



Über dieses Buch

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

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

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

Nutzungsrichtlinien

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

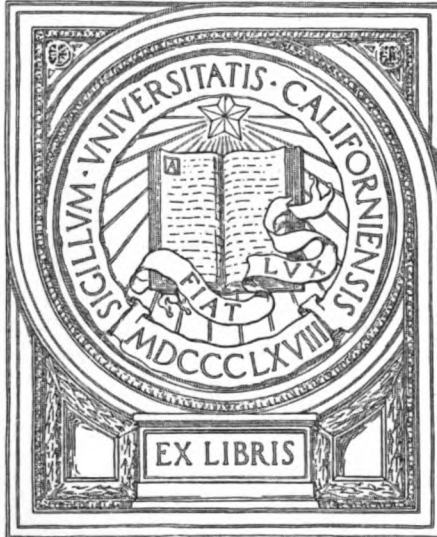
Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

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

Über Google Buchsuche

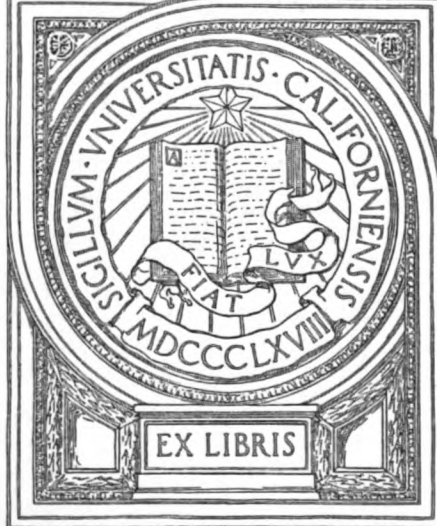
Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können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

MEDICAL SCHOOL
LIBRARY



EX LIBRIS

MEDICAL SCHOOL
LIBRARY



EX LIBRIS

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. Durlig-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. Härt-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hüggelund-Abu, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, A. J. Kluyver-Delft, 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, 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. Melsenholmer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michaelis-Nagoya, H. Mollath-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omellanski-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. Prianitschnikow-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, J. Snapper-Amsterdam, 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. Tappeler-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, F. Trendelenburg-Freiburg i. Br., F. Verzar-Debreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zeliniski-Moskau.

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertachtzigster Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1927

ALSO TO VINDI
10012 10012

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

Inhalt.

	Seite
Loewe, S., F. Lange und E. Spohr. Über weibliche Sexualhormone (Thelytropine). XII. Mitteilung: Brunsterzeugende Stoffe (Thelykinine) als Erzeugnisse des Pflanzenreiches	1
Banerjee, Dhirendranath. Kann durch Verfütterung von Natrium bicarbonicum oder aktivem Eisenoxyd der Verlauf der Avitaminose bei Reistauben beeinflusst werden?	27
Fuchs, Walter. Theorie der Lignin-bildung	30
Timofejewa, A. Über die Einwirkung von Jod und Jodpräparaten. Thyreoektomie und Schilddrüsenfütterung auf die Blutkatalase in vitro und in vivo	35
Alders, Nikolaus, Hermann Chiari und Daniel Laszlo. Über das glykolytische Vermögen zellfreier Extrakte aus Tumoren und anderen Geweben	46
Hägglund, Erik und Truls Rosenqvist. Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. VI	61
Kurelec, Viktor Bitter von. Über die Lage der Absorptionsstreifen von Kaliumpermanganat und Uranylinitrat in verschiedenen farblosen Lösungsmitteln	65
Lányi, Elisabeth. Beiträge zur Reduktion von Kupferoxydsalzen durch Traubenzucker und durch Harnsäure	85
Remy, E. Das Verhalten aktiver Chlorpräparate gegenüber organischer Materie	97
Bleyer, B. und W. Braun. Beitrag zur Kenntnis des oxydativen Abbaues der Glucose.	105
Senkareff, K. A. Elektrometrische Titrierung des Magensaftes als Methode der Bestimmung seines Pufferungsgrades	117
- Bestimmung kleiner Salzsäuremengen im Magensaft mittels seiner elektrometrischen Analyse	127
Pincussen, Ludwig. Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. I. Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoffkomponenten durch Adrenalin und Pilocarpin. Von Alfred Walter	132
- Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. II. Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoffkomponenten durch Kalium und Calcium. Von Eduardo Coelho	136
Freundlich, H. und L. Farmer Loeb. Harnsaureres Natrium als Kolloid-elektrolyt.	141
Williger, Johannes. Fütterungsversuch an Milchziegen mit Glykokoll als Eiweißersatz.	156
Janek, A. und Br. Jirgensons. Sensibilisierende und stabilisierende Wirkung der Haut auf kolloide Lösungen	193
Fehér, D. Untersuchungen über die Kohlensäureernährung des Waldes. Vorläufige Mitteilung	201
Gracanič, Mihovil. Über das Verhältnis zwischen der Katalaseaktivität und der Samenvitalität	205
Abelin, J. und Bunya Kobori. Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe. V. Mitteilung: Über den Einfluß des Natriumphosphats auf den Gaswechsel nach Fleischaufnahme	211
Kobori, Bunya. Zur Kenntnis des Kohlehydratstoffwechsels. II. Mitteilung: Über den Einfluß der Alkaliphosphate und einiger anderer Elektrolyte auf den Kohlehydratstoffwechsel	218

	Seite
Willhelm, R. Zur Frage der Eiweißkörper mit Bence-Jonesscher Reaktion. Zugleich ein Beitrag zum Problem der Reversibilität der Hitzegerinnung	231
Chrzaszcz, T. und C. Goralówna. Einfluß der Fütterung auf die Enzymmenge der Kuhmilch	247
— — Über die Diastasemenge der Kuhmilch unter pathologischen Bedingungen	263
Schmitt-Krahmer, Constanze. Die Milchsäurebildung in roten und weißen und funktionell verschiedenen Muskeln der Vögel	272
Sachs, H. Zur Frage der Abhängigkeit der Komplementbindung und Komplementwirkung von der Kolloidlabilität des Serums	288
Surányi, L. Beiträge zur Cholesterinbestimmungsmethode nach Surányi und Korényi	293
Strobel, A. und K. Scharrer. Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. V. Mitteilung: Fütterungsversuch mit abnehmenden Jodgaben zu Milchziegen	300
Scharrer, K. und J. Schwalbold. Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VI. Mitteilung: Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels	307
Strobel, A., K. Scharrer und W. Schropp. Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VII. Mitteilung: Fütterungsversuche mit verschiedenen Jodgaben an Milchkühen	313
Schwalbold, J. und K. Scharrer. Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VIII. Mitteilung: Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels	334
Groot, J. Über das Verhalten von Zuckerarten in verdünnt alkalischer Lösung. II. Mitteilung: Das Verhalten von Glucose KOH und NaOH gegenüber	341
Dyke, H. B. van und A. Schürmeyer. Die Entfärbung von Lichtgrün durch Serum von männlichen und weiblichen Menschen und Tieren	353
Ungar, A. Über den Ca-Gehalt des Blutserums bei Mangel an Vitamin B	357
Gassner, L. Der Gehalt des Nervensystems an gebundenem Cholesterin	359
Bach, A., A. Oparin und R. Wähner. Untersuchungen über den Fermentgehalt von reifenden, ruhenden und keimenden Weizensamen	363
Trendtel, F. Über individuelle Verschiedenheiten des isoelektrischen Punktes beim Frauenmilchcasein	371
Krebs, Hans Adolf. Über die Rolle der Schwermetalle bei der Autoxydation von Zuckerlösungen	377
Spiegel-Adolf, Mona. Goldsol und Proteine	395
Blüh, Otto. Über Adsorptions- und Diffusionserscheinungen im elektrischen Felde und eine elektrostatische Meßmethode zur Bestimmung des elektrischen Wanderungssinnes gelöster Stoffe	415
Rubner, M. und A. Schittenhelm. Untersuchungen über Malzkeimlinge und deren Nährwert	426
Schittenhelm, Massatsch und Warnat. Über die biologische Brauchbarkeit eines gereinigten Hefetrockenpräparats	454
Neuberg, Carl. Über die Vergärungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure und damit zusammenhängende Fragen	471
Berichtigung	491
Autorenverzeichnis	492

Über weibliche Sexualhormone (Thelytropine).

XII. Mitteilung:

Brunsterzeugende Stoffe (Thelykinine) als Erzeugnisse des Pflanzenreiches¹⁾.

Von

S. Loewe, F. Lange und E. Spohr²⁾.

(Aus dem Pharmakologischen Institut und dem Pflanzenmorphologisch-systematischen Laboratorium der Universität Dorpat-Tartu).

(Eingegangen am 27. Oktober 1926.)

Mit 9 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Die hier zu berichtenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, ob Stoffe von den Wirkungsmerkmalen des weiblichen Prägungshormons [Thelykinins³⁾] auch im Pflanzenreich anzutreffen sind. Bekanntlich ist ein derartiges Hormon der weiblichen Prägung bei den Weibchen der verschiedensten Säugerarten in den letzten Jahren aufgefunden worden, seit *Stockard* und *Papanicolaou* einen leicht feststellbaren hormonalen Effekt der weiblichen Keimdrüse, die vaginale Brunstreaktion des Nagers entdeckt und *Allen* und *Doisy* c. s. gefunden hatten, daß diese Scheidenbrunst tatsächlich ein Wirkungsmerkmal vom endokrinen Substrat losgelöster hormonaler Wirksubstanz ist. Daß die tierischen Thelykinine nicht artspezifisch sind, war schon nach älteren, glandulären Untersuchungen zu vermuten, welche die Übertragbarkeit des hormonalen Effekts bei Hetero-plantation der Drüsen gezeigt hatten. Zur Feststellung der

¹⁾ XI. Mitt.: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., Bd. 119; dort Hinweise auf die früheren Mitteilungen, sowie auch diejenigen Schrifttumsnennungen, die hier nicht nochmals ausführlich wiederholt sind.

²⁾ Herrn Dr. *W. Faure*, jetzt Berlin, s. Z. Assistenten des Pharmakologischen Instituts, sei für seine Mitarbeit an dem 1925 bearbeiteten Teil der vorliegenden Untersuchung auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen.

³⁾ Siehe die Benennungsvorschläge *Loewes* in Deutsch. med. Wochenschrift 1926, Nr. 40.

neuen grundlegenden Tatbestände über die vaginale Brunstreaktion diente eine Versuchsordnung, welche die schon früher vermutete Artunspezifität sicherstellte, die Prüfung der zellfreien Organextrakte aus der endokrinen Keimdrüse der verschiedensten Spezies an Tierarten der Nagerreihe, die zu besonders schneller und kennzeichnender Reaktion der Scheidenschleimhaut befähigt sind. Zwar erstrecken sich alle bisherigen Erfahrungen über das Fehlen einer Artunspezifität des tierischen Thelykinins zunächst nur auf die Säugerreihe; doch ist mancher Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür zur Hand, daß zum mindesten innerhalb der gesamten Wirbeltierklasse die gleiche Artunspezifität Geltung hat. Als nächste Notwendigkeit ergab sich hiernach, die niedereren Gruppen der Wirbeltierklasse und weiterhin auch die Klassen der Wirbellosen daraufhin zu untersuchen, ob auch bei ihnen ein gleiches Thelykinin Grundlage oder Mitbedingung der weiblichen Prägung bildet. Aber es konnte erlaubt erscheinen, in umfassenderer Fragestellung einmal zu prüfen, ob nicht vielleicht auch im Pflanzenreich die weibliche Prägung mit dem Vorhandensein einer Wirksubstanz von gleichen oder ähnlichen Wirkungsmerkmalen einhergehe.

Bei solchem Ausgangspunkt unserer Untersuchungen waren als erster und wichtigster Untersuchungsgegenstand die weiblichen Generationsorgane der Pflanze zu wählen, nachdem die weiblichen Sexualdrüsen der Säuger sich als ergiebige Fundstätten und zugleich als Erzeugerorgane der bisher bekannten Thelykinine erwiesen hatten. Als günstigster Zeitpunkt der Untersuchung solcher Organe erschien wenigstens für die ersten, der grundsätzlichen Beantwortung unserer Ausgangsfrage dienenden Untersuchungen die Periode regster Generationsstätigkeit der Pflanze.

Die erste Anregung zu unseren Untersuchungen ging von botanischer Seite (*Sp.*) aus. Der von *Loewe* und *Faure* gerade damals gelieferte Nachweis des Thelykinins im weiblichen Blute löste bei dem Botaniker die Frage aus, ob nicht auch für das Pflanzenreich ein humorales Kennzeichen der Geschlechtsprägung ausfindig gemacht werden könne. Die Beantwortung dieser Frage erschien, wofern sie zunächst auf ein humorales Merkmal der weiblichen Prägung eingeschränkt wurde, grundsätzlich möglich aus den Erfahrungen unserer tierphysiologischen Arbeitsgruppe heraus. Es brauchten nur die bei unseren Studien über das tierische Thelykinin ständig gehandhabten Methoden der Gewinnung und Erkennung auf pflanzliche Prüfungsobjekte übertragen zu werden. So ergab sich von selbst eine Arbeitsteilung, dahingehend, daß die botanische Erfahrung unserer Arbeitsgruppe (*Sp.*) der Ausfindigmachung geeigneter pflanzlicher Ausgangsstoffe und deren Beschaffung diente, während die Verarbeitung sowie die qualitative und quantitative Wirksamkeitsprüfung der hormonexperimentellen Erfahrung der übrigen Glieder unserer Arbeitsgruppe überlassen werden konnte.

Die Art unserer Grundfragestellung brachte es mit sich, daß ihre experimentelle Bearbeitung erst in einer *Blüteperiode* geeigneter Pflanzen

aufgenommen werden konnte. Dies geschah im Sommer 1925, der aus äußeren Gründen die Fortführung der Versuche über eine erste, grundsätzlich entscheidende Verarbeitungsreihe hinaus nicht mehr zuließ. Die Ergebnisse dieser ersten, mit vergleichsweise kleiner Menge an Ausgangsstoffen (s. weiter unten) durchgeführten Untersuchung waren dann mit reichlicheren Extraktmengen aus größerem Vorrat von Ausgangsstoffen zu bestätigen und zu mengenmäßiger Aussage zu ergänzen. Hierzu mußte die Blüteperiode des folgenden Jahres (1926) abgewartet werden. In ihr wurden (s. unten) mit dem ersten geeigneten Blütenmaterial unseres späten ostbaltischen Frühlings quantitative Gehaltsbestimmungen größeren Umfangs angeführt, die uns erst das Recht zu geben schienen, die im Vorjahre erfolgte Auffindung des pflanzlichen Thelykinins zur Bekanntgabe zu bringen. Der so in qualitativer und quantitativer Hinsicht in gewissem Umfang geschlossene Kreis von Beobachtungen wurde in einer vorläufigen Niederschrift (10. VI. 1926) festgelegt¹⁾. Beobachtungen, welche wir als Bestätigung und in mancher Hinsicht als Ergänzung der unserigen begrüßen, sind soeben von *M. Dohrn* und *W. Faure*, *H. Poll* und *W. Blotz*²⁾ mitgeteilt worden. In dieser Veröffentlichung, auf deren Inhalt weiter unten noch einzugehen sein wird, wird über die Gewinnung „weiblichen Tokokinins“, also der von uns als Thelykinin bezeichneten Wirksubstanz, aus einer ganzen Anzahl pflanzlicher Ausgangsstoffe berichtet. Die Berliner Untersuchungen sind nach den hier zu berichtenden begonnen und nach der Niederlegung unserer Ergebnisse dem Druck übergeben. Wir wollen indessen ausdrücklich bemerken, daß die auch von uns¹⁾ aufgeworfene, von den Berliner Bearbeitern des Themas in den Mittelpunkt gestellte Frage, ob nicht bei den Tokokininen bzw. Thelykininen ähnliche Verhältnisse vorliegen könnten, wie bei den Glucokininen, eine belangreiche Erweiterung des Fragenkreises bedeutet.

II. Versuchsanordnung und Methodik.

Die Suche nach geeigneten Ausgangsstoffen mußte ein doppeltes Ziel verfolgen: Pflanzen mit gut ausgebildetem und vergleichsweise leicht isolierbarem Fruchtknoten, die aber gleichzeitig auch in genügender Menge erreichbar und beschaffbar sein mußten. Wir mußten von der Überlegung ausgehen, daß, wenn unser leitender Gedankengang richtig war, in den Trägergeweben der „inkretorischen“ Thelykininerzeugung der Pflanze der Größenordnung nach ähnliche Thelykininmengen enthalten seien, wie in den thelykininreichsten Teilen des Eierstocks, also rund 1000 Mäuseeinheiten (M.-E.) je Kilogramm Feuchtsubstanz. Derartige Mengen finden sich in dem reifen Follikularapparat des tierischen Ovars. Dagegen verringert sich die Hormonkonzentration bereits bedeutend, wenn man das Gesamtovargewebe, sei es auch zur Zeit der Follikelreife analysiert. Bei der Undefiniertheit des hypothetischen Erzeugerapparats des Thelykinins in der Pflanze mußte auch bei Betrachtung sorgfältig isolierter Teile der Blüte mit einer entsprechenden Verdünnung des Hormongehalts gerechnet werden. So waren von vornherein erst bei Verwendung großer Gewichtsmengen von Blütenmaterial meßbare Hormonausbeuten zu erwarten.

¹⁾ *Anm. bei der Korrektur:* Inzwischen veröffentlicht in Akad. Anz. Nr. 19, Sitz.-Ber. d. Wiener Akad., math.-naturw. Kl. v. 21. X. 1926, S. 167.

²⁾ Med. Klinik 1926, S. 1437.

