1/2	0	0	0,1	0	13,2	14,2	14,1	13,5	12,5	12,2	12,0	14,8
22	3,0	2,1	3,5	2,3	30,0	43,0	35,2	36,6	33,5	34,0	33,2	38,9
30	6,0	4,0	6,2	4,7	31,0	45,1	36,2	42,8	34,8	37,3	34,3	42,0
96	24,5	16,5	29,0	17,0	32,4	47,0	38,0	45,3	36,2	40,0	36,0	44,2

71.  
Vanadat, Arsenat + Vanadat mit und ohne Coferment.  $p_H = 6,0$  bis  $6,2$ .  
Mergemisch bei  $23^\circ$ .

Nomen an													
Fructose = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser		Fructose = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m + 10 Proz. Wasser		hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 + 10 Proz. Coferment		hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m + 10 Proz. Coferment		Fructose = m/4 + 10 Proz. Coferment		Fructose = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m + 10 Proz. Coferment		10 Proz. Coferment	
saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II
0	0	0	0	0	0	1,2	0	0,2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	2,2	0,2	1,7	0,1	0,1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	3,0	1,3	2,8	0,2	0,5	0	0	0
0	0	0	0	0	0	3,9	4,6	5,3	0,6	5,7	0,7	0	0
0	0	1,6	0	0	0	4,5	7,2	7,1	0,9	11,2	2,5	0	0
0	0	14,2	0,5	2,8	0,5	9,3	10,7	26,5	5,4	52,0	45,2	0	0
0	0	18,0	1,2	5,0	0,8	11,3	11,5	30,3	7,0	53,0	52,8	0	0

72.  
Arsenat und Vanadat mit und ohne Coferment.  $p_H = 6,0$  bis  $6,2$ .  
Mergemisch bei  $23^\circ$ .

Nomen an											
hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4, an Kaliumarsenat = 0,01 m und an Natriumvanadat = 0,01 m				hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,01 m				hexose-di-phosphorsaurem Mg = m/4 und an Natriumvanadat = 0,02 m			
+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment	
saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II	saft I	saft II
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5,9	0	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,6	0,2	12,6	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
5,3	3,0	16,0	6,0	0	0	0	0	0	0	0	0
9,0	11,0	19,2	12,1	0	0	0	0	0	0	0	0
3,0	18,5	34,2	19,3	3,4	2,4	4,0	2,6	4,2	2,3	4,2	1,8
8,3	20,8	40,8	21,4	6,4	4,5	7,2	5,2	8,2	4,5	7,8	4,5
0,5	41,0	43,2	43,4	25,7	18,0	28,0	18,0	32,2	19,0	31,0	19,2

Tab

Zellfreie Vergärung von hexose-di-phosphorsaurem Natrium mit Arsen  
ccm CO<sub>2</sub> aus 5 c

Zeit nach Stunden	Saftko											
	hexose-di-phosphorsaurem Natrium = m/4				hexose-di-phosphorsaurem Natrium = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,01 m				hexose-di-phosphorsaurem Natrium = m/4 und an Kaliumarsenat = 0,02 m			
	+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment		+ 10 Proz. Wasser		+ 10 Proz. Coferment	
	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II	Saft I	Saft II
1	0	0	0	0	0,4	0	0,4	0	0,2	0	0,2	0
2	0	0	0	0	5,5	0,4	6,0	0,4	5,0	0	4,8	0
3	0	0	0	0	11,5	2,8	11,6	2,9	10,5	1,2	10,5	1,1
4	0	0	0	0	17,0	5,6	17,5	5,8	16,3	3,7	16,4	4,1
5	0	0	0	0	20,8	7,5	21,5	8,0	20,2	5,5	20,3	6,1
20	0,2	0,1	0,8	0,4	32,7	32,7	32,2	36,3	32,3	30,0	33,4	31,1
24	0,6	0,2	1,4	0,8	34,0	36,1	34,0	41,8	33,6	35,2	35,3	36,1
72	8,0	4,3	10,2	6,2	35,5	38,5	35,5	45,2	35,2	38,7	36,6	40,1

Tabe

Vergärung von Rohrzucker mit Natriu  
ccm CO<sub>2</sub> aus je 5 cc

Zeit nach Stunden	Konzentration an fris									
	Rohrzucker = m/8 und an Natriumcholol =						Natriumcholol			
	0,02 Proz.		0,04 Proz.		0,08 Proz.		0,1 Proz.		0,2 Proz.	
	-	0,02 Proz.	0,04 Proz.	0,08 Proz.	0,1 Proz.	0,2 Proz.	-	0,02 Proz.	0,04 Proz.	0,08 Proz.
1	10,3	10,7	10,8	10,0	8,1	4,8	0	0	0	0
2	25,8	29,0	28,3	27,8	22,4	12,4	0	0	0	0
3	36,0	39,5	39,3	41,4	33,0	19,2	0	0	0	0
4	41,7	44,7	44,4	50,2	41,8	25,9	0	0	0	0
5	44,2	46,2	46,1	53,1	46,0	32,5	0	0	0	0
6	45,5	47,0	47,2	54,5	47,7	36,2	0	0	0	0
7	46,2	48,0	48,0	55,5	48,8	40,4	0	0	0	0
8	46,6	48,1	48,1	55,8	49,7	42,5	0	0	0	0
9	47,0	48,4	48,2	56,2	49,9	44,0	0	0	0	0







## Über die Wirkung wechselnder Mengen von Arsenat auf die Phosphorylierung.

Von

Carl Neuberg und Maria Kobel.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.)

*Harden* und *Young* haben vor 20 Jahren die wichtige Feststellung gemacht, daß arsensaure Salze die zellfreie Vergärung von Zucker beschleunigen. *Buchner*, *Rapp* und *Hahn* haben eine ähnliche Wirkung der arsenigsauren Salze beschrieben. Die Erklärung für dieses eigentümliche Verhalten der Arsenverbindungen erblickt *Harden*<sup>1)</sup> in einer aktivierenden Wirkung von Arsenat (und Arsenit) auf die Tätigkeit der Phosphatase; er hat gezeigt, daß die Spaltung von Hexose-di-phosphat durch Hefensaft bei Zugabe von Arsenat um nahezu das Neunfache gesteigert werden kann. Nach Versuchen, über die Herr *F. Demuth* demnächst berichten wird, scheint die Aktivierbarkeit durch Arsenate keine allgemeine Eigenschaft von Phosphatasen beliebiger Herkunft zu sein, indem sie bei der Phosphatase der Pferdeniere und bei der Phosphatase des *Aspergillus oryzae* nicht zutage trat. Wenn aber die Erklärung von *Harden* und *Young* für jenes Phosphorsäure-ester spaltende Ferment zutrifft, das auf die Hexose-di-phosphate eingestellt ist, so könnte man erwarten, daß arsensaure Salze schon in sehr kleinen Mengen der fermentativen Bildung des Zymophosphats, also der Wirkung der Phosphatase *Eulers*, entgegenwirken. Versuche hierüber, die noch nicht vorgenommen zu sein scheinen, haben wir angestellt. Dabei hat sich gezeigt, daß Arsenat die Bildung von Hexose-di-phosphorsäure aus den Komponenten unter dem Einfluß von Hefe hemmt, und zwar sowohl bei der Verwendung von toluolisierter frischer Hefe und Trockenhefe als von Hefenmazerationssaft. Diese Versuche, die wegen der besseren Phosphorylierungskraft der deutschen Unterhefen mit entsprechender Bierhefe und deren Zubereitungen ausgeführt worden sind, haben gleichmäßig den erwähnten Effekt ergeben. Bei einem  $p_H$  von 6,4 unterbindet

---

<sup>1)</sup> *A. Harden*, *Alcoholic Fermentation* 1923, S. 123—128; dort auch die Literatur.

Kaliumarsenat mit steigender Konzentration (von 0,005 m bis 0,02 m) in zunehmendem Maße die Phosphorylierung. Die Hemmung dieses Vorganges kann zu einer Zeit, wo im arsenfreien Ansatz alles organische Phosphat verestert worden ist, bis zu 60 Proz. betragen; in anderen Fällen ist in dem Moment, zu dem die Phosphorylierung im Normalversuch nur eine winzige Quantität freier Phosphationen übrig gelassen hat, eine 9,5- bis 12fach so große Menge in den arsenhaltigen Ansätzen vorhanden.

Diese Feststellung der Synthesenhemmung erweitert als ein Experimentum crucis die Erfahrungen, die über eine Begünstigung des Zerfalls unter dem Einfluß von arsensauren Salzen vorliegen; das Resultat scheint uns, im Hinblick auf die in mancher Hinsicht interessanten Wirkungen des Arsens, der Mitteilung wert.

### I. Phosphorylierung mit frischer toluolisierte Patzenhofer Unterhefe.

#### *Ansätze:*

1. 100 ccm 0,3 m Monokaliumphosphat,  
20 g Rohrzucker,  
0,5 g Natriumbicarbonat,  
0,51 g Kaliumarsenat (Konzentration im Ansatz 0,02 m),  
30 g frische Hefe,  
1 ccm Toluol.
2. 100 ccm 0,3 m Monokaliumphosphat,  
20 g Rohrzucker,  
0,5 g Natriumbicarbonat,  
0,255 g Kaliumarsenat (Konzentration im Ansatz 0,01 m),  
30 g frische Hefe,  
1 ccm Toluol.
3. 100 ccm 0,3 m Monokaliumphosphat,  
20 g Rohrzucker,  
0,5 g Natriumbicarbonat,  
0,126 g Kaliumarsenat (Konzentration im Ansatz 0,005 m),  
30 g frische Hefe,  
1 ccm Toluol.
4. Vergleichsversuch ohne Arsenat:  
100 ccm 0,3 m Monokaliumphosphat,  
20 g Rohrzucker,  
0,5 g Natriumbicarbonat,  
30 g frische Hefe,  
1 ccm Toluol.

$p_H$  in allen Versuchen = 6,4.

Zu Beginn und dann nach jeder Stunde wurden aus den Gärgemischen Proben von je 3,0 ccm entnommen und darin die Gärung durch Zusatz von je 6,0 ccm 2½proz. Ammoniak unterbrochen; das Gemisch wurde durch ein trockenes Filter filtriert und eine Menge von 2,0 ccm des klaren Filtrats (entsprechend ⅔ ccm Urlösung) mit 3,0 ccm Magnesiainxur versetzt. Der

Niederschlag blieb etwa 4 Stunden stehen, wurde dann abfiltriert und wegen des Vorhandenseins von Arsenat vorsichtig mit Salpetersäure versäht. Die in Kontrollbestimmungen ermittelten Arsensäurewerte wurden von der gefundenen Aschenzahl abgerechnet. Die Versuchsdaten sind aus der nachfolgenden Tabelle I zu ersehen.

Tabelle I.