Wesentlich war im Sinne unserer ursprünglichen Fragestellung ferner, daß die erforderlichen größeren Blütenmengen ein ihrer Entwicklungsreife nach einheitliches Material bildeten; Pflanzen mit reichhaltigem Blütenstand, der gewöhnlich einen ungleichen Entwicklungsgrad der einzelnen Blüten mit sich bringt, konnten also nicht von vornherein als besonders geeignet gelten. Eine wesentliche Bedingung für die Beschaffung eines zu eindeutiger Beantwortung unserer Grundfrage geeigneten Materials war auch die *gleichzeitige* Beschaffbarkeit des Gesamtvorrats einer Verarbeitung. Denn es ist zwar für das tierische Thelykinin ein hoher Grad von Unempfindlichkeit gegenüber manchen, für andere Hormone als recht verhängnisvoll geltenden Eingriffen (Temperatur, chemische und fermentative Spaltung, Aufbewahrung und dergleichen mehr) dargetan. Indessen hat doch diese „Unverwüstlichkeit“ des tierischen Thelykinins ihre Grenzen und bei der in vieler Hinsicht reicheren Organisation und vielgestaltigeren Leistungsfähigkeit des Pflanzenchemismus mußte mit dem Vorhandensein von Zerstörungseinrichtungen im pflanzlichen Gewebe gerechnet werden, die noch wesentlich prompter arbeiten könnten als diejenigen Mechanismen, die erfahrungsgemäß bei ungeeigneter Aufbewahrung tierischer Ausgangsstoffe deren Thelykingehalt bedrohen.

Einer unserer Ausgangsstoffe, der erste in Prüfung gezogene, waren Fruchtknoten der Blüten von *Nuphar luteum*, der gelben Teichrose. Das für die Untersuchung erstrebte Gewebe ist hier nach Entfernung von Kelch-, Blumen-, Staubblättern und Staminodien durch einige Handgriffe mit dem Messer aus dem Fruchtknoten ausschälbar. Nachdem wir die Erfahrung gemacht hatten, daß eine für größere Untersuchungsreihen ausreichende Ausbeute dieses Ausgangsmaterials doch nur mit einem nicht in unserer Reichweite liegenden Aufgebot an Sammeltätigkeit beschafft werden könne, gingen wir dann zu einem weiteren Ausgangsstoff, den Blüten der Saalweide, *Salix caprea*, über. Diese *diözische* Pflanze bot die Möglichkeit, rein weibliches Blütenmaterial ohne Beimengung männlicher generativer Apparate zu erhalten. Doch war dies nur insofern von Einfluß auf unsere Wahl, als man vielleicht in den ausschließlich weiblich geprägten Gesamtorganen der Blüte eine vergleichsweise höhere Konzentration des Thelykinins erwarten konnte. Konnte etwa noch ein weiblicher Baum ausfindig gemacht werden, dessen Standort die Bestäubung besonders schwierig machte, so gerieten möglicherweise zur Zeit der vollen Blüte besonders wenige bereits befruchtete Blüten mit in die Ernte, bei denen der Thelykingehalt etwa schon wieder in Abnahme sein konnte. Wir konnten uns einen derartigen Baum zugänglich machen und unmittelbar nach der Fällung „ab-ernten“ und erhielten so die beachtliche Ausbeute von fast 7 kg Kätzchen. Eine gewisse Trennung einzelner Blütenteile dieser Weidenkätzchen erwies sich weiterhin als möglich. Von den massigen, holzigen Blütenstandachsen konnten nach dem Trocknen der ganzen Kätzchen durch Abbürsten die Stempel nebst Deckblättern („Gesamtblüten“) abgetrennt werden. Und auch von diesem Material konnten dann wieder die Narben isoliert werden. Beim Schütteln der trocknen Blüten über einem Siebboden geeigneter Maschenweite fallen nämlich gerade nur die getrockneten schwärzlichen, mohnsamenähnlichen Narben durch, die leicht vom Griffel abbrechen.

Für Gegenversuche wären wohl am zweckmäßigsten rein männliche Blüten bzw. überhaupt Organe männlicher Exemplare einer diözischen Pflanze. Wir mußten deren Bearbeitung aus äußeren Gründen aufschieben

und möchten sie uns für die kommende Blüteperiode vorbehalten. Nachdem überhaupt erst einmal mengenmäßige Einblicke in die Verhältnisse des Thelykingehalts der Pflanze gewonnen waren, ergaben sich auf dem Gebiete derartiger ergänzenden Untersuchungen naturgemäß Einzelfragestellungen in großer Fülle. Auch deren Bearbeitung konnte noch nicht Gegenstand dieser ersten Untersuchungsreihen werden. Wir begnügten uns vorläufig damit, zwei Beispiele aus dem Aufgabenbereich der Gegenversuche zu bearbeiten: Das erste waren die *Stengel* der hinreichend bequem zugänglichen Krautpflanze *Impatiens parviflora*, kleinblütiges Springkraut, also saftreiches, rein vegetatives Gewebe einer monoklinischen Pflanze. Bei der geringen Trockensubstanzmenge solcher saftreichen Organe mußte auf die Leichtbeschaffbarkeit größerer Mengen der frischen Substanz Gewicht gelegt werden. Das leitete uns bei der Wahl dieses Objekts. Als zweites Beispiel wurde ein von den Blüten befreites *Krautmaterial* gewählt, bestehend aus Stengeln und Blättern von *Althaea rosea*, der Stockrose.

Die Verarbeitung aller dieser frisch geernteten pflanzlichen Ausgangsstoffe erfolgte in weitgehender Anlehnung an die Erfahrungen bei der Isolierung des Thelykinins aus tierischem Ausgangsstoff. Die Inangriffnahme konnte in doppelter Weise erfolgen: Entweder wurde die frisch geerntete Pflanzenmasse (Feuchtsubstanz) unmittelbar in ein geeignetes organisches Extraktionsmittel eingetragen (Feuchtverarbeitung) oder die Pflanzengewebe wurden zuerst vorgetrocknet und dann extrahiert (Trockenverarbeitung). Beide Verarbeitungsarten wurden benutzt. Zur Feuchtverarbeitung dienten entweder Äthyl- oder Methylalkohol. Bei der Trockenbearbeitung wurde die Trocknung selbst in einem großen, durch einen Ventilator durchlüfteten Wärmeschrank bei etwa 50° C vorgenommen; dabei waren die Pflanzenmassen, unter Umständen in zerkleinertem Zustande, in möglichst dünner Schicht auf Drahtnetzen ausgebreitet, Stengel, Kraut und die großen Nupharfruchtknoten zerschnitten, die Weidenkätzchen zerzupft. Das Trockenmaterial wurde dann in Soxhletapparaten mit Äther ausgezogen; je nach der zu bearbeitenden Masse wurde entweder eine Anzahl größerer, mehrere 100 g fassender Glasapparate oder ein kupferner, 5 kg fassender, innen sorgfältig versilberter Extraktionsapparat verwendet.

Bei der Verarbeitung pflanzlicher Ausgangsstoffe mit organischen Extraktionsmitteln, einerlei, ob mit Wasser mischbare oder nicht mischbare verwendet wurden, war von vornherein auf eine viel größere Ausbeute an Ballaststoffen zu rechnen als bei entsprechender Verarbeitung tierischer Organe. Die größere Vielgestaltigkeit der in organischen Lösungsmitteln löslichen Pflanzenstoffe brachte die Gefahr toxischer Beimengungen von Terpen-, Alkaloid- o. a. Natur mit sich. Aber auch abgesehen von diesen besonderen Gefahren war die größere Massenbelastung mit rein volumenmäßig störenden Ballaststoffen in Rechnung zu ziehen. Es war also wünschenswert, das Volumen der mit dem ersten Extraktionsmittel gewonnenen Rohextraktausbeuten durch weitere Fraktionierungsmaßnahmen zu verringern. Auch dies geschah in Anlehnung an die Verarbeitungsweise tierischen Materials. Wechselweise Lösung und Fällung mit den verschiedensten organischen Lösungsmitteln führte dabei bisher zu einem gewissen Erfolg. An der Durcharbeitung dieser Fraktionierungsmaßnahmen arbeiten wir augenblicklich weiter; es sei hier nur erwähnt, daß sowohl Aceton- wie auch Methylalkoholbehandlung dabei wesentliche Dienste leisten.

So wurden mehr oder weniger fraktionierte, aber naturgemäß immer noch recht rohe Extrakte gewonnen. Ihre Lösungen in den organischen Lösungsmitteln wurden gut entwässert, dann das Lösungsmittel verjagt und der Extraktionsrückstand in passendem Volumen Olivenöl gelöst zur subkutanen Injektion an die Testtiere verwendet.

Zur biologischen Wirksamkeitsprüfung solcher Extrakte stehen bekanntlich verschiedene Wirkungsmerkmale des Thelykinins zur Verfügung: 1. Die älteste Wirkung tierischer Ovarialextrakte, die Wachstumswirkung auf den Uterus a) erwachsener, b) (zweckmäßiger) präpuberaler, c) (noch zweckmäßiger und eindeutiger) kastrierter weiblicher Tiere. 2. Die im histologischen Schnitt zu verfolgende Wachstumswirkung auf die Vaginalschleimhaut des Nagers. 3. Die Wachstums- und Funktionsförderung an der Zitze männlicher Tiere. 4. Die in allerjüngster Zeit von *Blotvogel* und *Poll* beschriebene Erhöhung der Zahl chromfärbbarer Zellen im Ganglion uterinum kastrierter Weibchen. 5. Die beschleunigende Wirkung einer Thelykiningabe auf den Eintritt der ersten puberalen Follikelreifung an unreifen Tieren (*R. T. Frank*). 6. Die „antimaskuline“ Wirkung des Thelykinins am Hoden des Kaninchens (*Laqueur* u. a.). 7. Ihnen allen ist nach Handlichkeit, Schnelligkeit der Entscheidung, Sparsamkeit des Tierverbrauchs oder Spezifität überlegen das klassische, von *Allen* und *Doisy* c. s. beschriebene Wirkungsmerkmal, die Veränderung der Zellqualität des Scheidenabstrichs bei den zu vaginalen Brunsterscheinungen befähigten Nagerweibchen.

Wir benutzen seit langem für die verschiedensten Fragestellungen, die mit dem tierischen Thelykinin zusammenhängen, eine besondere Ausarbeitung des Prinzips der Scheidenabstrichuntersuchung beim Nager, die wir als *Zählverfahren* bezeichnet haben. Sie erlaubt, die brunstkennzeichnenden Veränderungen der Zellzusammensetzung des Scheideninhalts zahlenmäßig zu erfassen, und liefert so von vornherein objektivere und schärfere Aussagen; solche sind in allen den Fällen wichtig, in welchen mengenmäßige Auskunft über den Zustand einer Testvagina und unter Umständen daran anknüpfend über den Hormongehalt einer Prüfungszubereitung und deren Wirkungsstärke erstrebt wird. Die zahlenmäßige Fassung der Ergebnisse einer Abstrichuntersuchung, die durch das Zählverfahren ermöglicht ist, erlaubt gleichzeitig eine übersichtliche, einer objektiven Kontrolle zugängliche graphische Darstellung der Ergebnisse jeder einzelnen Beobachtungsreihe in Gestalt der „*Brunstkurven*“ eines jeden, über eine gewisse Zeit hin in regelmäßigen Scheidenabstrichen kontrollierten Versuchstieres. Da diese Brunstkurven alle Einzelheiten umfassen, so ersparen sie gesonderte Wiedergabe der Versuchsprotokolle. Jeder einzelne Zähltag einer solchen Brunstkurve umfaßt die im jeweiligen Scheidenabstrich ausgezählten Prozentwerte der wichtigsten Zellarten. Vielfach geben wir in den Zählkurven drei Schaulinien wieder, diejenige der Prozentwerte der hauptsächlich brunstkennzeichnenden kernlosen Schuppen (*S*), eine zweite der kernhaltigen Epithelien (*E*) und eine dritte für die Gesamtsumme der übrigen Scheideninhaltszellen (weiße Blutzellen, „*Leucocyten*“, *W*); nicht selten beschränken wir uns in den folgenden graphischen Befundsberichten auf eine einzelne Schaulinie, diejenige der Schuppen (*S*). Bei dem vorliegenden Prüfungszweck kam ausschließlich die Auswertung der Thelykininwirksamkeit an kastrierten Tieren (Mäusen) in Betracht, bei denen ohne Thelykinindarreichung eine Erhebung der Kurven der brunstkennzeichnenden Zellarten über sehr niedrige Prozentwerte ausgeschlossen ist. Als Sicherstellung

gegen Zufälle bei der Bestimmung der Zellrelation in Prozentwerten haben wir uns angewöhnt, mit Hilfe eines anderwärts¹⁾ beschriebenen Verfahrens der „Trockenzählkammer“ die absolute Zahl der Vertreter jeder erfragten Zellart auf der Flächeneinheit des Abstrichs (die „Zellkonzentration“) zu ermitteln und durch Zahlenangaben unter der Prozentkurve oder durch besondere Schaulinien zum Ausdruck zu bringen.

Die so in Erscheinung tretenden Veränderungen des Abstrichzellbildes erzeugten wir für die vorliegende Prüfung von Pflanzenextrakten durchgehend durch subkutane Einspritzung von deren Öllösungen. Der von uns früher²⁾ untersuchte „Volumenfehler“ wurde dabei nach Möglichkeit beachtet³⁾.

Für die zahlenmäßige Formulierung des Versuchsausfalls legten wir die gleichfalls früher⁴⁾ von uns normierte Mäuseeinheit zugrunde. Doch wollen wir gleich vorwegnehmend erwähnen, daß nicht nur unsere, sondern auch jegliche andersartig normierte Messung in Mäuseeinheiten auf eine allgemeine Schwierigkeit stoßen kann, die gerade bei der Prüfung der vorliegenden Pflanzenextrakte zum ersten Male in augenfälliger Weise verwirklicht gefunden wurde. Nach der Einverleibung tierischer Thelykininzubereitungen erhebt sich die Brunstkurve der kastrierten Maus innerhalb der ersten fünf auf die Einspritzung folgenden Beobachtungstage zu dem kennzeichnenden und der Messung des Ergebnisses zugrunde zu legenden „Schuppengipfel“, um nach dieser Beobachtungsperiode bereits wieder die niedrigen diöstralen Werte anzunehmen. Wird indessen das Thelykinin aus einer Injektionszubereitung ungewöhnlich langsam resorbiert, so kann nicht nur der Schuppengipfel dadurch unverhältnismäßig niedrig gestaltet werden, es kann auch die höchste Erhebung dadurch bedeutend über den dritten, ja sogar den fünften Tag hinaus verzögert eintreten. Die — durch unsere eigenen Untersuchungen erwiesene — Ausscheidung im Harn und die — bisher freilich nicht so deutlich nachgewiesene, aber sehr wahrscheinliche — Ablenkung und Zerstörung des Hormons im Organismus verringern nun bei längerer Umlaufzeit den zur Wirkung gelangenden Anteil einer gegebenen Dosis der Wirksubstanz in ganz anderem Maße als bei den regelrechten kurzfristigen Wirkungsabläufen. Eine länger hingestreckte flachere Brunstkurve kann daher nur mit Hilfe von noch unbekanntem Umrechnungsfaktoren zu Rückschlüssen auf den Gehalt an Wirksubstanz verwertet werden. Alle Schlüsse aus solchen regelwidrigen Brunstzacken, denen einfach wie in Normalversuchen das Höchstmaß des erreichten Schuppengipfels zugrunde gelegt wird, liefern zu niedrige Werte.

III. Der Thelykingehalt des generativen Apparats („Gesamtblüte“).

Als Ausgangsstoff wurden frisch geerntete Kätzchen einer weiblichen *Salix caprea* verwendet. Sie wurden vom Ast gepflückt, getrocknet und dann durch Bürsten auf einem Siebe die Blüten von der Blütenstand-

1) X. Mitteilung, *Loewe und Lange*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med., im Druck.

2) *Loewe und Lange*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 51, 284, 1926.

3) Seine Umgehung mit Hilfe des von uns (Deutsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 31) beschriebenen Sammelgläschens ist hier vorläufig allerdings nicht möglich, weil die Ballastmenge zu groß ist.

4) Deutsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 14.

achse getrennt. Durch Ätherextraktion im Soxhletapparat wurde ein Rohauszug gewonnen; von seiner Lösung in Olivenöl entsprach je 1 ccm 50 g des frischen Ausgangsmaterials (bezeichnet: Extrakt Nr. 803).

Die Abb. 1 bis 3 geben Beispiele der Wirkung steigender Dosen dieses Extrakts. Schon in einer Menge von 0,1 ccm entsprechend 5 g Feuchtschubstanz (Abb. 1) wird ein Brunstgipfel von 92 Proz. Schuppen erreicht,

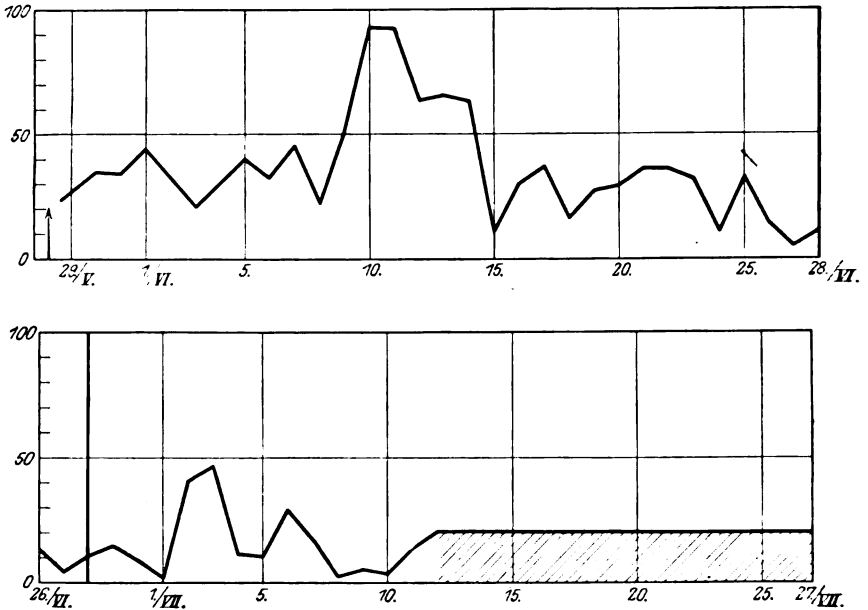


Abb. 1.