Zeit	Ansatz 1 0,02 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$ *)	Ansatz 2 0,01 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Ansatz 3 0,005 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Ansatz 4 Vergleichs- versuch ohne Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Bemerkungen
Anfangsbest.	0,0174	0,0169	0,0165	0,0171	
Nach 2 Stdn.	0,0135	0,0133	0,0125	0,0092	
" 3 "	0,0103	0,0096	0,0089	0,0052	Zur Zeit der praktisch kompletten Phospho- rylierung im Normal- versuch ist im ana- logen Arsenansatz 1 noch die 9,5fache Menge $PO_4$ frei.
" 4 "	0,0079	0,0072	0,0056	0,0029	
" 5 "	0,0074	0,0059	0,0047	0,0011	
" 6 "	0,0057	0,0043	0,0029	0,0006	
" 7 "	0,0049	0,0037	0,0017	0,0008	
" 8 "	0,0048	0,0036	0,0022	0,0008	
" 9 "	0,0040	0,0027	0,0022	0,0013	
" 10 "	0,0043	0,0030	0,0024	0,0015	
" 11 "	0,0045	0,0030	0,0027	0,0021	

\*) Das bei der Analyse mitbestimmte Arsenat ist der besseren Übersicht wegen hier und in allen übrigen Fällen von der Gesamtaschenmenge abgezogen worden.

## II. Phosphorylierung mit Patzenhofer Trockenhefe.

Ansätze 1, 2, 3, 4 wie vorher, nur wurden hier als Fermentmaterial statt der frischen Hefe je 10 g Trockenhefe verwendet.  $p_H$  in allen Versuchen = 6,4. Probenahmen und Analysen des anorganischen Phosphats wurden in gleicher Weise ausgeführt wie bei den Versuchen mit frischer Hefe (s. Tabelle II).

Tabelle II.

Zeit	Ansatz 1 0,02 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Ansatz 2 0,01 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Ansatz 3 0,005 m Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Ansatz 4 Vergleichs- versuch ohne Kalium- arsenat  g $Mg_2P_2O_7$	Bemerkungen
Anfangsbest.	0,0185	0,0188	0,0192	0,0192	
Nach 2 Stdn.	0,0145	0,0122	0,0111	0,0080	
" 3 "	0,0118	0,0089	0,0074	0,0044	Zur Zeit der kompletten Veresterung enthalten alle Arsenansätze noch freies Phosphat.
" 4 "	0,0097	0,0064	0,0045	0,0019	
" 5 "	0,0082	0,0056	0,0040	0	
" 6 "	0,0070	0,0046	0,0035	0	
" 7 "	0,0061	0,0032	0,0018	0	
" 8 "	0,0060	0,0021	0,0015	0	
" 9 "	0,0038	0,0021	0,0016	0,0012	
" 10 "	0,0040	0,0019	0,0010	0,0015	
" 11 "	0,0042	0,0021	0,0021	0,0021	
" 12 "	0,0045	0,0031	0,0022	0,0020	

### III. Phosphorylierung mit Mazerationssaft.

1. In 100 ccm Hefemazerationssaft wurden 4,08 g Monokaliumphosphat, 20 g Rohrzucker, 0,5 g Natriumbicarbonat, 0,51 g Kaliumarsenat (0,02 m im ganzen Ansatz) gelöst und 1 ccm Toluol hinzugesetzt.

2. Wie 1, statt 0,5 g nur 0,25 g Kaliumarsenat (0,01 m).

3. Ansatz wie 1, jedoch 0,125 g Kaliumarsenat (0,005 m).

4. Ansatz ohne Arsenat.

$p_H$  gleichfalls überall = 6,4.

Zu den in der folgenden Tabelle III angegebenen Zeiten wurden Proben entnommen und zur Bestimmung des anorganischen Phosphats je 5,0 ccm Gärgemisch mit 5,0 ccm Wasser verdünnt, während 5 Minuten im Wasserbade koaguliert und filtriert. 3,0 ccm des klaren Filtrats wurden mit 3,0 ccm 2½ proz Ammoniak versetzt, wieder filtriert und 2,0 ccm davon, entsprechend 0,5 ccm der Urlösung, zur üblichen Phosphorsäurebestimmung verwendet (s. Tabelle III).

Tabelle III.

Zeit	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 4	Bemerkungen
	0,02 m Kalium- arsenat	0,01 m Kalium- arsenat	0,005 m Kalium- arsenat	Vergleichs- versuch ohne Kalium- arsenat	
	g $Mg_2P_2O_7$	g $Mg_2P_2O_7$	g $Mg_2P_2O_7$	g $Mg_2P_2O_7$	
Anfangsbest.	0,0184	0,0195	0,0199	0,0199	
Nach 4 Stdn.	0,0185	0,0174	0,0178	0,0173	
" 7 "	0,0182	0,0160	0,0133	0,0127	
" 8 "	0,0180	0,0142	0,0111	0,0107	
" 9 "	0,0165	0,0113	0,0092	0,0071	
" 11 "	0,0135	0,0081	0,0064	0,0011	
" 12 "	0,0110	0,0065	0,0052	0	} Verhältnis ähnlich wie in den Versuchsreihen I u. II.
" 13 "	0,0110	0,0066	0,0060	0	

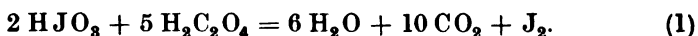
## Über die Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure.

Von

Otto Warburg (Berlin-Dahlem).

(Eingegangen am 23. Juni 1926.)

Wässrige Jodsäure-Oxalsäurelösungen reagieren bei Zimmertemperatur nach der Gleichung:



*Millon* fand<sup>1)</sup>, daß das ausgeschiedene Jod die Reaktion beschleunigt und daß Blausäure die Reaktion antikatalytisch hemmt.