Schuppenkurve von Maus A. Am Vortage vor Beginn der Kurve 0,1 ccm von Präparat 803 (Salix caprea, Extrakt aus „Gesamtblüten“).

0,5 ccm entsprechend 25 g Feuchtblüten (Abb. 2) wecken eine fünftägige Dauerbrunst von 100 Proz. Schuppen, 1,0 ccm entsprechend 50 g frischer Blüten (Abb. 3) wecken eine zweigipflige Vollbrunst vom 5. bis 12. Beobachtungstage. Diese Menge dürfte der tödlichen Grenzdosierung des Rohextrakts recht nahe liegen; denn mag es auch fraglich erscheinen, ob der Tod dieses Tieres am 21. Tage nach der Einspritzung noch auf Wirken giftiger Begleitstoffe zurückzuführen ist, so ist doch ein anderes Versuchstier nach der gleichen Gabe bereits innerhalb des ersten Beobachtungstages eingegangen.

Der Ausfall der drei abgebildeten Versuche entspricht in großen Zügen jeweils der verabreichten Dosis: 1. Zunächst der *Intensität* nach, denn die Schuppengipfel der beiden ersten Versuche (Abb. 1 und 2) entsprechen ungefähr unseren sonstigen Erfahrungen; protrahierte Vollbrunstgänge von der Art der hier beobachteten werden nicht selten als Erfolg der ungefähr fünffachen Vollbrunstgrenzdosis beobachtet. Daß der dritte Versuch ein etwas anderes Schaulinienbild darbietet, kann mindestens teilweise aus dem „Volumenfehler“ erklärt werden, den das hier entscheidend größere Injektionsvolumen bedingen mußte. 2. Aber auch die *Zeit*, die bis zur Ent-

faltung der Wirkung verstreicht, läßt sich in gewissem Umfang in Beziehung zur Höhe der Thelykinidosis setzen. So erreichen Tier B und C mit 0,5 bzw. 1,0 ccm bereits früher hohe bzw. maximale Schuppenwerte als A mit 0,1 ccm.

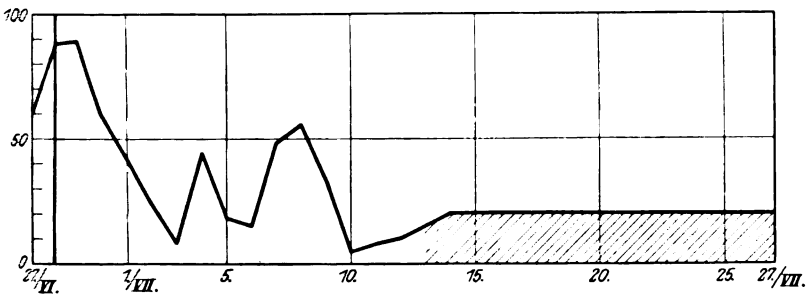
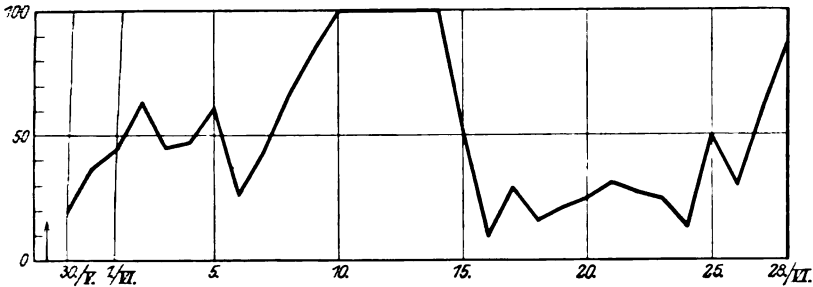


Abb. 2.

Schuppenkurve von Maus B. Am Vortage 0,5 ccm von Präparat 803.

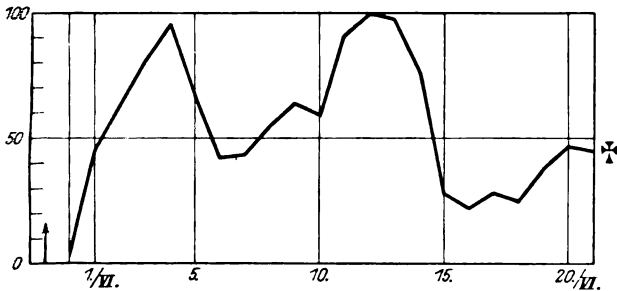


Abb. 3.

Schuppenkurve von Maus C. Am Vortage 1,0 ccm von Präparat 803.

Wir müssen hier erwähnen, daß die Zusammenstellung dieser Versuche für die kurze Erstmitteilung¹⁾ nach Ablauf einer Beobachtung über etwa 7 Tage abgeschlossen wurde. Wir waren dazu berechtigt nach den Er-

¹⁾ Wiener Akad. d. Wissensch., I. c. S. 3.

fahrungen mit Thelykininzubereitungen tierischer Herkunft, bei denen nach solcher Beobachtungszeit das Ergebnis eindeutig vorliegt. So kommt es, daß wir damals wesentlich geringere Schuppengipfelwerte anführten; aber auch diese standen, wie die vorliegenden Abbildungen zeigen, in offenkundiger Beziehung zur angewandten Prüfungsdosis: Bei A in den ersten 7 Tagen nach 0,1 ccm eine zahlenmäßig noch nicht verwendbare Schuppenerhebung (stets unter 50 Proz. bleibend), die gerade eben als qualitative Andeutung einer gewissen Thelykininwirksamkeit genommen werden durfte, bei B auf die fünffache Menge schon am vierten Beobachtungstage ein Schuppenwert von 63 Proz., bei C auf die zehnfache Menge schon am dritten Beobachtungstage 63 Proz., am vierten bereits 80 und am fünften 95 Proz. Schuppen.

Auch in den Spätreaktionen, auf die gesondert eingegangen werden wird (s. Abschnitt VI, S. 19 ff.), läßt sich die Abhängigkeit von der Dosis erkennen.

Berücksichtigt man ausschließlich die erreichten Höchstausschläge der Schuppenbeteiligung bei der Berechnung des Thelykiningehalts in dem geprüften Blütenmaterial, so sind ihm nach Versuch 3 (Abb. 3) weit über 20 M.-E. je Kilogramm Feuchtblüten zuzusprechen, nach Versuch 2 (Abb. 2) präzisiert sich diese Angabe auf etwa $(5 \times 1) \times 40 = 200$ M.-E. und nach Versuch 1 (Abb. 1) auf rund $20 \times 1 = 200$ M.-E. je Kilogramm. Doch muß entsprechend den Ausführungen der Einleitung angesichts des protrahierten Verlaufs der Brunstentfaltung — auch ganz abgesehen von den Spätreaktionen — darauf hingewiesen werden, daß hier wie im folgenden bei allen derartigen Angaben zweifellos noch ein bedeutender Zuschlag gemacht werden muß, ehe man dem wahren Thelykiningehalt der Prüfungspräparate nahekommt.

In gleicher Richtung deutet auch ein Versuch mit einem anderen Extrakt aus Weidenblüten, der aus mehrererlei Gründen hier angefügt sei. Auch hier wurde ein im wesentlichen gleichartig hergestellter Auszug aus dem gleichen Trockenblütenausgangsvorrat wie zuvor benutzt. Dieses Präparat Nr. 805 unterschied sich von dem vorigen nur in zwei Richtungen: Das gleichfalls von den Blütenstandachsen befreite trockene Gesamtblütenmaterial war nicht wie bei der Herstellung von Nr. 803 unmittelbar nach dem Trocknen in Verarbeitung genommen, sondern hatte inzwischen etwa 2 Wochen offen gelagert; und ferner war der Ätherextrakt noch einer Reinigung mit Aceton unterzogen worden.

0,2 ccm dieses Öles Nr. 805 entsprechend etwa 5 g Trockenblüte bzw. etwa 20 bis 25 g frischer Blüte riefen nun, wie Abb. 4 zeigt, einen vollen Brunstgang hervor. Mit seinem zweitägigen Schuppengipfel von 100 bzw. 95 Proz. übertrifft er den der Abb. 1 mit 2×92 Proz. sogar ein wenig an Intensität. Er tritt auch nicht später in Erscheinung als jener, nur ist der Zweitagesgipfel steiler herausgehoben und nicht durch vorausgehende kleinere Schuppenerhebungen eingeleitet noch auch von so langsamem Dekrement wie der Hauptgipfel der Abb. 1. Rechnerisch würde nach unserer früher mitgeteilten Eichungskurve¹⁾ hier die Dosis von 0,2 ccm des Präparats Nr. 805 mit 1,2 M.-E., dort die Dosis von 0,1 ccm von Nr. 803 mit etwa 0,92 M.-E. zu veranschlagen sein. Den Wassergehalt der frischen Blüten in beiden Fällen mit 80 Proz. angesetzt, ergäben sich nach

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 14; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 51, 302, 1926.

Präparat Nr. 803, Versuch A je Kilogramm Feuchtblüten 184 M.-E., nach Präparat Nr. 805 je Kilogramm 48 M.-E. Es ist uns nicht zweifelhaft, daß unter den verschiedenen Möglichkeiten, diese Abweichung der Auswertungsergebnisse zu erklären, auch hier wiederum dem verzögerten, protrahierten Wirkungsablauf viel Gewicht beizulegen ist. Dieser Umstand erschwert es sehr, den Schuppenhöchstwert allein zu Rückschlüssen auf den Hormon-

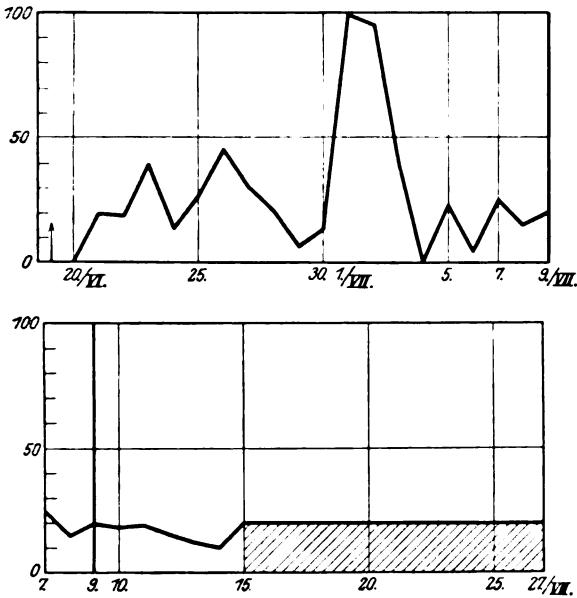


Abb. 4.

Schuppenkurve von Maus H. Am Vortage 0,2 ccm von Präparat 805 (älterer Extrakt aus Salix-Blüten).

gehalt zu verwerfen. Von anderen Erklärungsmöglichkeiten darf im vorliegenden Falle freilich eine tatsächliche Wirkungsabnahme infolge der Lagerung nicht außer acht gelassen werden; es wird sich weiter unten (S. 22) zeigen, daß sie jedenfalls eher in Betracht zu ziehen ist als ein etwaiger Thelykininverlust bei der Fraktionierung mit Aceton.

Auf jeden Fall zeigen alle Versuche dieser Reihe für Gesamtblüten einen Thelykingehalt von mindestens 50 bis 200 M.-E. je Kilogramm feuchter Blüten auf, der sich bei Auffindung des Umrechnungsfaktors zur Einbeziehung der ungewöhnlich langen Gesamtwirkungszeit wohl noch bedeutend erhöhen dürfte.

IV. Thelykingehalt vegetativer Pflanzenteile.

a) Kraut.

Zum Vergleich mit den im vorstehenden Abschnitt untersuchten, auch bei vorsichtigster Verwertung der Befunde beachtlich thelykininhalten generativen Pflanzenteilen wurde zunächst das gesamte Kraut,

und zwar der Stockrose, *Althaea rosea*, nach Entfernung der Blüten, also Stengel und Blätter herangezogen. Auch hier wurde frisch geerntetes, schnell zerkleinertes und getrocknetes Material mit Äther im Soxhlet extrahiert. Der Rohextrakt (Nr. 820) erwies sich als so giftig für die Maus (schon 0,2 ccm Olivenöllösung entsprechend etwa 100 g frischen Krautes tödlich), daß seine Prüfung undurchführbar war. Erst mit einem Präparat, das durch Fraktionierung des Ätherextrakts mit Methylalkohol gereinigt war (Nr. 821), gelang die Auswertung. Noch mit 0,5 ccm der Öllösung entsprechend etwa 300 g frischen Krautes wurde keine eindeutige Brunsterhebung erzielt, 1 kg Feuchsubstanz solchen Krautes enthält also noch entfernt nicht 1 M.-E. *Thelykinin*.

b) Saftreiche Stengel.

Ein zweites Vergleichsobjekt vegetativer Pflanzenteile lieferten die saftigen Stengel von *Impatiens parviflora*, dem kleinblütigen Springkraut. Von ihnen wurden sowohl Auszüge mit Alkohol aus dem frischen feuchten Ausgangsstoff (Präparat Nr. 811) als auch Äther-Soxhletauszüge aus schnell zerkleinertem und getrocknetem Material untersucht (Präparat Nr. 812).

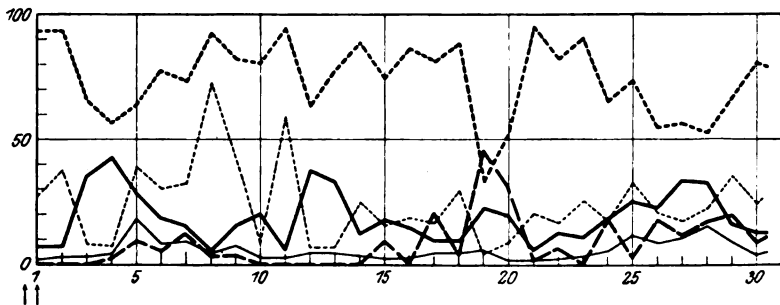


Abb. 5.

Abstrichzählkurve von Maus L. Am Vortage in zwei Einspritzungen zusammen 1,0 ccm von Präparat 811 (*Impatiens parviflora*, Stengel).

- = Proz. S.
- - - = Proz. E.
- = Proz. W.
- · - · = Schuppenzahl je Gesichtsfeld.
- = Restzellenzahl (W) je Gesichtsfeld.

Von dem Ätherextrakt Nr. 812 entsprach 1 ccm der Öllösung etwa 400 g frischer *Impatiens*stengel, von dem Alkoholpräparat Nr. 811 1 ccm sogar 1500 g frischer Stengel. Von keinem der beiden Präparate erzielten Mengen bis zu 1 ccm rechnerisch verwertbare Brunsterhebung, es enthalten also nach dieser Auswertung 400, ja sogar noch 1500 g frischer Stengel weit unter 1 M.-E.

Eine leichte, und zwar ebenfalls protrahierte Schuppenvermehrung ist freilich dem Versuch mit dem gehaltreicheren Öl Nr. 811 (vgl. Abb. 5) nicht abzuspüren. Dies ist darum erwähnenswert, weil die hier untersuchten Stengel ebenso wie das zuvor besprochene Malvenkraut blühenden Pflanzen entstammte.

V. Versuche zur Ermittlung der Verteilung des Thelykingehalts innerhalb der Generationsorgane.

a) Fruchtknoten.

Nur kurz sei hier die Untersuchung der Fruchtknoten von *Nuphar luteum* erwähnt, welche den Ausgangspunkt unserer gesamten Untersuchungen bildeten. Ihr Ergebnis, das in qualitativer Aussage die Grundfrage eindeutig bejahend entschied, ist für die hier aufgeworfene Frage nach dem *mengenmäßigen* Gehalt der Samenanlage im Vergleich zu anderen Teilen der Blüte aus doppeltem Grunde unzureichend: Einmal erfolgte die Untersuchung dieses Materials im Frühsommer 1925, zu einer Zeit, in welcher wir das noch in Ausarbeitung befindliche Zählverfahren noch nicht auf alle Prüfungszubereitungen anwandten. Ferner aber war vor allem auch die Menge an Blütenmaterial zu gering, als daß eine eingehendere Auswertung, die ja auch ohne Heranziehung der Zählmethode nach dem Schätzungsverfahren von *Allen* und *Doisy* u. a. gewisse Ergebnisse zeitigt, hätte vorgenommen werden können.

Von der roh isolierten Samenanlage (s. S. 4) wurde nach Zerschneiden und Trocknen ein Ätherextrakt angefertigt, von dessen Öllösung (Nr. 527) 1 ccm etwa 30 g frischer Samenanlage entsprach. 1 ccm hiervon (zu einer Wiederholung mit größerer Menge reichte die *Nuphar*blütenernte nicht aus) erzeugte einen deutlichen Brunstgang, dessen östraler Anteil aber durchaus unvollkommen blieb (dieses Ergebnis ist rückblickend in der Ausdruckweise der Zählmethode wohl auf $> 50 < 80$ Proz. Schuppen zu schätzen). In unverbindlicher Schätzung käme somit der Samenanlage von *Nuphar luteum* ein Thelykingehalt von $> 12 (< 20 ?)$ M.-E. je Kilogramm Feuchtsubstanz zu. Dieses Ergebnis ist noch vorsichtiger zu bewerten und läßt die Möglichkeit eines weit höheren Thelykingehalts deswegen zu, weil die Verarbeitung damals merklich langsamer vorging als bei den späteren Untersuchungen.

b) Narbe.