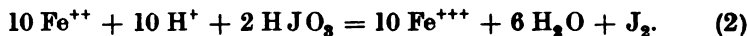
Zur Erklärung der Blausäurewirkung nahm *Millon* an, daß zwei ihrem Mechanismus nach verschiedene Reaktionen vorliegen. Die erste Reaktion ist eine direkte zwischen Jodsäure und Oxalsäure und verläuft sehr langsam. Die zweite schnellere Reaktion ist die durch Jod katalysierte. Indem Blausäure das in der ersten Reaktion gebildete Jod unter Bildung von Jodcyan wegfängt, hemmt sie die zweite Reaktion und läßt nur die sehr langsame erste Reaktion übrig.

*Shigeru Toda*<sup>2)</sup> hat sich in Dahlem näher mit der Reaktion beschäftigt. Er fand, daß die Reaktionsgeschwindigkeit auf den zehnten Teil sank, wenn er die beiden Säuren sorgfältig reinigte. Zusatz von  $10^{-5}$  mg Eisen (als Ferrosulfat) zu 4 ccm eines  $\frac{1}{2}$  normalen gereinigten Säuregemischs bewirkte eine eben meßbare Beschleunigung der Reaktion, Zusatz von  $10^{-3}$  mg Eisen beschleunigte auf das Zehnfache und brachte damit die Reaktionsgeschwindigkeit der gereinigten Lösungen wieder auf die Geschwindigkeit der ungereinigten Lösungen. Blausäure brachte die Wirkung des zugesetzten Eisens vollkommen zum Verschwinden. Aus *Todas* Versuchen schloß ich, daß die Reaktion zwischen Jodsäure und Oxalsäure durch Eisen beschleunigt wird und daß Blausäure den Umsatz hemmt, indem sie sich mit dem Eisen verbindet.

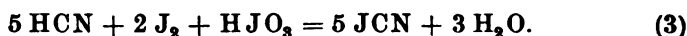
<sup>1)</sup> *E. Millon*, Ann. de Chim. et de Phys. (3) 13, 29, 1845.

<sup>2)</sup> *S. Toda*, diese Zeitschr. 171, 231, 1926, vgl. auch *H. Wieland* u. *F. G. Fischer*, Chem. Ber. 59, 1171, 1926.

Dieser Schluß war unrichtig. Ferrosalze werden von Jodsäure zu Ferrisalzen oxydiert, wobei aus der Jodsäure freies Jod entsteht. Die Bilanzgleichung ist:

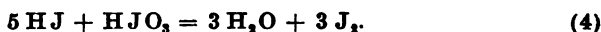


Die von *Toda* beobachteten Erscheinungen kann man nun durch die Annahme erklären, daß das Ferrosulfat die Jodsäure-Oxalsäurereaktion durch Jodabscheidung beschleunigt, und daß Blausäure die Wirkung des Eisens zum Verschwinden bringt, indem sie nach *Millon* das Jod unter Bildung von Jodcyan aus der Lösung entfernt:



Zur Prüfung dieser Annahme war es notwendig, Jodsäure-Oxalsäuregemischen Ferrosulfat zuzusetzen und in einem Parallelversuch diejenige Menge Jod, die nach Gleichung (2) dem zugesetzten Eisen äquivalent war. Dann mußten beide Zusätze die gleichen Beschleunigungen der Jodsäure-Oxalsäurereaktion hervorbringen.

Versuch: Das Eisen wurde als Ferrosulfat zugesetzt, und zwar in schwefelsaurer Lösung, um die Hydrolyse und damit die Autoxydation des Eisens zu verhindern. Das Jod wurde als Jodwasserstoff zugesetzt, der sich beim Zusammentreffen mit Jodsäure nach der Gleichung umsetzte:



Da die Jodsäure-Oxalsäure-Reaktion, wie schon *Millon* beobachtete, lichtempfindlich ist, so wurde, um Komplikationen durch Photokatalyse zu vermeiden, im Dunkeln gearbeitet und auch die Mischung der Jodsäure mit der Oxalsäure im Dunkeln vorgenommen. Um ferner die Lösungen so frei als möglich von Anfangsjod zu haben, begannen die Messungen so bald als möglich nach dem Mischen der Säuren. Die Messungen geschahen manometrisch, durch Bestimmung der nach Gleichung (1) entwickelten Kohlensäure.

In drei mit Ansatzbirnen versehene Gefäße brachte ich je 2 ccm eines Jodsäure-Oxalsäuregemisches, das in bezug auf beide Säuren n/2 war. Beide Säuren waren *Kahlbaumsche* Präparate und nicht besonders gereinigt. In die Birnen der Gefäße wurde eingefüllt:

In die Birne des Gefäßes I : 0,2 ccm n/100 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
 " " " " " II : 0,2 " n/100 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, n/1000 FeSO<sub>4</sub>.  
 " " " " " III: 0,2 " n/100 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, n/5000 KJ.

Die Gefäße wurden, mit ihren Manometern verbunden, in einen auf 18° einstehenden Wasserthermostaten gehängt und zwecks Druck- und Temperatureausgleich geschüttelt. 10 Minuten nach dem Mischen der Säuren wurde der Inhalt der Birnen quantitativ in das Säuregemisch übergespült. Die entwickelten Kohlensäuremengen 20 Minuten nach Zugabe des Birneninhalts waren:

Gefäß I ccm CO <sub>2</sub>	Gefäß II ccm CO <sub>2</sub>	Gefäß III ccm CO <sub>2</sub>
1,3	8,8	7,8

Es zeigte sich also, daß sowohl das Ferrosulfat als auch das Jod die Reaktion beschleunigten, und zwar in ungefähr demselben Maße. Dies beweist, daß die oben geäußerte Annahme zutrifft. Eisen beschleunigt die Jodsäure-Oxalsäure-Reaktion durch Jodabscheidung.