Ein Zufall ermöglichte es, in vergleichsweise großer Menge und ohne viel Beimengungen anderer pflanzlicher Gewebe ein Pflanzenorgan zur Untersuchung zu bekommen, das zwar zum weiblichen generativen Apparat der Pflanze gehört, aber doch den Leistungen der Samenbildung und Fruchtentwicklung fernsteht. Es war dies die Narbe der von uns in größerer Menge beschafften weiblichen Weidenblüten. Dieses „Kopulationsorgan“ bricht (s. S. 4) nach dem Trocknen der Blüten leicht vom Griffel ab und kann dann dank seiner glatten Oberfläche und seiner spezifischen Schwere ziemlich leicht von den behaarten Restmassen der Blüten, welche die Maschen nicht leicht passieren, abgeseibt werden. Wir erhielten so durch Schütteln der trockenen Weidenblüten etwa 120 g Narbentrockensubstanz, die nach oberflächlicher Schätzung etwa die Hälfte des ganzen Narbenbestandes von 5 kg frischer Gesamtblüten (einschließlich Blütenstandachse) darstellt. Nur in geringer Menge waren dieser Narbenausbeute Splitter der Deckblätter und dergleichen beigemischt.

Ursprünglich wurde diese abgeseibte Masse feinsten bräunlicher Körnchen — in Abwesenheit unseres botanischen Mitarbeiters — für einen Teil des Fruchtknotens gehalten und ohne mikroskopische Kontrolle als solcher in Verarbeitung genommen. Dieser Umstand und ein damit zusammenhängender Irrtum der Gehaltsberechnung ließen uns in unserer Erstanzeige der Ergebnisse¹⁾ unzutreffende Angaben über die Verteilung des Thelykinins innerhalb der Blüte machen. Nach der Richtigstellung der Organzugehörigkeit des vermeintlichen „Fruchtknoten“-Materials ergibt sich, wie aus dem folgenden hervorgehen wird, eine wesentlich einklangreichere Beziehung des Thelykingehalts der verschiedenen Teilorgane der Pflanze.

Aus dem getrockneten Narbenpulver wurde ein Soxlethauszug mit Äther hergestellt. Er gab eine Öllösung, von der 1 ccm 13 g Narbentrockensubstanz, das sind etwa 50 bis 65 g Narbenfeuchtsubstanz, bzw. dem Narbenanteil von schätzungsweise 500 g frischer Blüten entsprach.

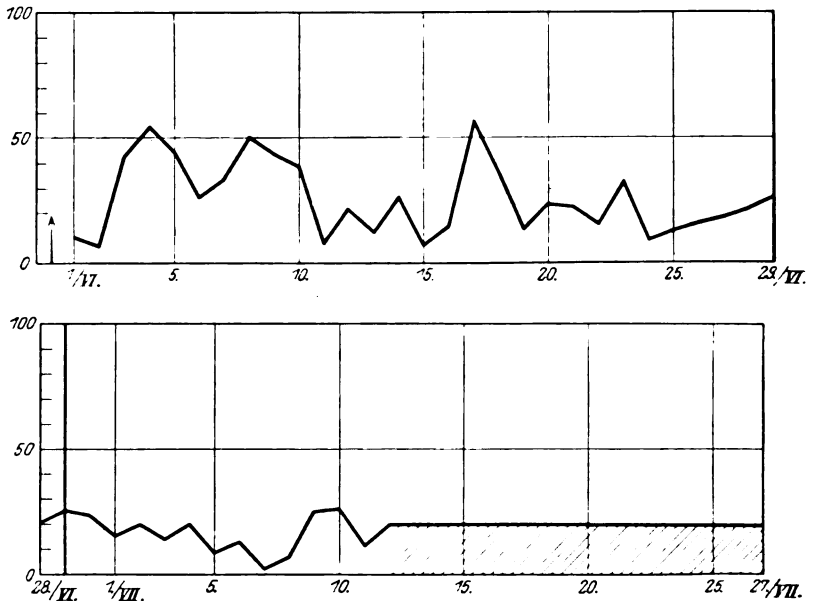


Abb. 6.

Schuppenkurve von Maus D. Am Vortage 1,0 cmm von Präparat 804
(*Salix caprea*, Narbe).

In Abb. 6 und 7 wird das Ergebnis aus zwei Versuchsbeispielen nach der Injektion dieses Öles 804 in Brunstkurvenform wiedergegeben. Die beiden dort zur Anwendung gekommenen Dosen stellen den Extraktanteil einer recht ansehnlichen Menge von Trockensubstanz dar, ver-

¹⁾ l. c. S. 3.

glichen etwa mit der kleinen Blütenfeuchtsubstanzmenge, die in dem Versuch der Abb. 1 (S. 8) bereits volle Wirkung entfaltetete. Dem ersten der beiden Versuche (Maus D, Abb. 6, 1 ccm Öl 804) mit dem Extrakt aus 13 g Narbentrockensubstanz, entsprechend etwa 50 bis 65 g frischer Narben, und dem zweiten Versuch (Maus X, Abb. 7, 1,5 ccm

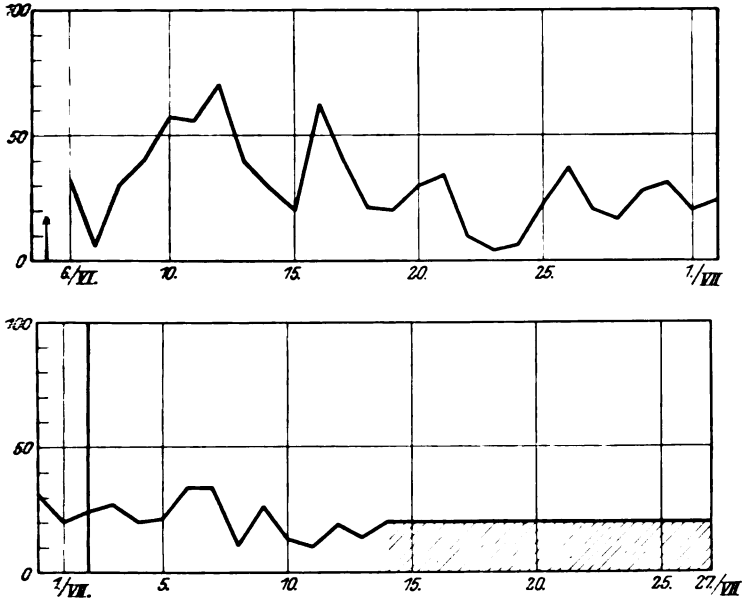


Abb. 7.

Schuppenkurve von Maus X. Am Vortage 1,5 ccm von Präparat 804.

Öl 804) mit etwa 20 g Narbentrockensubstanz, entsprechend 80 bis 100 g frischer Narbenfeuchtsubstanz, stehen in jenem Versuch mit Gesamtblüten 5 g Feuchtsubstanz entsprechend nur rund 1 g Trockensubstanz gegenüber. Trotzdem sind in den vorliegenden Versuchen nur sehr unvollkommene Brunsterfolge erzielt worden. Wir geben sie vor allem deswegen in Kurvenform wieder, weil die graphische Darstellung den wenn auch unvollkommenen, so doch offenkundigen Effekt deutlich vor Augen führt und ferner zeigt, daß einmal der protrahierte Wirkungsablauf nach der Behandlung mit den vorliegenden Pflanzenthelykininen sich auch bei dieser Zubereitung aus Narben wiederfindet, und daß ferner die Beziehung zwischen Wirkungsstärke und Dosis auch bei diesen unvollkommenen Brunstausfällen zutage tritt. Der Schuppungsgipfel erreicht im ersten Versuch einen Höchstwert von 54 Proz. nach Verabreichung von 1 ccm, im zweiten Versuch einen Höchstwert von 70 Proz. nach 1,5 ccm. Es sei hinzugefügt, daß

in weiteren Versuchen auch 2 ccm entsprechend 26 g Narbentrocken-
substanz bzw. 105 bis 130 g frischer Narben nur 76 Proz. Schuppen-
höchsterhebung hervorriefen, wobei freilich der „Volumenfehler“
dieser großen Injektionsmasse die geringe Steigerung der Wirksamkeit
trotz beachtlichen Dosenzuwachses erklären mag. Unter Zugrunde-
legung der früher ermittelten Eichungskurve würde das einem Gehalt
des Injektionsvolumens von 0,68 bzw. 0,80 bzw. 0,83 M.-E. entsprechen.
*Demnach entfallen auf 1 kg Narbenfeuchtsbstanz nur 8 bis 14, im Mittel-
wert 11 M.-E.; wenn man gar annehmen wollte, daß die Narbe der
einzige Thelykininträger der ganzen Blüte wäre, so würde sich für
1000 g Blütenfeuchtsbstanz ein Thelykingehalt von knapp 1 M.-E.
ergeben. Auf jeden Fall enthält also die Narbensbstanz ganz verschwindend
wenig Thelykinin. verglichen mit der Gesamtblüte, in welcher also das
Thelykinin zweifellos in einem anderen Teilorgan lokalisiert ist.*

VI. Versuchsergebnisse.

Als ausreichend gesichertes Ergebnis darf man den vorstehenden
Versuchen zunächst die *qualitative* Feststellung entnehmen, daß in
der Pflanze Stoffe enthalten sind, welche die vaginale Brunst bei der
kastrierten Mäusin wiedererwecken können. Da diese unbekannt
brunsterzeugenden Wirksubstanzen der Pflanze somit das kenn-
zeichnendste und spezifischste Wirkungsmerkmal der Thelykinine
des weiblichen Tierkörpers besitzen, ist es erlaubt, auch sie gemäß
den Nomenklaturvorschlägen *Loewes*¹⁾ als Thelykinine zu bezeichnen —
vorläufig jedenfalls mit der gleichen Berechtigung, mit der pflanz-
liche Depressoren des Blutzuckerspiegels mit dem tierischen Insulin
in einer gemeinsamen Gruppe der „Glucokinine“ vereinigt werden.

Der Pflanzenorganismus birgt also ebenfalls Thelykinine. Qualitativ
waren sie in jeder der von uns untersuchten Pflanzen nachweisbar,
in *Salix caprea*, *Nuphar luteum*, *Althaea rosea* und *Impatiens par-
viflora*, also Vertretern recht verschiedener Familien.

Hiernach ist eine große Verbreitung der Thelykinine im Pflanzen-
reich anzunehmen. Wir dürfen eine Bestätigung hierfür in den in-
zwischen mitgeteilten Beobachtungen von *M. Dohrn* und *W. Faure*²⁾
sehen, welche den von uns untersuchten noch eine beträchtliche Zahl
weiterer Pflanzen als Thelykininträger anreihen, so Zuckerrübe, Kar-
toffel, Petersilie, Kirsche, Pflaume und Hefe. Von diesen beiden Unter-
suchern konnte ein weiteres Wirkungsmerkmal der tierischen Thelykinine,
der wachstumsfördernde Einfluß auf den Uterus, auch beim pflanz-
lichen Thelykinin gefunden werden, ebenso wie ihre histologischen
Mitarbeiter *H. Poll* und *W. Blotevogel*²⁾ gleichzeitig den von ihnen

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 40.

²⁾ Med. Klinik 1926, S. 1437.

entdeckten „Chromtest“ des tierischen Thelykinins, die Befähigung, die chromfärbbaren Ganglienzellen im Ganglion uterinum der weißen Maus zu vermehren, auch mit pflanzlichem Thelykinin erhalten konnten. Das gibt gewiß auch uns eine größere Berechtigung, unsere pflanzlichen Wirksubstanzen unter die „Thelykinine“ einzugliedern.

Genauere Einblicke in die Beziehung zwischen den tierischen und den von uns gefundenen pflanzlichen Thelykininen verspricht Prüfung der *mengenmäßigen* Verteilung des Thelykinin in der Pflanze, die wir auszuführen bemüht waren. Eine Übersicht über die bisherigen Ergebnisse dieser unserer Gehaltsbestimmungen wird in der folgenden tabellarischen Zusammenstellung gegeben. Wir geben sie nicht ohne vorwegnehmend gleich betonen zu wollen, daß ihre Zahlen aus mehrfach erwähnten Gründen nur die Bedeutung einer vorläufigen Auskunft über untere Grenzwerte haben, aber nicht eine letzte Aussage über die tatsächlichen Gehaltsziffern bedeuten können.

Ausgangsstoff	Unterer Grenzwert	Oberer Grenzwert
	je kg Feuchtorgan in Mäuseeinheiten	
„Gesamtblüte“ (Salix caprea)	48	200
Kraut ohne Blüte (Althaea rosea)	0.3	3
Stengel (Impatiens parviflora)	0.3	1
Fruchtknoten (Nuphar luteum)	(12)	(20)
Narbe (Salix caprea)	8	14

Die Tabelle drängt zunächst einen Vergleich zwischen generativen und vegetativen Teilen der Pflanze auf. Dem vergleichsweise hohen Thelykininegehalt der Blütenorgane steht — freilich bisher nicht bei den gleichen Pflanzen festgestellt — ein verschwindend geringer Gehalt in der übrigen Pflanze gegenüber. Dabei ist hervorzuheben, daß auch diese so viel schwächer thelykininhaltigen vegetativen Organe von *blühenden* Pflanzen stammten. Man muß also für möglich halten, daß außerhalb der Blütezeit bzw. bei Pflanzenexemplaren ohne weibliche Generationsfunktionen noch viel weniger oder gar kein Thelykinin gefunden wird.

Sind schon alle diese Aussagen nur mit dem Vorbehalt weiterer, bei uns im Gang befindlicher Nachprüfung auszusprechen, weil die mengenmäßige Bestimmung hier noch unvergleichlich viel mehr als beim tierischen Thelykinin unter einer Anzahl von ungenügend geklärten Erschwerungen leidet, so gilt das nicht weniger von den Zahlen, mit deren Hilfe die Verteilung des Thelykinins innerhalb des generativen Apparats zu beurteilen wäre. Hier steht der Gehalt eines reinen Kopulationsorgans, der Narbe, hinter dem Gehalt der „Gesamtblüte“ der gleichen Pflanze ganz bedeutend zurück. Es ist also eine andere Stelle des generativen Apparats, in der die Hauptmenge des Thelykinins

unserer Untersuchungsobjekte zu suchen ist. Der Vergleich mit dem Verhalten der Tiere lenkt naturgemäß die Aufmerksamkeit auf das pflanzliche Ovarium, den Fruchtknoten bzw. die Samenanlage. Der einzige Fall, in welchem wir bisher der isolierten Prüfung dieses Organs nahekommen konnten, die Wertbestimmung in den Fruchtknoten der Teichrose, scheint die naheliegende Vermutung nicht ohne weiteres zu bestätigen. Mehr als in der Gesamtblüte der Weide z. B. gelang es uns bisher nicht darin nachzuweisen. Doch machen die verschiedensten Umstände den qualitativ so wichtigen Befund im Teichrosenmaterial doch mengenmäßig, etwa gar als verbindlichen oberen Grenzwert für Fruchtknoten unverwertbar.

Es sei davon abgesehen, daß wir hier ja überhaupt verschiedene Pflanzenarten in Vergleich ziehen, was gewiß nicht ohne weiteres zulässig ist. Sehr wohl könnte bei der Wasserpflanze, deren Fruchtknoten wir in Händen hatten, der von uns gefundene Wert tatsächlich den Höchstwert in der ganzen Pflanze ausmachen; die Gesamtblüte könnte einen noch niedrigeren Gehalt besitzen, im Gegensatz zu der thylykinreichen Weidenblüte. Vor allem aber war das Gesamtmaterial, das uns von Nuphar zur Verfügung stand, zu gering. Die Zahl, die wir ermitteln konnten, ist nicht durch ausreichende Gleichlaufversuche gesichert. Endlich kommt noch ein Umstand hinzu, der für die pflanzlichen Gewebe ganz allgemein in Rücksicht gezogen werden muß: Bei der Berechnung des gefundenen Wirkungswertes eines Extrakts wird herkömmlicherweise die Feuchtsubstanzmenge des extrahierten Gewebes zugrunde gelegt. Der Wassergehalt der verschiedenen Pflanzen und Pflanzenteile ist aber recht verschieden. Noch einschneidender ist endlich: Wir wissen in keinem Falle, wieviel aktives, spezifisches Organewebe, wieviel außer Berücksichtigung zu haltenden Ballast an Nebengewebe wir in den extrahierten Gesamtgewebsmassen vor uns hatten.

Darum darf also der mengenmäßig unverbindliche Versuch mit Nuphar, unser bisher einziger Versuch mit „isoliertem“ Fruchtknotenewebe, nicht als Gegenbeweis in die Wagschale fallen.

Wir sehen das auch durch die bereits erwähnten Versuche von *Dohrn*, *Faure*, *Poll* und *Blotevogel* bestätigt. Soweit die Verff. bisher Zahlenangaben über den Thylykingehalt bringen, sind gleichfalls generative Gewebe anderen überlegen; im Kilogramm der keinem besonderen Trocknungsverfahren unterworfenen Rübensamen finden sie z. B. doppelt so viel Thylykinin wie in der vermutlich wasserärmeren Preßhefe. Dabei bleibt noch offen, inwieweit die Zellen der Hefe als rein „vegetative“ Organe zu rechnen sind. Über den Gehalt der Kartoffelknolle fehlen mengenmäßige Angaben; sie wären natürlich sehr wesentlich für die Frage der Lokalisation in der Pflanze.