Überraschend hierbei ist, wie klein die katalytisch wirksamen Jodmengen sind. In dem angeführten Versuch, bei Verwendung ungereinigter Säuren, beschleunigte  $2,4 \cdot 10^{-5}$  n Jod auf das Sechsfache. Bei Verwendung gereinigter Lösungen fand *Toda* eine Beschleunigung, wenn er  $10^{-5}$  mg  $\text{Fe}^{\text{II}}$  zu 4 ccm Säuregemisch zusetzte. Die Eisenkonzentration war dann  $5 \cdot 10^{-8}$  n, die Jodkonzentration, nach Gleichung (2) berechnet,  $10^{-8}$  n.

*Toda* reinigte die Jodsäure und die Oxalsäure mit der Absicht, Schwermetalle zu entfernen. Wahrscheinlich war bei der Reinigung der Oxalsäure das Entscheidende die Entfernung von Ferrocxalat, das beim Zusammenbringen mit Jodsäure die Abscheidung von Jod veranlassen muß. Bei der Reinigung der Jodsäure dagegen kann, da zweiwertiges Eisen in Jodsäure nicht vorkommt, die Entfernung von Eisenspuren nicht von Einfluß gewesen sein, sondern hier war es offenbar die Entfernung von Jodspuren. In käuflicher Jodsäure findet man immer Kristalle, die infolge von Jodbeimengungen bräunlich schimmern.

Nach dem Gesagten ist die Jodsäure-Oxalsäurereaktion und ihre Hemmung durch Blausäure aus der Reihe der für die Biologie wichtigen Modellreaktionen zu streichen.

---

## **Berichtigung**

zu der Arbeit „Über die Ionenwirkung auf die Leberfunktion und den Gesamtstoffwechsel“, Bd. 165, II. und III. Mitteilung.

Von

**M. Heianzan (Japan).**

Auf S. 63, Abb. 1, muß die Bezeichnung der Abszissen 0, 5, 10 usw. statt 5, 10, 15 usw. lauten.

Auf S. 70 oben muß es heißen initiale stärkere Ca-Wirkung und sekundäre schwache Ca-Wirkung.

Auf S. 85 muß in der Tabelle beim Versuchstier Nr. 4 die Zeitangabe 4 Stunden statt 24 Stunden heißen.

Auf S. 86 sind die mikroskopischen Befunde 1, 2, 3, 3 usw. numeriert. Statt der zweiten 3 muß eine 4 stehen.