Der Größenordnung nach bilden die Ergebnisse der Gehaltsbestimmung jener Forscher wiederum eine gute Bestätigung unserer Messungen. Sie fanden im Kilogramm Rübensamen 500 M.-E. Die Übereinstimmung wird noch besser, wenn wir hinzufügen, daß nach unserer Beschäftigung mit der Frage der Wertbestimmungsmethodik das Zählverfahren möglicherweise durchgehends, jedenfalls aber nicht selten zu niedrigeren Gehaltsangaben führt als die Schätzungsmethode von *Allen* und *Doisy* u. a., und zwar auch wenn diese letzte Methode nur Mehrheitserfolge in einer größeren Reihe mit gleichen Dosen behandelter Tiere bucht. Dann würden also, da die Wertbestimmungen von *Dohrn* und *Faure*¹⁾ nach einem derartigen „statistischen“ Schätzungsverfahren ausgeführt sind, ihre M.-E.-Ziffern zu reduzieren sein, um mit unseren M.-E.-Werten verglichen werden zu können.

Sind weiter oben bemerkenswerte Übereinstimmungen der Wirkungsmerkmale tierischen und pflanzlichen Thelykinins erwähnt, so muß doch andererseits auf einen augenfälligen Unterschied ihrer Brunstwirkung eingegangen werden: Die Brunstkurve verläuft beim pflanzlichen Thelykinin wesentlich anders als wir dies vom tierischen Thelykinin her gewohnt sind. Deutlich wird dieser Unterschied allerdings erst bei hinreichend langer Beobachtungsdauer. Denn wir haben in einer großen Anzahl unserer Brunstversuche die zunächst sehr merkwürdige Tatsache festzustellen, daß sich der Brunsterfolg an der Vagina — oder noch vorsichtiger ausgedrückt: am Zellbild des Vaginalinhalts — über einen viel längeren Zeitraum hin erstreckt als wenn man eine einmalige Gabe *tierischen* Thelykinins an die kastrierte Mäusin verabreicht hat. Während das tierische Thelykinin seinen Schuppungserfolg in der Zählkurve im Bilde einer kurzfristigen, aber steilen Zacke wiedergibt, die am fünften Tage nach der Hormondarreichung, wenn nicht große Dosen einverleibt wurden, bereits wieder zum normalen niedrigen Schuppenniveau des Diöstruums zurückgekehrt ist, lassen sich die Auswirkungen einer gleichfalls einmalig eingespritzten *pflanzlichen* Thelykingabe über mehrere Wochen hin wiederfinden. Dabei braucht der Schuppungserfolg zu keinem Zeitpunkt der offensichtlichen Desquamationswirkung maximal zu sein.

Derartige Verhältnisse lassen daran denken, daß sich im einen Falle eine schnell ansteigende, hohe Maximalwerte erreichende und dann schnell wieder absinkende Konzentrationsschwankung der auslösenden Wirksubstanz im Blute des resorptiv beeinflussten Individuums abspielt, im anderen Falle dagegen in sanfterem Anstieg eine unter Umständen viel niedrigere Höchstkonzentration im Blute erreicht wird, die sich dann aber über längere Zeit ziemlich unverändert aufrecht erhält, um erst ganz langsam und allmählich wieder abzuklingen. Daß die Brunstvorgänge in der Vaginal-

¹⁾ Laut freundlicher persönlicher Mitteilung.

wand tatsächlich mit dem Thelykininspiegel im Blute einen gewissen Gleichlauf zeigen, ist durch die Analyse der Schwankungen des Hormonspiegels im Blute¹⁾ sehr wahrscheinlich gemacht. Es handelt sich also vermutlich um die Frage, auf welche Weise nach Einverleibung mit gleichartigen Wirkungsmerkmalen behafteter Wirksubstanzen im gleichen öligen Lösungsmittel in der gleichen Depotform im Unterhautzellgewebe das eine Mal jene steile, kurzfristig verlaufende Kurve der Konzentrationsschwankung im Blute zustande kommt, das andere Mal die lang hingezogene, anscheinend mit vergleichsweise niedrigeren Höchstwerten einhergehende nachhaltendere Durchströmungskurve durch den Organismus entsteht.

Eine Erklärung, die manches für sich hat und zu deren Begründung gelegentliche Beobachtungen nach Einverleibung tierischer Thelykininpräparate herangezogen werden können, ist die, daß im einen Falle das Depot seinen Gehalt an Wirksubstanz schneller an die umspülenden Körperflüssigkeiten abgibt als im anderen Falle.

Setzt man für tierisches und pflanzliches Thelykinin die gleiche Diffusionsgeschwindigkeit bzw. den gleichen Verteilungsquotienten zwischen Öl und Körperflüssigkeiten voraus, so kann der Grund für die verschiedene Überwanderung aus der öligen Lösung des Einspritzungsdepots in die Körperflüssigkeiten nur in Umständen gesucht werden, die in beiden Fällen in ungleichem Maße die Wirksubstanz im Öldepot festhalten. Solche Umstände können durch ungleiche Menge oder Beschaffenheit von *Ballastsubstanzen* dargestellt werden. In der Tat sind, wie wir mehrfach hervorheben mußten, Ballastsubstanzen, die mit dem Thelykinin zusammen extrahierbar sind, in der Pflanze in viel größerer Menge vorhanden als im Tierkörper. Auch die Beschaffenheit dieser Ballastsubstanzen pflanzlicher Herkunft ist eine ganz andere; die Pflanzenöle, vor allem aber die pflanzlichen Terpene, Harzsubstanzen und dergleichen scheinen weit mehr als die zudem in geringerer Menge mitextrahierten tierischen Fette und Lipoide befähigt, die *Löslichkeit des Thelykinins im öligen Lösungsmittel zu erhöhen*, seine Verteilung zwischen Öl und wässrigen Körperflüssigkeiten zugunsten des Öles zu verschieben²⁾.

Ein zweiter Umstand muß ebenfalls in Rechnung gezogen werden: Wenn derartige Ballastsubstanzen eine *Reizwirkung auf das angrenzende Gewebe* ausüben, so kann dadurch gleichfalls unter Umständen die Resorption des Thelykinins aus dem Depot verzögert werden. Derartige örtliche pharmakologische Wirkungsfähigkeit kommt gleichfalls den tierischen Ballaststoffen in geringerem Maße zu als den pflanzlichen. Wir müssen freilich gleich hinzufügen, daß wir ausgeprägtere, bis zur Abszeßbildung gesteigerte örtliche Wirkungen gerade bei den sehr wenig gereinigten und sehr vielen Ballast enthaltenden pflanzlichen Thelykininzubereitungen niemals beobachtet haben. Daß ganz generell Beimengungen in den Ölzubereitungen des Thelykinins enthalten sein können, die auf irgend einem Wege die Resorption des Depots und damit auch einzelner in ihm enthaltener Stoffe ganz außerordentlich verzögern können, haben wir für tierische Thelykininzubereitungen bereits vor längerer Zeit zeigen können³⁾. Wir

¹⁾ Z. B. R. T. Frank u. M. A. Goldberger, Journ. Amer. Med. Assoc. 86, 1926, S. 1686

²⁾ Vgl. z. B. Untersuchungen Loewes über angrenzende Fragen in dieser Zeitschr. 127, 231, 1923.

³⁾ Loewe, Zentralbl. f. Gynäkol. 1925, S. 1735.

konnten viele Wochen nach Anlegung eines derartigen Thelykininöldepots beim Meerschwein operativ aus der Injektionsgegend große Mengen des eingespritzten Öles wiedergewinnen und durch dessen Einverleibung an die kastrierte Maus auch nachweisen, daß ein beträchtlicher Anteil der mit dem Öl dem Meerschwein eingespritzten Wirksubstanz noch unverändert und unresorbiert im Depot liegengeblieben war.

Noch eine dritte Erklärung ist in Erwägung zu ziehen: Vielleicht sind es nicht physikalisch-chemische Umstände der Verteilung zwischen Öl und Organismus noch auch biologische Umstände einer resorptionsverschlechternden örtlichen Reaktion der Depotkapsel, welche den protrahierten Ablauf der Brunstreaktion bei den pflanzlichen Wirksubstanzen bedingen, sondern besonders *chemische* Verhältnisse. Der Wirkungsträger könnte in den pflanzlichen Extrakten zunächst in unwirksamem Zustande enthalten sein, die aktuelle Wirksubstanz im Organismus erst daraus entstehen. Das konnte auf zweierlei Wegen zustandekommen: Entweder gibt ein Wirkstoff der Pflanzenextrakte, der selbst gar keine unmittelbare Thelykininwirkung besitzt, erst den Anstoß zur Entstehung einer thelykininwirksamen Substanz aus irgend einer unbekanntem Quelle des Organismus; das ist freilich recht unwahrscheinlich, denn wir kennen bisher kein Organ, das in einem des Ovars beraubten Kastratenorganismus Stoffe vom Wirkungstypus des weiblichen Gonadeninkrets zu erzeugen vermag. Oder aber der einverleibte pflanzliche Wirkstoff, der als solcher noch nicht Thelykininwirkung besäße, wäre selbst die Quelle des nachher wirksam werdenden Thelykinins; dann würden die pflanzlichen Wirkstoffe also eine Art *Prohormon* sein, das erst nach einem gewissen Aufenthalt im Organismus zum Thelykinin aktiviert würde.

Zwischen den vier hier erörterten Möglichkeiten können wir bei dem augenblicklichen Stand unserer Untersuchungen nicht entscheiden, künftige Versuche werden alle diese Möglichkeiten im Auge zu behalten haben; bei weiterer Reinigung der Rohfraktionen wird sich zeigen, ob entfernbare Ballaststoffe auf dem einen oder anderen Wege die Wirkungsverzögerung verschulden. Wenn auch weitgehend ballastfreie Pflanzenextrakte noch die Eigenart protrahierten Wirkungsablaufs besitzen sollten, so würde der Gedanke an eine mehr mittelbare Wirkungsweise der pflanzlichen Wirksubstanz Nahrung erhalten.

Einerlei, ob physikalisch-chemisch wirksamer oder örtlich reizender Begleitstoff oder aber Prohormonnatur der Wirksubstanz selbst für den protrahierten Wirkungsablauf der pflanzlichen Zubereitungen verantwortlich ist, auf jeden Fall ist diese Eigenart in den zeitlichen Beziehungen der Wirkungskurve vorläufig als Besonderheit gegenüber den tierischen Thelykininen zu verzeichnen.

Wenn wir sonstige Eigenschaften unserer Pflanzenzubereitungen betrachten, so treten Besonderheiten gegenüber tierischen Thelykininzubereitungen nicht zutage. Wie die Löslichkeit, so ist auch die Haltbarkeit nicht wesentlich verschieden. Wir hatten mehrfach Gelegenheit, von unseren getrockneten Weidenblütenvorräten nach längerem oder kürzerem Lagern neue Extrakte herzustellen. Die längste Lagerzeit betrug bisher 3 Monate. Nach dieser Aufbewahrungsfrist war zwar weniger Thelykinin aus den Trockenblüten zu gewinnen, doch war

deren Thelykingehalt keineswegs ganz geschwunden. Wir geben zur Erläuterung zwei Abbildungen (Abb. 8 und 9) von Brunstkurven, die mit einem Extrakt Nr. 825 aus 3 Monate ohne besondere Vorsichts-

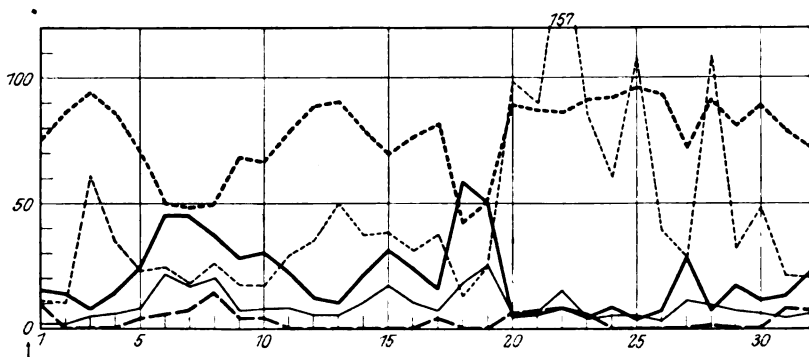


Abb. 8.
Abstrichzählkurve von Maus Y. Am Vortage 0,5 ccm von Präparat 825.

— = Proz. S.
- - - = Proz. E.
· · · · · = Proz. W.
- - - - - = Schuppenzahl je Gesichtsfeld.
· · · · · = Restzellenzahl (W) je Gesichtsfeld.

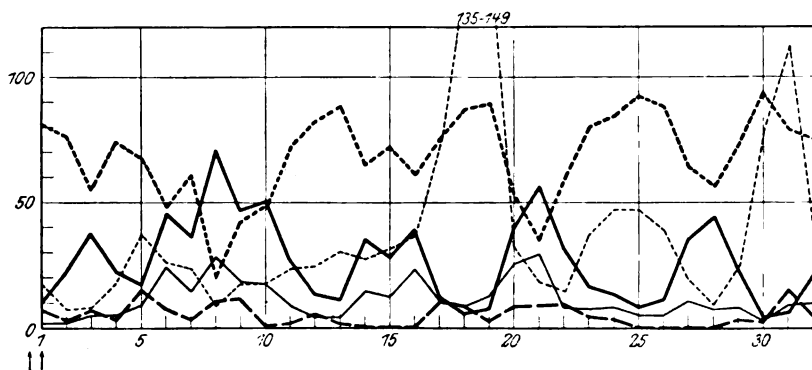


Abb. 9.
Abstrichzählkurve von Maus Z.
Am Vortage in zwei Einspritzungen zusammen 1,0 ccm von Präparat 825.

— = Proz. S.
- - - = Proz. E.
· · · · · = Proz. W.
- - - - - = Schuppenzahl je Gesichtsfeld.
· · · · · = Restzellenzahl (W) je Gesichtsfeld.

maßregeln gelagerten Weidenblüten erzeugt sind. Die Wiedergabe dient gleichzeitig auch noch dem Zweck, zu zeigen, wie anschaulich die Ergebnisse in unserer Darstellungsweise — bei Vorführung der

Zahlenwerte der Zellrelation unter gleichzeitiger Berücksichtigung der absoluten Zahl jeder Zellart — hervortreten.

VII. Anhang. Zur Frage der Spezifität des pflanzlichen Thelykinins.

Nachdem unsere ganze Untersuchung von der Arbeitshypothese ausgegangen war, daß bei der Pflanze vielleicht ähnliche hormonale Mitbedingungen der weiblichen Prägung auffindbar seien wie beim Säugerweibchen in Gestalt des Inkrets seiner Gonaden, darf nach den vorstehend berichteten Untersuchungsergebnissen nicht unerörtert bleiben, welche Antwort denn nun unsere Versuche auf jene Grundfrage geben. *Dienen unsere vegetabilischen Thelykinine wirklich im Organismus der Pflanze einer ähnlichen Aufgabe wie die hormonalen Thelykinine im Tierkörper?* Dann müßte sich zugleich auch die Frage erheben, ob etwa ein einheitliches humorales Prinzip sich als hormonale — chemische, pharmakodynamische — Mitbedingung der weiblichen Prägung überall in der ganzen belebten Welt wiederfindet. *Oder aber ist die Bedeutung unserer Thelykinine pflanzlicher Herkunft umgekehrt gerade darin zu suchen, daß mit ihrer Auffindung zum ersten Male die Spezifität der tierischen hormonalen Thelykinine als durchbrochen erwiesen wird, daß, mit anderen Worten, auch gemeinsame Wirkungen von so hoher Eigenart wie die der Thelykinine als Merkmale ganz verschiedener und ganz verschiedenen Zwecken dienender Stoffe zu finden sind?* Anders ausgedrückt: *Beweist unser Fund eine erstaunliche, von allen Reichen des Lebens ausgenutzte Spezifität oder aber gerade die Unspezifität der Wirkungsmerkmale, mit deren Hilfe er erhoben wurde?*

Es ist selbstverständlich, daß bei der Beantwortung derart weittragender Fragen mit der größten Vorsicht vorgegangen werden muß, daß sie letzten Endes erst an Hand eines viel größeren Tatsachenmaterials erfolgen kann, als wir es in dieser Mitteilung unserer einstweiligen Befunde zusammenzutragen vermögen. Aber es mag bei der Wichtigkeit der angeschnittenen Fragen gestattet sein, durch eine Sichtung der wenigen bisherigen Ergebnisse der weiteren Bearbeitung die Richtung zu weisen.

Zugunsten der Geschlechtsspezifität könnte ins Feld geführt werden:

1. Die weibliche *Blüte* hat sich uns bisher als *ergiebigste Fundstätte* des pflanzlichen Wirkstoffs gezeigt, innerhalb der Blüte sind *kopulative Organe* wie die Narbe *vergleichsweise wirkstoffarm* gefunden worden. Diese Tatsachen bedürfen noch weitgehender experimenteller Stützung. Es fehlen bisher die Vergleichsanalysen vegetativer Teile derjenigen Pflanzen, deren Blüte solch beachtliche Thelykininausbeuten lieferte, und ebenso die Vergleichsanalysen der Blüten jener Pflanzen, deren vegetative Organe sich bisher als vergleichsweise thelykininarm gezeigt haben. Es fehlt ferner die Gehaltsbestimmung in rein männlichen Pflanzen diözischer Arten, im besonderen die Vergleichsanalyse männlicher Weidenblüten. Ergänzungsbestimmungen werden ferner noch zu ermitteln haben, inwieweit tatsächlich über die bisherigen Befunde hinaus, d. h. außer an den von uns hauptsächlich untersuchten Salixblüten und den mit unsicherer Mengenangabe analysierten Nupharfruchtknoten, die Feststellung von dem vorzugsweisen Thelykininreichtum weiblicher Generationsorgane sich verifizieren läßt.

2. Die *Gemeinsamkeit mit den tierischen Thelykininen* geht über das *Wirkungsmerkmal des östrogenen Effekts* an der Vagina des kastrierten Nagerweibchens hinaus, auch zwei andere *belangreiche Wirkungsmerkmale* des weiblichen Prägungshormons teilen die pflanzlichen Wirkstoff-

zubereitungen mit den Sexualhormonen tierischer Herkunft. Auch hier sind Ergänzungen notwendig. Nicht nur müssen für unsere Kätzchenextrakte diese weiteren Wirkungsmerkmale noch geprüft werden, die vorläufig erst von *Dohrn*, *Faure*, *Poll* und *Blotetogel* für deren Pflanzenextrakte beigebracht sind. Es sind auch noch Versuche wünschenswert, in denen das Vorhandensein oder Fehlen weiterer Wirkungsmerkmale (vgl. z. B. die Aufzählung solcher auf S. 6) des tierischen Thelykinins bei den Pflanzenextrakten untersucht wird.

Gegen eine Spezifität ist folgendes anzuführen:

1. Die *Fruchtknoten* von Nuphar, also ein generatives Organ, lieferten uns *kaum mehr Thelykinin* als die *Narben* von Salix, ein bloßes Kopulationsorgan. Freilich haben wir auf S. 13 bereits ausführlicher auseinandergesetzt, weshalb die Zahlenangaben bei unserer Nupharuntersuchung besonders wenig Beweiskraft beanspruchen können.

2. Nach *Dohrn*, *Faure*, *Poll* und *Blotetogel* enthält *auch Hefe* sehr beachtliche Thelykininmengen. Der eine von uns¹⁾ hat allerdings — mit gebührender Vorsicht — bereits darauf aufmerksam gemacht, daß dieser Befund nicht unbedingt gegen eine Spezifität des Thelykinins in die Wagsschale zu fallen braucht; wäre die Kette der Spezifitäts- und Identitätsbeweise im übrigen geschlossen, so wäre auf einem solchen Befund in der Hefezelle vielmehr die belangreiche Vermutung aufzubauen, daß das Prinzip der weiblichen Prägung sozusagen phylogenetisch älter sei als die weibliche Geschlechtsspezifität selbst.

3. Die gleichen Untersucher haben *auch in der Kartoffel* Thelykinin gefunden; die zahlenmäßige Gehaltsangabe fehlt freilich vorläufig, doch scheinen die Mengen nicht ganz gering zu sein. Ein Thelykininbefund in einem derartigen Organ, das mit Generationsaufgaben so wenig in Beziehung gesetzt werden kann, würde in der Tat stark gegen die Geschlechtshormonnatur der pflanzlichen Thelykinine sprechen. Es kann vorläufig müßig erscheinen, zu erörtern, inwieweit Speicherungsleistungen auch für Stoffe, die an ganz anderer Stelle der Pflanze erzeugt sind, oder die Beteiligung an gewissen Reproduktionsleistungen schließlich auch die Kartoffelknolle als Fundstätte eines spezifischen Thelykinins rechtfertigen könnten. Es muß zunächst abgewartet werden, wieviel Thelykinin überhaupt in Pflanzenknollen vorkommen kann.

4. Die *Wirkungsweise tierischen und pflanzlichen Thelykinins ist nicht identisch*, wenn man die zeitlichen Verhältnisse der östrogenen Wirkung betrachtet; die pflanzliche Thelykininwirkung entfaltet sich später, länger anhaltend, unter Umständen sogar schubweise. Daß dies möglicherweise auf Nebenumstände wird zurückgeführt werden können, also vielleicht kein sehr maßgebliches Gegenargument zu bleiben braucht, ist bereits (S. 19 ff.) erörtert.

5. *Es fehlt die Gesamtheit der Zwischenglieder zwischen Säuger und Pflanze*. In keiner der übrigen geschlechtsdifferenzierten Klassen des Tierreichs hat man bisher Thelykinin als regelmäßigen Inhaltsstoff des weiblichen Organismus gefunden; freilich sind unseres Wissens bisher auch darauf gerichtete Untersuchungen nicht ausgeführt worden. Manches — z. B. die bekannten Tatsachen über die Unabhängigkeit der sekundären weiblichen Geschlechtsmerkmale von den Keimdrüsen bei den Insekten,

¹⁾ Loewe, Vortr. I. Intern. Kongr. f. Sexualforschung, Berlin 11. Oktober 1926.

zum Teil auch schon manche Beobachtungen bei den Vögeln — könnte gegen eine einheitliche Grundlage der hormonalen Geschlechtsprägung im Tierreiche vorgebracht werden, nicht ohne freilich auch anderer Deutung zugänglich zu sein. Hier kann gewiß nur die Suche nach Thelykinin bei allen diesen Tierklassen eine Entscheidung bringen.

Nach keiner Seite hin verwertbar ist die Tatsache der *Thelykinin-auffindung in pflanzlichen Samen* (Befunde *Dohrns* c. s. in Rübensamen). Der Gedanke an die planzentare Thelykinindrüse des tragenden Säugerweibchens¹⁾, an die freilich bisher nur mit Hilfe der Wachstumsförderung des Uterus erhobenen [*Fellner*²⁾], bei der Prüfung der östrogenen Wirkung bisher nicht bestätigten [*Doisy, Allen* c. s.³⁾] Thelykininbefunde im Vogelei ließe solche Befunde im Generationsprodukt der Pflanze jedenfalls nicht unvereinbar mit der Hypothese pflanzlicher Geschlechtshormone erscheinen.

Alles in allem wird man die Entscheidung der Frage nach der Bedeutung unserer Befunde thelykininartiger Stoffe in der Pflanze unbedingt weiteren Versuchen überlassen müssen.

Zusammenfassung.

1. *Stoffe, die zur Erweckung des Brunstzyklus beim kastrierten Nagerweibchen befähigt sind, wurden in pflanzlichen Ausgangsstoffen nachgewiesen.*

2. Der Nachweis wurde geführt mit Hilfe der zytologischen Untersuchung der vaginalen Brunstvorgänge im Scheidenabstrich der kastrierten Maus, unter Mengenbestimmung mit dem Zählverfahren.

3. Da eine derartige Wirkung bisher als spezifisches Wirkungsmerkmal weiblichen Sexualhormons (Thelykinins) aus dem Tierkörper anzusehen war, werden diese Stoffe als *pflanzliche Thelykinine* bezeichnet.

4. Die *Verteilung der Thelykinine im pflanzlichen Organismus* wurde in mengenmäßiger Gehaltsbestimmung zu ermitteln versucht.

5. *Als die ausgiebigste Quelle solcher pflanzlichen Thelykinine erweist sich uns bisher die Blüte*; in weiblichen Weidenkätzchen fanden wir bis 200 M.-E. je Kilogramm Feuchtsubstanz.

6. In der roh isolierten *Samenanlage* (*Nuphar luteum*) wurde ebenfalls Thelykinin nachgewiesen; zu genauer Mengenbestimmung reichten die verfügbaren Mengen nicht aus.

7. Die isolierte *Narbe* der gleichen Weidenblüte *enthält bedeutend weniger Thelykinin* (< 14 M.-E. je Kilogramm Feuchtsubstanz) *als die Gesamtblüte.*

8. *In Stengeln oder von Blüten befreitem Kraute blühender Pflanzen* (*Impatiens parviflora* bzw. *Althaea rosea*) wurde ebenfalls Thelykinin

¹⁾ *Loewe und Voß*, *Klin. Wochenschr.* 1926, S. 1083.

²⁾ *O. Fellner*, ebendasselbst 1925, S. 1651.

³⁾ *Il. biol. Chemistry* 61, 725, 1924.

nachgewiesen, jedoch im Vergleich zu dem Gehalt der analysierten Blüte *nur in verschwindender Menge* (< 1 M.-E. je Kilogramm Feuchsubstanz).

9. Unterscheidend gegenüber dem tierischen Thelykinin ist der protrahiertere, unter Umständen schubweise Ablauf der vaginalen Brunsterscheinungen. Die möglichen Ursachen dieses Unterschieds werden besprochen.

10. Im Anschluß an die bisherigen Befunde über die Verteilung des Thelykinins in der Pflanze wird die Frage erörtert, ob die vorliegenden Feststellungen auf ein allgemeines weibliches Prägungsprinzip in der gesamten belebten Natur hindeuten oder aber unspezifische Stoffe von einer gewissen, mehr zufälligen Wirkungsgemeinschaft mit dem tierischen Sexualhormon aufdecken. Die Entscheidung der Frage wird von weiteren experimentellen Ergänzungen der vorliegenden Befunde abhängig gemacht.

Kann durch Verfütterung von Natrium bicarbonicum oder aktivem Eisenoxyd der Verlauf der Avitaminose bei Reistauben beeinflußt werden?

Von

Dhirendranath Banerjee (Kalkutta).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 27. Oktober 1926.)

Der Gedankengang, der zu der Fragestellung führte, ob durch Verfütterung von Natrium bicarbonicum oder aktivem Eisenoxyd bei Reistauben der Verlauf der Avitaminose beeinflußt werden kann, war folgender. Die Avitaminose führt bekanntlich zu einer Senkung der Verbrennungen, gemessen am Luftsauerstoffverbrauch. Diese Oxydatienseinschränkung betrifft wohl ausschließlich das Kohlehydrat. Eine Folge dieser Oxydatienseinschränkung ist eine Vermehrung des dysoxydablen Kohlenstoffs im Harn und eine Steigerung des Harnquotienten C : N trotz gleichzeitiger Erhöhung der N-Ausfuhr wegen des gesteigerten Eiweißumsatzes [*Bickel* (1)].

Anorganische Alkalien wirken bekanntlich im allgemeinen oxydatiensesteigernd. In diesem Zusammenhang sei hier vor allem auf die Arbeit von *Waldbott* (2) verwiesen. Außerdem aber senkt die Gabe von Natrium bicarbonicum den Harnquotienten C : N, was *Watanabe* (3) im hiesigen Laboratorium bei Kaninchen nachgewiesen hat. Diese Quotientensenkung kommt hier vor allem durch eine Erhöhung der N-Ausfuhr durch den Harn zustande.

Man sieht also, daß das anorganische Alkali, abgesehen von der Steigerung des N-Umsatzes, im Körper vielfach die umgekehrten Wirkungen hervorruft, wie der Vitaminmangel. So war es denkbar, daß Gabe von anorganischem Alkali den Vitaminmangel bis zu einem gewissen Grade zu kompensieren vermochte.

Um diese Frage zu prüfen, habe ich folgende Versuche gemacht.

Vier Serien von Tauben wurden bei Nahrung mit poliertem Reis gehalten. Die Serie I (zehn Tiere) bekam nur die Reisausfütterung. Bei den Serien II (zehn Tiere) und III (sechs Tiere) bekam jedes Tier täglich in

kleinen Pillen 0,252 g Natrium bicarbonicum in den Kropf eingeführt. Bei der Serie IV (sechs Tiere) erhielt jedes Tier in derselben Weise täglich 0,174 g NaCl in Pillenform. Es wurden also bei den Serien II, III und IV jedem Tier die gleiche Na-Menge täglich zugeführt, nur bei den Serien II und III in Form von Natrium bicarbonicum und bei der Serie IV in Form von Kochsalz. Es sollte festgestellt werden, ob eine eventuelle Wirkung an das Natrium oder an das Carbonat geknüpft sei.

Ausschlaggebend war die Lebensdauer der Tiere. Im Durchschnitt lebten die Tiere der Serie I 25,6 Tage, der Serie II 24,6 Tage, der Serie III 46 Tage, der Serie IV 36,9 Tage. Die Versuche der Serie I und II wurden gleichzeitig und die der Serie III und IV ebenfalls gleichzeitig, aber zeitlich früher (Januar 1926) als die Versuche der Serie I und II (April 1926) angestellt. Man kann also nur die Serie I mit der Serie II und die Serie III mit der Serie IV vergleichen. Aus diesen Vergleichen ersieht man, daß die Gabe von Natrium bicarbonicum bei Reistauben nicht lebensverlängernd wirkt (Serie I und II), und daß die Gabe von Kochsalz im Vergleich zur Gabe von Natrium bicarbonicum eher schädigend wirkt (Serie II und III).

Aus alledem geht hervor, daß durch die Gabe von Natrium bicarbonicum der Verlauf der Avitaminose bei Reistauben nicht beeinflußt wird. Die Tauben der Serie III und IV wogen zu Versuchsbeginn etwa 300 g; die Tauben der Serie I und II waren junge Tauben, wogen bedeutend weniger und erlagen auch der Avitaminose früher als die älteren Tauben, was die Erfahrung aufs neue bestätigt, daß besonders der jugendliche Körper durch die Avitaminose gefährdet ist. Aber selbst wenn wir ein Durchschnittsgewicht von 300 g pro Tier zugrunde legen, finden wir, daß bei den Versuchen 0,84 g Natrium bicarbonicum pro 1 kg Tier gegeben wurden. Das würde für einen Menschen von 60 kg die Gabe von etwa 50 g Natr. bic. täglich bedeuten. Es war also sicher bei den Versuchen nicht zu wenig von dem Salz gegeben worden.

Nun hatte *Wada* (4) im hiesigen Laboratorium gefunden, daß durch die Verfütterung von aktivem Eisenoxyd bei Kaninchen eine starke Einschränkung des N-Umsatzes auftrat, die bei ungefähr gleichbleibender Menge des dysoxydablen Harnkohlenstoffs zu einer starken Erhöhung des Harnquotienten C:N führte. In bezug auf die Beeinflussung des N-Stoffwechsels verhielt sich die Wirkung der Zufuhr von aktivem Eisenoxyd also umgekehrt, wie die Wirkung des Vitaminmangels. Das Natrium bicarbonicum und der Vitaminmangel beeinflussen, wie wir hörten, den N-Umsatz gleichartig im Sinne einer Steigerung. Das aktive Eisenoxyd wirkte jedenfalls stark hemmend auf die Eiweißoxydation, und von steigernden oxydativen Wirkungen derselben auf andere Substanzquoten war nichts bekannt, es sei denn, daß wegen der Einschränkung des N-Umsatzes kompensatorisch die Oxydation der Fette und Kohlehydrate gesteigert würde.

Es war also immerhin möglich, daß die den Eiweißumsatz einschränkende Wirkung des aktiven Eisenoxyds die den Eiweißumsatz

steigernde Wirkung des Vitaminmangels kompensieren und so zu einer Abschwächung der Avitaminose führen könnte. Zur Prüfung dieser Frage wurden folgende Versuche gemacht.

Je zehn Tauben wurden mit poliertem Reis und Wasser ernährt. Die erste Gruppe erhielt zum Reis eine Zulage von inaktivem Eisenoxyd, welches von den Tieren mit den Reiskörnern zusammen aufgepickt wurde. Die zweite Gruppe bekam an Stelle des inaktiven gewöhnlichen Eisenoxysds aktives Eisenoxyd nach *Baudisch*. Etwa 3 Wochen nach Beginn des Versuchs zeigten sich die ersten avitaminösen Erscheinungen, und zwar bei beiden Gruppen ungefähr gleichmäßig. Die Tiere starben anfangs in der mit inaktivem Eisenoxyd gefütterten Gruppe etwas rascher, doch holte die mit aktivem Eisenoxyd gefütterte Gruppe diesen Vorsprung rasch auf. Nach weiteren 2 Wochen waren sämtliche Tiere der beiden Gruppen unter den gleichen Krankheitserscheinungen zugrunde gegangen. Eine vitaminartige Wirkung des aktiven Eisenoxysds konnte wenigstens bei der gewählten Versuchsanordnung nicht festgestellt werden.

Desgleichen konnte kein Einfluß auf die Avitaminose gefunden werden, wenn den erkrankten Tieren 1 bis 2 ccm einer 10proz. Aufschwemmung von aktivem Eisencarbonat intramuskulär injiziert wurden.

Man ersieht aus alledem, daß es nicht möglich ist, weder durch Verfütterung von Natrium bicarbonicum, noch durch aktives Eisenoxyd den Verlauf der Avitaminose bei Reistauben in dem Sinne therapeutisch günstig zu beeinflussen, daß man den Todeseintritt hinausschiebt. Ob sich der Körpergewichtssturz beeinflussen läßt, bedarf noch der Untersuchung.

Literatur.

- 1) *Bickel*, diese Zeitschr. **146**, 493, 1924; **166**, 251, 1925. — 2) *Wald-bott*. Deutsch. Arch. f. klin. Med. **143**, 5/6. — 3) *Watanabe*, diese Zeitschr. **170**, 432, 1926. — 4) *Wada*, ebendasselbst **175**, 62, 1926.

Theorie der Lignin-bildung¹⁾.

Von
Walter Fuchs.

(Aus dem Institut für organische Chemie der Deutschen Technischen
Hochschule Brünn.)

(Eingegangen am 27. Oktober 1926.)

Im Holze, sowie überhaupt in den verholzten Zellwänden der Pflanzen findet sich eine eigentümliche Substanz, das sogenannte *Lignin*. Über die chemische Natur dieses Stoffes sind wir nur mangelhaft unterrichtet. Allein vier große Gruppen von Erfahrungen gestatten es, Lignin als besondere Individualität von anderen Membran-Bausteinen zu unterscheiden.

1. Die Erfahrungen des Pflanzen-Aufschlusses. Bei saurer Hydrolyse von Zellwänden bleibt Lignin als methoxylhaltiger, unverzuckerbarer Rückstand übrig, während die Kohlehydrate der Wand in Lösung gehen. Beim Aufschluß mit Calciumbisulfit-Lösung gibt Lignin lösliche Sulfonsäuren, Cellulose bleibt ungelöst.