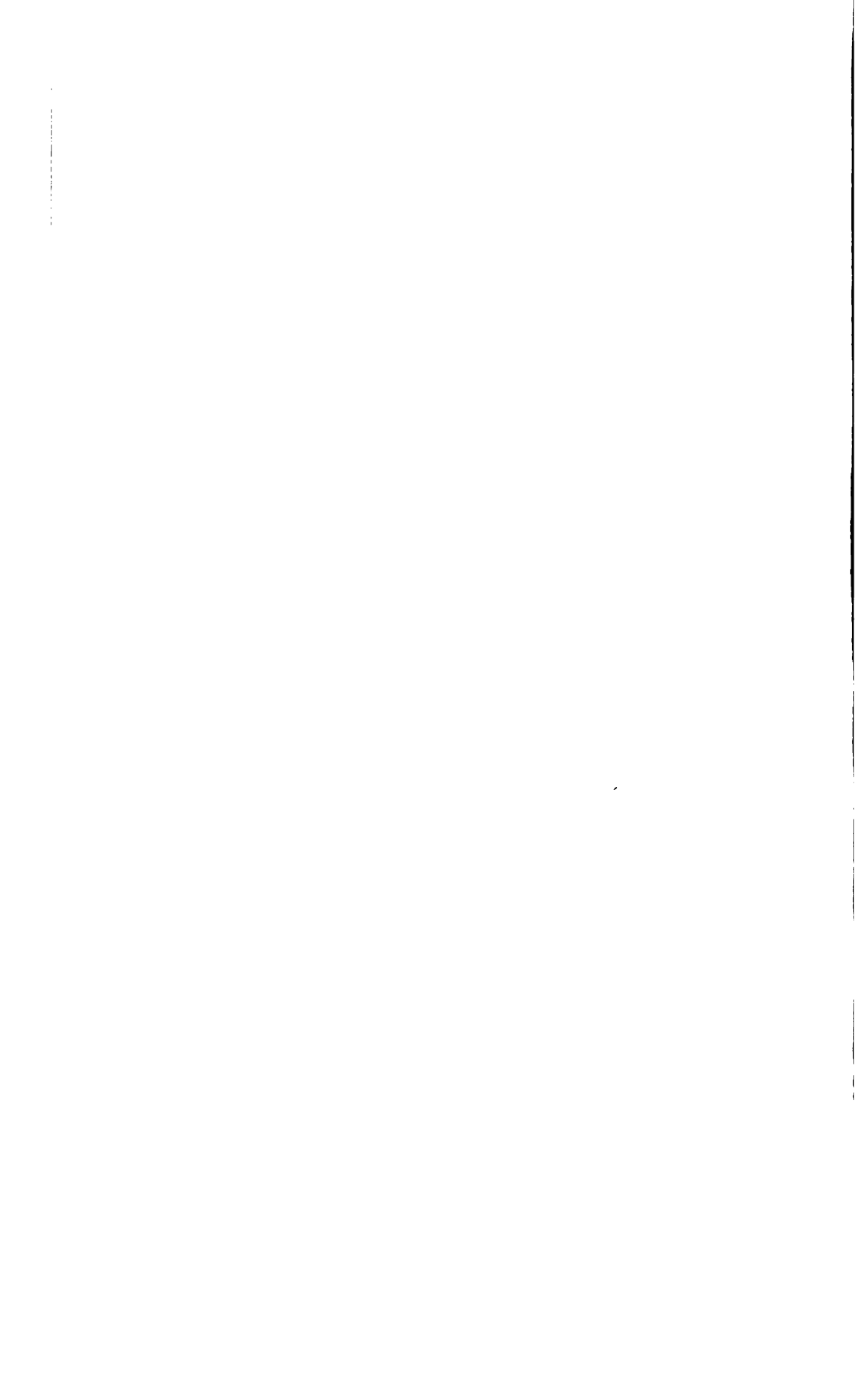


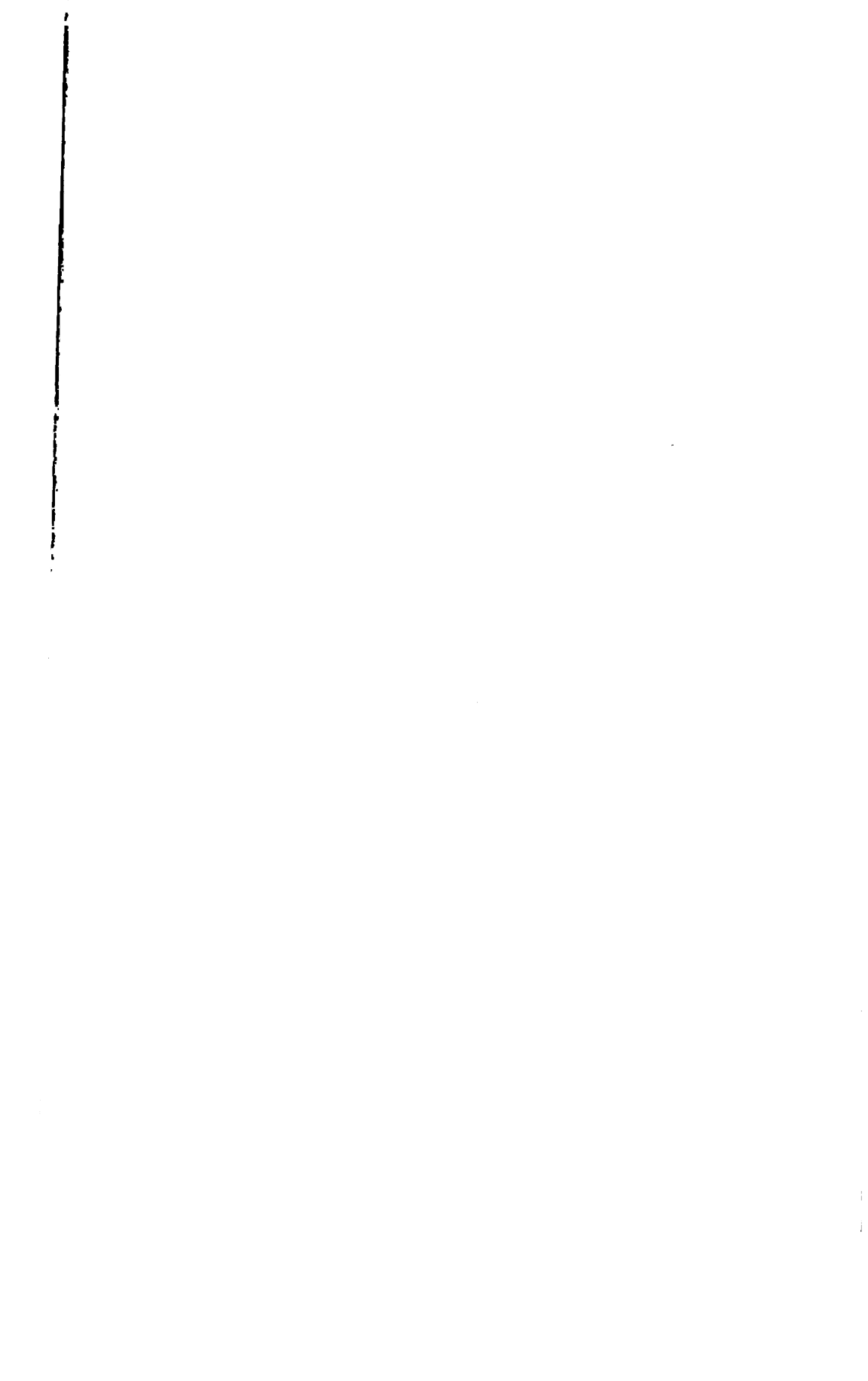
## Autorenverzeichnis.