2. Die Ergebnisse der Analyse. Lignin hat mehr als 60 Proz. Kohlenstoff, Polysaccharide haben nicht mehr als 45 Proz. Sowohl die Analyse der verschiedensten Lignin-Präparate als auch die indirekte Berechnung für das genuine Lignin geben das gleiche Resultat.

3. Der chemische Abbau. Aus Lignin-Präparaten kann man Benzol- und Phenol-carbonsäuren in zum Teil recht beträchtlichen Ausbeuten gewinnen. Diese Erfahrung weist zusammen mit den analytischen Befunden auf den aromatischen Charakter des Lignins hin.

4. Die biologische Erfahrung. Lignin zeichnet sich vor den anderen Membran-Bausteinen durch große biologische Resistenz aus. Beim Angriff von Mikroben in der Natur erliegen die Kohlehydrate der Wand gar bald der Zerstörung, Lignin wird seiner Masse nach kaum verändert.

In der Frage der Bildung des Lignins in der Pflanze konnte, wie nach mehreren Bemühungen festgestellt werden mußte, mit den Gedankengängen der klassischen organischen Chemie eine fruchtbare

1) Vorgetragen auf der 89. Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu Düsseldorf.

Fragestellung nicht erzielt werden. Auch ein Versuch der Literatur, mit den Vorstellungen der Kolloidchemie das Problem zu lösen, erwies sich als Irrweg. Indessen ergab sich die Möglichkeit, tiefer in den Sachverhalt einzudringen, als ein gedankliches Hilfsmittel benutzt wurde, welches in der Biochemie bisher kaum je angewendet worden ist, welches jedoch in den anderen biologischen Wissenschaften zu großen Erfolgen geführt hat. Dies ist die *Evolutionstheorie*.

Vom Standpunkt der Entwicklungslehre ergab sich sogleich eine doppelte Fragestellung. Welche Tatsachen beschreiben den Prozeß der Lignin-Bildung in der Einzelentwicklung der Pflanze oder Ontogenie; und welche Tatsachen beschreiben diesen Prozeß in der Stammesgeschichte des Pflanzenreiches oder der Phylogenie?

Die Sichtung und Ergänzung des Materials ergab folgendes Bild. In der Ontogenie treten zunächst stets völlig unverholzte Zellwände auf, welche die reinen Cellulose-Reaktionen geben. In vielen Fällen werden diese Zellwände sodann so verändert, daß sie sogenannte *Pektinsubstanzen* anlagern, welche die Cellulose-Reaktionen verhindern. Diese in vielen jungen Geweben auftretenden Stoffe verschwinden dann, wenn der Verholzungsprozeß eintritt, und machen dem Lignin Platz. Die Verholzung beginnt übrigens sehr bald, und sie führt auch bald zu einer starken Anreicherung des Lignins in der Wand. Der Lignin-Gehalt wächst nämlich zunächst sehr schnell, später weit langsamer an. Dagegen ist der hohe Methoxygehalt, der das Lignin des Holzes auszeichnet, in diesem frühen Stadium zunächst nicht vorhanden, vielmehr findet sich ursprünglich ein Lignin mit sehr geringem Methoxygehalt vor, wobei dieser Methoxygehalt erst dann sprunghaft ansteigt, wenn die Hauptmenge des Lignins bereits gebildet ist. Lignin-Bildung und Methylierung sind in der Ontogenie zwei unterscheidbare Phasen des Verholzungsvorganges.

In der Phylogenie findet man in der tiefstehenden Gruppe der Grünalgen eine Zellwand, welche die reinen Cellulose-Reaktionen zeigt. Diese Reaktionen erhält man in der Gruppe der Moose, der phylogenetisch nächsten Familie des Pflanzenreiches, meist nicht mehr. Die Zellwand der Moose ist verändert durch die Anlagerung von Substanzen, die von den botanischen Beobachtern als Pektinsubstanzen bezeichnet werden. Die höheren Landpflanzen enthalten dann erst das eigentliche Lignin, wobei ein Lignin mittleren Methoxygehalts, welches ich bei den Bärlappen auffand, zwischen dem sehr methoxyarmen scheinbaren Lignin der Moose und dem methoxyreichen Lignin der höheren Landpflanzen steht.

Demnach besteht ein auffälliger Parallelismus zwischen Ontogenie und Phylogenie. Und beide Tatsachenreihen liefern, sich gegenseitig

stützend und ergänzend, ein Bild von dem Vorgang des Verholzungsprozesses. Wie ist nun der Verholzungsprozeß auch entwicklungsmechanisch in seinem Ineingreifen aufzuklären?

Die Ursachen der Lignin-Bildung im allerweitesten Sinne mußten in dem Entwicklungsgang zu suchen sein, der von den Algen über die Moose zu den höheren Landpflanzen führt. Dieser Entwicklungsgang ist den Botanikern in den Hauptzügen bekannt. Es ist der Prozeß der Landnahme durch die Pflanze, der Entwicklungsgang von ursprünglichen primitiven Meeresbewohnern zu den Eroberern der Kontinente.

Dieser phylogenetische Prozeß wird in der Einzelentwicklung so reproduziert, daß das Gewächs einen besonderen Wasserhaushalt ausbildet. Indem das assimilierende Gewebe in das Luft- und Lichtmeer emporstrebt, das adsorbierende sich in den Boden versenkt, wird zwischen beiden ein mechanisches System stützend und wasserleitend ausgebildet. Die wasserleitenden Gefäße sind jedoch gerade der eigentliche Hauptsitz der Verholzung, und die Verhältnisse in ihnen nötigen zu besonderer Beachtung. Die jüngsten Gefäße sind nach den Erfahrungen der Pflanzen-Physiologie diejenigen, welche ihre Funktion am besten erfüllen. Sie sind vollkommen mit Wasser gefüllt, welches sich nach der modernen Theorie von der Wurzel bis zur Spitze in Kohäsionsspannung befindet. Sie enthalten weder Protoplasma noch Luft. Luftblasen, welche in ihnen auftreten, erweisen sich als luftverdünnt und beeinträchtigen die Wasserleitung; wächst das Volumen der Luftblasen allzu sehr an, so vermag das Gefäß die Aufgabe der Wasserleitung überhaupt nicht mehr zu erfüllen, und es verodet.

Diese Verhältnisse im eben ausgebildeten und am besten funktionierenden Leitungssystem müssen sich bereits in den Anfängen seiner Ausbildung geltend machen. Die zu Gefäßen werdenden Gewebe geraten unter den besonderen Bedingungen des Landlebens unter eine Druckspannung, welche nach allen Erfahrungen der Physiologie das Wachstum der lebendigen, plasmaerfüllten Zellen zum Stillstand bringt. Unter der Wirkung der Kohäsionsspannung wird dieser Stillstand in dem allmählich mit Wasser überschwemmten Gewebe zum Rückgang, Plasmolyse ergreift den Inhalt der betroffenen Zellen, und während die ursprüngliche Wand verändert wird, stirbt das Protoplasma und verschwindet.

Daß hierbei eine enge Beziehung zwischen den Vorgängen in der Zellwand und denen im Zellinnern besteht, geht aus zahlreichen Tatsachen hervor. Ganz allgemein hat sich gezeigt, daß ein Verholzungsprozeß nur in einem lebendigen Gewebe sich abspielen kann, und daß ein totes Gewebe nicht nachträglich zu verholzen vermag. Ebenso allgemein aber erscheint die Lebenstätigkeit in Zellen, deren Wände

verholzen, beeinträchtigt, und in vielen Fällen hört sie bei fortschreitender Verholzung ganz auf, wobei das Protoplasma verschwindet.

Alle diese Tatsachen gestatten nun weitere, wieder enger an die Chemie sich anschließende Fragestellungen. Welche chemischen und physikalischen Eigentümlichkeiten kennzeichnen die ursprüngliche Zellwand und ihre allmähliche Umbildung zur verholzten? Und welche Eigentümlichkeiten kennzeichnen den Zellinhalt bei abnehmender Lebenstätigkeit und allmählichem Sterben?

Für den ersten Punkt muß als grundlegend die moderne Feststellung angesehen werden, daß die gewachsene Cellulose kristallinisch und anisotrop ist. Diese ursprüngliche anisotrope Wand wird durch das Auftreten isotroper Elemente bei dem Verholzungsprozeß verändert. Hierbei muß man insbesondere nach den Untersuchungen von König und Rump¹⁾, sowie auch nach anderen neueren Beobachtungen annehmen, daß die verholzte Zellwand eine innige Durchwachsung der verschiedensten Bausteine darstellt, da man der Wand den einen oder den anderen Baustein entziehen kann, ohne das Wandgefüge zu zerstören. Demnach scheinen neu auftretende Wandbausteine von einem gewissen Zeitpunkt an aus der Veränderung der vorhandenen hervorzugehen, und die gewachsene Zellwand hat den Charakter eines Gitters, dessen Bauelemente durch Gitterkräfte beherrscht werden.

Was ferner die Verhältnisse beim Absterben des Protoplasmas betrifft, so zeigt die Erfahrung der Physiologie, daß bei diesem Vorgang sich von allen Lebenstätigkeiten nur eine besonders lange erhält, nämlich die Dissimilation oder *Atmung*. Die Atmung ist auch bei Abwesenheit von Luft als anaerobe und sogar nach dem Tode als postmortale Atmung am Werke, so daß man gewissermaßen sagen kann, daß die Atmung den Tod der Zelle überlebt.

Alle hier angeführten Tatsachen haben für die Lignin-Bildung eine Bedeutung, und es will mir scheinen, daß nur sie eine Bedeutung haben. Die theoretische Verknüpfung läßt sich durch die Annahme bewerkstelligen, daß die Lignin-Bildung ein unter den besonderen Bedingungen des Landlebens sich abspielender Prozeß ist, in dessen Verlauf eine ursprüngliche Zellwand durch anaerobe Atmung in bestimmter Weise verändert wird. Die *Fermente der Atmung*, welche am längsten in Tätigkeit bleiben, *entziehen* nach dieser Vorstellung *den Kohlehydraten* der Wand *Sauerstoff* und übertragen ihn auf den protoplasmatischen Zellinhalt, welcher allmählich veratmet wird.

Was den Mechanismus dieses Vorganges im einzelnen betrifft, so habe ich mir die Vorstellung gebildet, daß bei der Atmung aus der

¹⁾ Vgl. hierzu und zu anderen Stellen meine „Chemie des Lignins“. Berlin, Springer, 1926.

ursprünglichen Wand Sauerstoff in Form von *Wasserstoffsperoxyd* abgespalten wird. Dieses Wasserstoffsperoxyd wird sodann von den in allen Pflanzensäften angetroffenen wasserstoff-speroxyd-spaltenden Fermenten den Zwecken der Atmung zugeführt. In der Zellwand entstehen nach dieser am Ende der weit gespannten Erwägung sich ergebenden speziellen Vorstellung *glucal*-ähnliche Komplexe. Diese Vorstellung erwies sich einer experimentellen Prüfung zugänglich, welche, wie heute schon gesagt werden kann, mit positiven Ergebnissen im Gange ist. Hierüber soll in besonderem Zusammenhang berichtet werden.

Über die Einwirkung von Jod und Jodpräparaten, Thyreoektomie und Schilddrüsenfütterung auf die Blutkatalase in vitro und in vivo.

Von
A. Timofejewa.

[Aus dem Staatlichen Chemo-pharmazeutischen Forschungsinstitut zu
Moskau¹.]

(Eingegangen am 21. Oktober 1926.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Als wir an die in vorliegender Mitteilung beschriebenen Versuche herantraten, waren wir von folgenden Gedankengängen geleitet: die Rolle der Katalase ist uns immer noch nicht bekannt, die *Wieland* schen Theorien, die den Sauerstoff bei Oxydationsvorgängen zum Wasserstoffakzeptor stempeln und zur Bildung von H_2O_2 führen, sind wohl noch lange weder bewiesen noch anerkannt. Man bemüht sich, aus klinischen Vorgängen durch Bestimmung der Blutkatalase irgendwelche Anhaltspunkte zu gewinnen, was sicher kein vielversprechender Weg ist, da ja bei gleicher „Diagnose“ die „Krankheit“ immer individuell kompliziert ist. Es schien uns aussichtsreicher, die Krankheit experimentell zu schaffen, um die Verhältnisse einigermaßen überblicken zu können, und da dachten wir vor allen Dingen an endokrine Störungen und in erster Linie an die Hypo- und Hyperfunktion der Schilddrüse,

¹) Die vorliegende Arbeit wurde vor beinahe 3 Jahren beendet und konnte aus gewissen Rücksichten nicht veröffentlicht werden — dieses bezieht sich hauptsächlich auf den zweiten Teil der Untersuchung (Tierexperiment), der erste Teil liegt schon lange in einer inzwischen eingegangenen russischen Zeitschrift im Druck vor. Wir haben uns inzwischen unter Leitung von Prof. *O. Steppuhn* einem ganz anderen Arbeitsgebiet zugewandt; in dem von uns damals durchdachten Plane hat diese Arbeit ihren Wert verloren, um so mehr, da sie keine Ansprüche auf Vollkommenheit macht, und doch entscheiden wir uns für die Veröffentlichung in der Annahme, daß dieser oder jener Befund „zur rechten Zeit am rechten Ort“ Interesse erwecken könnte.

leicht erzielbare und gut studierte Symptomkomplexe. Vielleicht wäre dieses auch ein Weg, einiges Licht in die verwickelte Katalasefrage zu bringen; wir nehmen gleich vorweg, daß wir gar nicht dazu gekommen sind, an die eigentliche Kernfrage heranzutreten, und nur vorbereitend das Problem abgetastet haben. Diese Vorversuche seien im folgenden mitgeteilt:

I. In-vitro-Versuche.

Die Einwirkung von J und JK (bzw. Na) auf die Katalase ist, soweit uns bekannt, nur von *Senter* und von *Issaeff* ganz nebenher studiert worden. Es stellte sich heraus, daß J in JK schon in sehr geringen Konzentrationen die Wirkung der Katalase unterdrückt; Kontrollversuche zeigten, daß JK bei gegebener Versuchsanordnung ohne Wirkung ist [*Senter*¹⁾]. Zu ähnlichen Ergebnissen (Hefekatalase) kam auch *Issaeff*²⁾ an anderem, übrigens recht spärlichem Versuchsmaterial. Wir stellten uns die Aufgabe, die Wirkung von Jod, Jodkali und Jodproteinen auf die Katalase im frischen Blut zu studieren. *Senter* und *Issaeff* arbeiteten an Katalasepräparaten; deren Ergebnisse konnten wir natürlich nicht automatisch auf unsere Fragestellung übertragen. Es schien uns von Wichtigkeit, nicht eigentlich das Ferment, sondern das Blut als Fermentträger zu beeinflussen, die aus unbekanntem Summanden zusammengesetzte Resultante, die uns aus dem Symptom und der Fähigkeit, H_2O_2 zu zerlegen, bekannt ist.

Wir bedienten uns der Pergamentmethode in der von *Bach* und *Zukowa*³⁾ gegebenen Anordnung. Es schien uns besonders wichtig die Einführung einer „Inkubationszeit“. Die zu prüfende Substanz wurde zur Fermentlösung gegeben (Blutlösung 1:1000); nach Verlauf einer bestimmten Zeit wurde nur ein geringer Teil dieser Lösung in jenes Milieu gebracht, wo die Einwirkung auf H_2O_2 vor sich geht. In Anbetracht der sehr hohen Verdünnungen wird dadurch die Bedeutung einer eventuellen Veränderung des Reaktionsverlaufs durch veränderte Milieubedingungen wenigstens praktisch ausgeschaltet.

Es muß besonders hervorgehoben werden, daß die Blutkatalase nicht nur Tagesschwankungen unterworfen ist⁴⁾, sondern auch nacheinander aus der Ohrvene fallende Tropfen verschiedene Zahlen ergeben⁵⁾; außerdem verarmen verdünnte Blutlösungen ziemlich rasch an Katalase — dieses muß auch bei den Versuchen berücksichtigt werden, da man ja bei Vergleichen nur von demselben Katalaseindex ausgehen kann.

1) *Senter*, Zeitschr. f. physikal. Chem. 51, 633.

2) *Issaeff*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 546.

3) *Bach* und *Zukowa*, Diese Zeitschr. 125, 283, 1921.

4) *Strauss* A. John Hopkins Bull. 28, 51, 1912.

5) *Steppuhn* und *Timofejewa*, Arch. f. exper. u. klin. Med. 5 (russisch); 68, 1923; *Ivanitzky-Wassilenko* und *Bach*, diese Zeitschr. 148, 469, 1924; *Kultjugin*, ebendasselbst 167, 241, 1925.

Wir haben finden können, daß Blutlösungen 1 : 1000 bei 37° nach etwa 1½ bis 2 Stunden einen konstanten Katalaseindex erreichen, den sie einige Zeit (3 bis 4 Stunden) beibehalten (Tabelle I).

Tabelle I.

Versuch	Katalaseindex Blut 1:1000				
	Sofort	Nach 30 Min. bei 37°	Nach 1 Std. bei 37°	Nach 2 Std. bei 37°	Nach 4 Stdn. bei 37°
155	7,3	5,6	5,6	5,2	5,2
158	8,1	7,2	6,8	6,8	—
159	7,3	6,1	5,7	5,6	—

Alle diese Überlegungen führten uns schließlich zu einer folgenden Methodik.