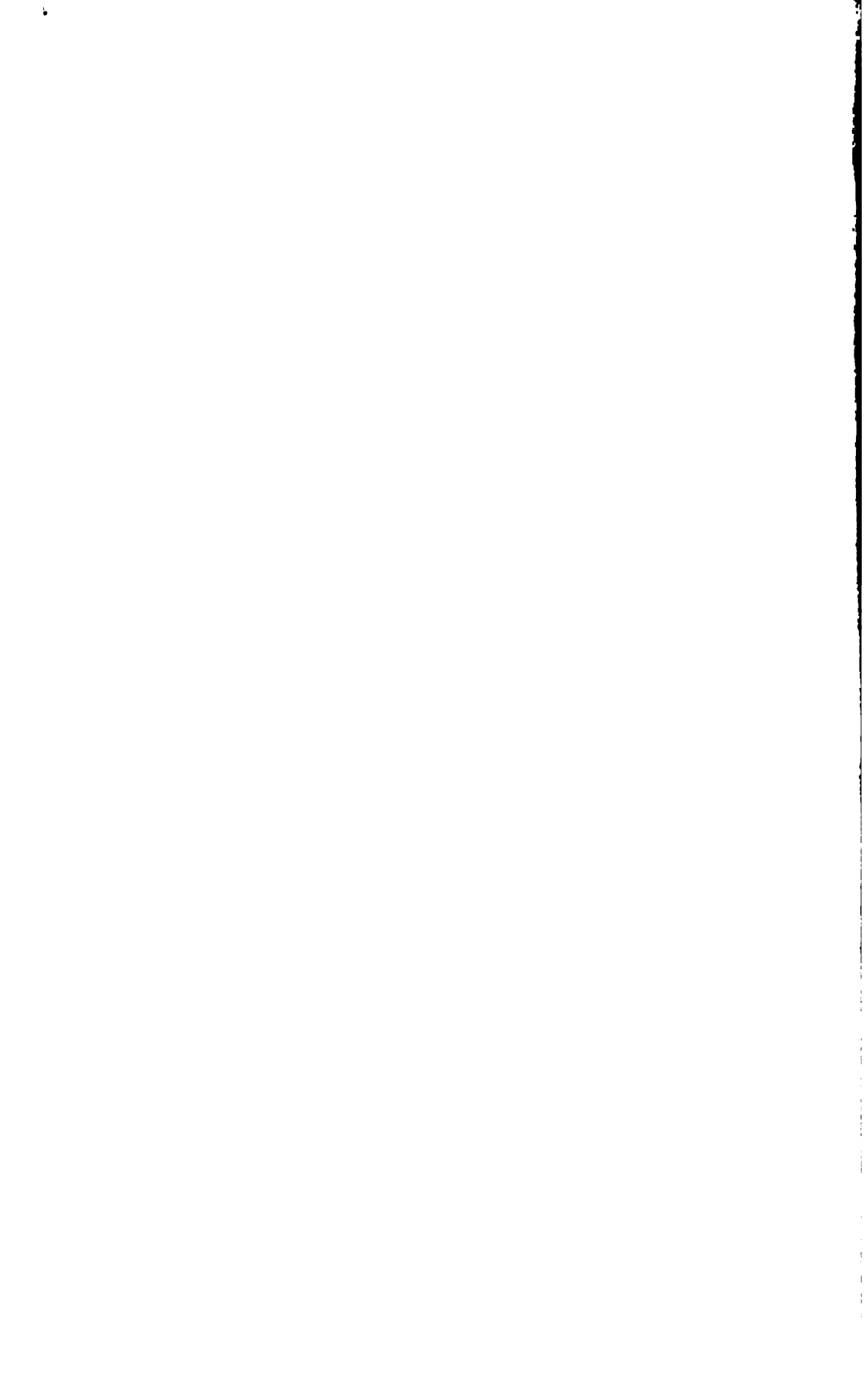
- Abelin, I., E. Goldener* und *B. Kobori*. Über die Bedeutung des Fettes für die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse. (Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Schilddrüsenwirkung.) S. 232.
- Arnd, O.* und *E. A. Hafner*. Zur Biochemie des Strontiums. Die quantitative Bestimmung des Strontiums in Gegenwart von Calcium. S. 182.
- Binder-Kotrba, G.* Die Umwandlung von Phenylglyoxal in Mandelsäure durch die Ketonaldehydmutase grüner Pflanzen. S. 443.
- Über die Dismutation des Acetaldots durch *Bacterium ascendens*. S. 448.
- Über die Vergärung der Phenylglyoxyssäure. S. 440.
- Botstüber, Georg*. Versuche über die analytische Verwendbarkeit der verschiedenen Oxydationsfähigkeit organischer Substanzen. S. 68.
- Buckenauer, Hans*. Stickstoff- und Fettansatz während der Mast wachsender Schweine bei Ersatz des Futtereisweißes durch Glykokoll und Ammonacetat. S. 188.
- Erlandsen, Lars*. Über die Löslichkeit von Cholesterin in Äthyl- und Methylalkohol bei verschiedenen Temperaturen. S. 53.
- Fehér, D.* und *St. Vági*. Untersuchungen über die Einwirkung von Nitriten auf das Wachstum der Pflanzen. S. 262.
- Fellenberg, Th. von*. Untersuchungen über den Jodstoffwechsel. II. S. 341.
- Über jodiertes Kochsalz. III. S. 364.
- Versuche über die Jodspeicherung in den einzelnen Organen. S. 355.
- Freyschmidt, H. J.* s. *A. Nitschke*.
- Fukui, Tomio*. Über den Einfluß von Saponinen auf den Eisenstoffwechsel und auf die Milz. S. 146.
- Geldrich, J.* s. *L. Jendrassik*.
- Gigon, Alfred*. Insulin und Hypophysisextrakt in ihrer Wirkung auf einige Blutbestandteile. S. 257.
- Goldener, E.* s. *I. Abelin*.
- Gorr, Günther* und *Genia Perlmann*. Über die Einwirkung des Sauerstoffs auf den Verlauf der alkoholischen Zuckerspaltung. S. 425.
- Weitere Untersuchungen über die Bildung von Milchsäure aus Methylglyoxal durch Ketonaldehydmutase tierischer und pflanzlicher Herkunft. S. 433.
- Hafner, E. A.* s. *O. Arnd*.
- Heianzan, M.* Berichtigung zu der Arbeit „Über die Ionenwirkung auf die Leberfunktion und den Gesamtstoffwechsel“, Bd. 165, II. und III. Mitteilung. S. 500.
- Iwasaki, Ken* s. *P. Rona*.
- Janke, Alexander* und *Stephan Kropacsy*. Zur kolorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration. S. 120.
- Jendrassik, L.* u. *J. Geldrich*. Die Abhängigkeit der Oberflächenspannung des Blutes von der Wasserstoffionenkonzentration. S. 99.
- Kirchner, Otto* und *Hermann Nagell*. Die Verwendbarkeit der Methoden zur quantitativen Katalase- und Peroxydasebestimmung für Untersuchungen an Bakterien. S. 167.
- Kleinmann, Hans*. Zur Methodik der nephelometrischen Phosphorsäurebestimmung. S. 43.
- Kleinmann, H.* s. *P. Rona*.
- Kobel, Maria* s. *Carl Neuberg*.
- Kobori, B.* s. *I. Abelin*.
- Kropacsy, Stephan* s. *Alexander Janke*.
- Lasch, Fritz* und *Karl Neumayer*. Über die Resorption von Calcium bei peroraler Verabreichung. S. 333.
- Mayer, Paul*. Zur Biochemie des Asymmetrieproblems. S. 420.
- Meier, Rolf*. Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen. Vorläufige Mitteilung. S. 384.
- Michlin, D.* s. *B. Sbarsky*.
- Nagell, Hermann* s. *Otto Kirchner*.

- Neuberg, Carl* und *Maria Kobel*. Neue vergleichende Versuche über die Vergärung von Hexose-diphosphorsäure, Glucose, Fructose, Saccharose und Invertzucker durch Hefensäfte sowie frische Hefen unter verschiedenen Bedingungen. S. 480.
- — Über die Wirkung wechselnder Mengen von Arsenat auf die Phosphorylierung. S. 493.
- — Weiteres über die Reaktion einzelner Zuckerarten mit verschiedenen Aminosäuren nebst Bemerkungen über die Vergärung von Aminosäuren - Zucker - Gemischen. S. 464.
- Nilsson, Carl* und *Ernst Simon*. Über die Dismutation des Methyläthyl-acetaldehyds. S. 452.
- Neuberg, Carl* und *Joachim Wagner*. Über die Verschiedenheit der Sulfatase und Myrosinase. VIII. Mitteilung über Sulfatase. S. 457.
- Neumayer, Karl* s. *Fritz Lasch*.
- Nicolai, H. W.* Die Bestimmung der Lipase in keimenden Kiefersamen. S. 373.
- Nilsson, Ragnar* und *Erik Sandberg*. Zur Kenntnis der Gärungsspaltungen in Milchsäurebakterien und in Hefen. S. 106.
- Nito, José de*. Über die Totenstarre und die postmortale Säurebildung in verschiedenen Organen des Tierkörpers insbesondere unter dem Einfluß von Giften. S. 131.
- Nitschke, A.* und *H. J. Freyschmidt*. Über die Zustandsform des Calciums im Serum. S. 287.
- Pauli, Wolfgang* und *Hugo Wit*. Untersuchungen an elektrolyt-freien wasserlöslichen Proteinen. VI. Mitteilung: Säureglutine. S. 308.
- Perlmann, Genia* s. *Günther Gorr*.
- Richter, A. F.* Beitrag zur Begründung der Ausdrücke  $r_{(n)}$  und  $r_{(p)}$  von D. Giribaldo. S. 271.
- Rona, P.* und *Ken Iwasaki*. Beiträge zur Frage der Glykolyse. VI. Mitteilung: Über die Verteilung des Phosphors im Blute. S. 293.
- Rona, P.* und *H. Kleinmann*. Untersuchungen über die Beziehung zwischen Substratdispersität und Fermentwirkung mittels einer neuen Methode zur Bestimmung der fermentativen Fettspaltung. S. 18.
- Sandberg, Erik* s. *Ragnar Nilsson*.
- Sbarsky, B.* und *D. Michlin*. Weitere Versuche über die Reinigung der Oxydoredukase (Schardingerenzym, Perhydridase). S. 116.
- Simon, Ernst* s. *Carl Neuberg*.
- Steppuhn, O.* und *A. Timofejewa*. Über das Wesen der Autolyse. IV. Mitteilung: Weitere Beiträge zur Beeinflussung der Autolyse durch Jod. S. 84.
- — Über das Wesen der Autolyse. V. Mitteilung: Die Beeinflussung der Proteolyse durch Jod in vivo. S. 90.
- Sterlkin, Emmanuel*. Zur Frage nach dem Einfluß der  $Ca^{++}$ - und  $K^+$ -Ionen auf den Blutzuckerspiegel. S. 1.
- Timofejewa, A.* s. *O. Steppuhn*.
- Vági, St.* s. *D. Fehér*.
- Völker, Hans*. Zur Wirkung des Morphiums auf den Eiweißstoffwechsel. S. 55.
- Vollmer, Hermann*. Photoaktivitätsstudien. IV. Mitteilung: Eigentümliche Farbreaktion einiger photoaktiver Substanzen. S. 143.
- Wada, Hideo*. Beobachtungen über das Verhalten des Harnquotienten C:N nach der Kastration, während der Schwangerschaft und nach Zufuhr von Ovarialsubstanzen. S. 400.
- Über das Verhalten des Harnquotienten C:N bei Fütterung von Schilddrüsen- und Hypophysenpräparaten. S. 392.
- Wagner, Joachim* s. *Carl Neuberg*.
- Wagner, Oktavian*. Zur Kenntnis des Menschenfettes. S. 412.
- Warburg, Otto*. Über die Oxydation der Oxalsäure durch Jodsäure. S. 497.
- Wit, Hugo* s. *Wolfgang Pauli*.
- Wwedensky, Nikolaus*. Über den Einfluß des Insulins auf die Magensekretion. S. 276.









STACK

141749