In Abhängigkeit von der jeweils zur Durchführung eines Versuchs nötigen Blutmenge wurde einem Kaninchen aus der Ohrvene $A \times 20$ cmm (2 ccm) Blut entnommen und in $A \times 16$ ccm destillierten Wassers verdünnt. Die Blutlösung wurde 1½ bis 2 Stunden bei 37° aufbewahrt, wonach sie in kleine Erlenmeyerkölbchen à 8 ccm verteilt wurde. In das erste Kölbchen wurden 2 ccm Wasser (Nullversuch, anfänglicher Katalaseindex) hinzugegeben; in die folgenden — wechselnde Mengen J (3:1000) in JK (6:1000) oder nur JK (6:1000), danach wurde mit Wasser auf 10 ccm aufgefüllt. Es entstanden folgende Reihen, z. B.:

Kölbchen 1:	8 ccm Blutlösung	+ 2 ccm Wasser				
„ 2:	8 „	„	+ 0,5 „	„	+ 1,5 ccm JK-Lösung	
„ 3:	8 „	„	+ 1,0 „	„	+ 1,0 „	„
„ 4:	8 „	„	+ 1,25 „	„	+ 0,75 „	„
„ 5:	8 „	„	+ 1,50 „	„	+ 0,5 „	„
„ 6:	8 „	„	+ 1,8 „	„	+ 0,2 „	„

Durch diese weitere Verdünnung verwandelte sich die anfängliche Lösung 20 cmm Blut : 16 ccm Wasser in eine Lösung etwa 1 : 1000 — was eben der *Bachschen* Versuchsanordnung entspricht.

Alle Kölbchen kamen nun für 30 Minuten in den Thermostaten (Inkubationszeit), wonach der Katalaseindex bestimmt wurde.

Die gekochte Blutlösung eines jeden Kölbchens diente zur Kontrolle bei der Bestimmung des Katalaseindex eben dieses Kölbchens. Die Versuchsergebnisse für JK sind in Tabelle II zusammengefaßt.

Tabelle II.

Hinzugefügte JK-Lösung (6:1000) pro 10 ccm Blutlösg. (1:1000) ccm	Versuch 284		Versuch 285		Versuch 286	
	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK
2,00	13,2	13,5	—	—	—	—
1,50	13,2	13,5	—	—	15,0	14,9
1,00	13,2	13,3	—	—	15,0	15,0
0,75	—	—	—	—	15,0	14,6
0,50	13,2	13,5	15,5	15,5	—	—
0,20	—	—	15,5	15,4	—	—
0,10	13,2	13,3	15,5	15,5	15,0	14,8

Tabelle II (Fortsetzung).

Hinzugefügte JK-Lösung (6 : 1000) pro 10 ccm Blutlsg. (1 : 1000) ccm	Versuch 287		Versuch 288		Versuch 289	
	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Anfängl. Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK
2,00	—	—	—	—	—	—
1,50	12,5	12,5	16,3	16,2	12,2	12,3
1,00	12,5	12,3	16,3	16,1	12,2	12,3
0,75	12,5	12,7	16,3	16,4	12,2	12,3
0,50	12,5	12,8	—	—	—	—
0,20	12,5	12,5	16,3	16,2	—	—
0,10	12,5	12,3	16,3	15,9	12,2	12,3

Wie ersichtlich, beeinflußt JK in diesen übrigens recht großen Konzentrationen die Katalase nicht. *Seligsohn*¹⁾, der neuerdings über eine solche Beeinflussung berichtete, arbeitete mit höheren Konzentrationen.

Ganz anders Jod.

Wie aus der Zahlzusammenstellung (Tabelle III) hervorgeht, wird die Katalase schon durch sehr geringe Jodgaben hemmend beeinflusst. Mit der Erhöhung der Jodkonzentrationen fällt der Katalaseindex bis auf den Nullpunkt. Zur Prüfung der Einwirkung von Jodproteinen auf die Katalase konnten wir nicht die käuflichen Präparate gebrauchen, die entweder die Reaktion im Sinne einer Säuerung bedeutend verändern (Jodalbacid) oder freies Jod leicht abspalten (Jodalbin).

Tabelle III.

Hinzugefügte Jodlösung (3 : 1000) ccm	Jod pro 10 ccm Blutlösung (1 : 1000) mg/Liter	Versuch 272			Versuch 273			Versuch 274		
		Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von J	Differenz	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von J	Differenz	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von J	Differenz
2,00	6,00	—	—	—	—	—	—	13,0	0,0	13,0
1,50	4,50	10,3	1,2	9,1	11,0	1,6	9,4	13,0	0,5	12,5
1,00	3,00	10,3	2,9	7,4	11,0	4,1	6,9	13,0	1,7	11,3
0,75	2,25	10,3	5,9	4,4	11,0	5,4	5,6	—	—	—
0,60	1,80	10,3	—	—	—	—	—	—	—	—
0,50	1,50	9,2	7,8	1,4	11,0	8,8	2,2	12,3	5,9	6,4
0,40	1,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,25	0,75	—	—	—	—	—	—	12,3	8,8	3,5
0,20	0,60	9,2	8,5	0,7	11,0	9,8	1,2	—	—	—
0,10	0,30	9,2	8,8	0,4	11,0	10,5	0,5	—	—	—
0,05	0,15	—	—	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾ L. Pincussen (*Seligsohn*), diese Zeitschr. 168, 467.

Tabelle III (Fortsetzung).

Hirnsgefäßige Jodlösung (3:1000)	Jod pro 10 ccm Blutlösung (1:1000)	Versuch 275			Versuch 276			Versuch 277		
		Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Differenz	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Differenz	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkung von JK	Differenz
ccm	mg/Liter									
2,00	6,00	13,5	0,4	13,1	10,0	0,5	9,5	—	—	—
1,50	4,50	13,5	0,9	12,6	10,0	0,8	9,2	14,2	0,5	13,7
1,00	3,00	13,5	2,0	11,5	—	—	—	14,2	1,2	13,0
0,75	2,25	—	—	—	10,0	2,2	7,8	14,2	2,3	11,9
0,60	1,80	—	—	—	—	—	—	14,2	4,5	9,7
0,50	1,50	12,8	6,2	6,6	10,0	5,4	4,6	—	—	—
0,40	1,20	—	—	—	10,0	6,5	3,5	14,2	6,8	7,4
0,25	0,75	12,8	9,8	3,0	—	—	—	—	—	—
0,20	0,60	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,10	0,30	12,8	12,0	0,8	—	—	—	—	—	—
0,05	0,15	—	—	—	10,0	19,9	0,1	14,2	12,9	1,3

Wir stellten uns Jodprotein durch Jodierung von Kaninchen-serum nach einer kombinierten Methode (*Pincus* und *Hopkins* und *Blum* und *Vaubel*) her; es enthielt 12 Proz. gebundenes Jod. Verschiedene Mengen dieses Präparats wurden direkt in die Inkubationskölbchen gegeben. Vor der Bestimmung der Katalase wurde filtriert oder zentrifugiert. Wie die Tabelle IV zeigt, beeinflußt auch Jodprotein die Katalase negativ.

Wir konnten leider keine gleichmäßigen Zahlen bekommen, da das Pulver schlecht von der Blutlösung benetzt wird und deswegen darin schlecht verteilt wird; wie die Tabelle zeigt, wurden verschiedene Arten der Einführung des Präparats versucht. Jedenfalls ist die Wirkung nicht auf eventuell sich abspaltendes Jod zu beziehen, da das Präparat weder freies Jod enthält, noch solches in der Blutlösung abspaltet. Kontrollversuche mit durch Alkohol aus Serum ausgefallenen Proteinen zeigten in denselben Gaben keinerlei Veränderung des Katalaseindex.

Zum Schluß wurden auch verschiedene eiweißfreie injizierbare Schilddrüsenpräparate geprüft; es wurde bis zu 10 Proz. einer 10proz. Lösung wasserlöslicher aktiver Trockenpräparate zu Blutlösungen 1:1000 hinzugegeben; in keinem Falle konnte auch nur irgend eine Beeinflussung des Katalaseindex festgestellt werden.

Somit sehen wir, daß *in vitro* bei unmittelbarer Einwirkung von Jod als JK, J in JK, Jodprotein und Schilddrüsenextrakt — bei den gegebenen Versuchsbedingungen unter annähernd physiologischen Bedingungen — nur das Jodion und der Schilddrüsenextrakt die Katalase

Tabelle IV.

Versuch 293 *)					Versuch 294 **)				
Dosis ccm	mg/Ltr. Jod pro 10 ccm Blut- lösung (1:1000)	Anfäng- licher Kata- lase- index	Katalaseindex nach Ein- wirkung von Jodprotein	Diffe- renz	Dosis ccm	mg/Ltr. Jod pro 10 ccm Blut- lösung	Anfäng- licher Kata- lase- index	Katalaseindex nach Ein- wirkung von Jodprotein	Diffe- renz
0,0500	6,0	12,5	7,1	5,4	0,0394	5,0	12,5	11,2	1,3
0,0375	4,2	12,5	8,4	4,1	0,0185	2,0	12,5	11,5	1,0
0,0250	3,0	12,5	10,1	2,4	0,0016	1,7	12,5	12,2	0,3
0,0129	1,6	12,5	11,3	1,2					
0,0076	0,7	12,5	12,5	0					

Versuch 297 ***)				Versuch 298 ***)				Versuch 299 ***)			
Dosis ccm	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkg. von Jodprotein	Diffe- renz	Dosis ccm	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkg. von Jodprotein	Diffe- renz	Dosis ccm	Anfänglicher Katalaseindex	Katalaseindex nach Einwirkg. von Jodprotein	Diffe- renz
2,0	15,9	14,5	1,4	2,0	11,6	10,3	1,3	3,0	11,8	8,9	2,9
1,0	15,9	15,0	0,9	1,5	11,6	10,5	1,1	2,0	11,8	11,0	0,8
0,1	15,9	15,8	0,1	0,5	11,6	10,9	0,7	0,5	11,8	11,8	0

*) Die Blutlösung wird zum trockenen Pulver gegossen. Nach 30 Minuten im Thermostat — Zentrifugieren. Der unbenähte Anteil blieb auf der Oberfläche.

**) Das Präparat wurde in die Blutlösung geschüttet. Dieses erwies sich als die schlechteste Methode. Das Pulver blieb unbenäht.

***) Das abgewogene Pulver (0,3482 g) wurde im Mörser mit Wasser verrieben. Die Aufschwemmung wurde auf 25 ccm aufgefüllt. Zum Versuch wurde die Aufschwemmung pipettiert.

nicht beeinflussen. Jod und Jodprotein hemmen in verschiedenem Ausmaße.

Die gelegentlich beobachtete Erhöhung des Katalaseindex bei Einverleibung von Schilddrüse und dessen Sturz nach Schilddrüsenextirpation (s. Kapitel II) ist somit wohl nicht von einer Anreicherung bzw. Verarmung des Organismus an Jod oder von einer Lädierung des Apparats, der die Anreicherung und Abgabe der Jodkomponente der Drüse reguliert, abhängig. Andererseits zeigte *A. Strauss* (l. c.), daß die Fütterung mit JNa ebenso zur Erhöhung des Katalaseindex führt wie die Fütterung mit Schilddrüse.

Wir haben keine Ursache, zu glauben, daß eingeführtes JNa im Organismus zu J in größerer Maßgabe oxydiert wird, aber in der Drüse selbst, intracellulär, ist ein solcher Vorgang nicht nur möglich, sondern auch wahrscheinlich, denn die Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit durch Jodalkalien ist bekannt, und dieses hängt doch wohl mit einer Jodierung zusammen. Wir haben versucht, durch in-vivo-Versuche der Frage näher beizukommen.

II. In-vivo-Versuche.

Schon *Winternitz* und *Pratt*¹⁾ studierten die Beziehung zwischen Schilddrüsenfunktion und Katalasegehalt von Blut und Organen und fanden, daß die Exstirpation der Thyreoidea zur Verarmung des Blutes an Katalase führt; eine durch Schilddrüsenfütterung umkehrbare Erscheinung. Ungefähr zu demselben Ergebnis kam *Juschenko*²⁾, welcher feststellte, daß nur die per-os-Fütterung mit Drüsensubstanz den Blutkatalaseindex steigert, subkutane Einverleibung tut es nicht. In letzter Zeit berichteten *A. Bach* und *Cheraskowa*³⁾ und *A. Bach* und *Scharpenak*⁴⁾ über entsprechende Versuche. Andererseits hat *A. Strauss* (l. c.) mit einiger Wahrscheinlichkeit zeigen können, daß längere Fütterung mit JK dasselbe Ergebnis zeitigt wie die Schilddrüse in den Versuchen von *Winternitz* und *Pratt* und *Juschenko*. Gerade *Strauss* glaubt auch, daß nicht JK als solches das Ferment beeinflusst, sondern auf dem Umwege einer Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit.

Wenn wir früher feststellen konnten, daß weder Jodpräparate noch Jod die Katalasetätigkeit zu fördern imstande sind und wir andererseits eine beliebige, aber konstante Beziehung zwischen Schilddrüsenfunktion und Katalase feststellen könnten, so wäre vielleicht ein Weg zur Klärung der Katalasefunktion betreten; vor allen Dingen wäre nachzusehen, ob Eiweißstoffwechsel irgendwie mit der Katalase zusammenhängt oder eventuell andere Funktionsveränderungen, die mit veränderter Schilddrüsentätigkeit einhergehen.

Wir stellten uns somit einerseits die Aufgabe, zu studieren, inwieweit längere Einverleibung von Jodion, Jod und Jodpräparaten den Katalaseindex beeinflussen, und andererseits vielleicht den Mechanismus einer solchen eventuellen Beeinflussung zu klären, soweit er selbst mit der Schilddrüsentätigkeit zusammenhängt. Wir bedienten uns derselben Versuchsanordnung zur Bestimmung der Blutkatalase (Kapitel I). Zum Versuch gelangten ausgewachsene Kaninchen von etwa 2 kg Gewicht, beinahe ausschließlich Männchen, bei denen vor Beginn des eigentlichen Experiments bei konstantem Regime im Verlauf von ungefähr 2 Wochen die Blutkatalase bestimmt wurde. Große Schwankungen wurden nicht beobachtet; das Mittel aus den Bestimmungen wurde als Anfangswert berechnet (Ausgangspunkt der Kurven).

Die subkutanen Einspritzungen wurden täglich im Verlauf einiger Monate vorgenommen (1 cm 0,2proz. JK und 1,1 mg J in 1 ccm 0,2proz. JK), die Katalasemessung geschah alle 3 bis 4 Tage, Unterbrechungen

¹⁾ *Winternitz* und *Pratt*, Journ. of exper. Med. 12, 115, 1910; Zentralbl. Bioch. 10, 1899.

²⁾ *Juschenko*, Zeitschr. f. phys. Chem. 75, 141, 1911; Arch. biol. P. I. E. M. 16, 58 (russisch).

³⁾ *Bach* und *Cheraskowa*, Diese Zeitschr. 148, 474, 1924.

⁴⁾ *Bach* und *Scharpenak*, Ber. d. Staatl. Forschungsinstituts des Kommiss. f. Gesundheitswesen (russisch), S. 223. Moskau 1924.

in den Kurven bedeuten Ausfall wie der Injektionen, so auch der Fermentbestimmung. Es waren immer drei bis vier Tiere auf einmal

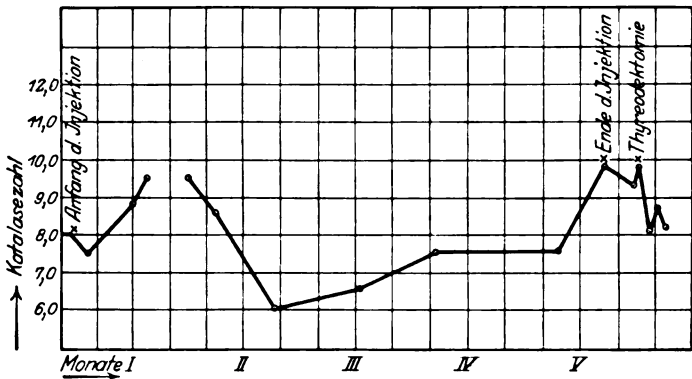


Abb. 1.

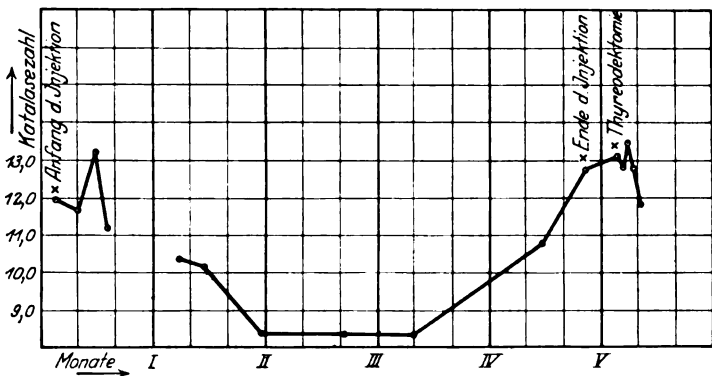


Abb. 2.

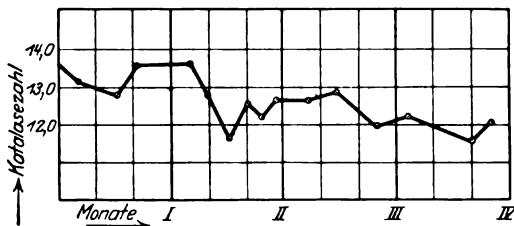


Abb. 3.

im Versuch, zwecks Raumersparnis führen wir nur je eine Kurve für JK (Abb. 1) und J (Abb. 2) an; die Versuche verliefen gleichbedeutend. Zum Vergleich geben wir in Abb. 3 die Veränderungen der Katalasezahl

in derselben Periode bei einem unbehandelten Tier wieder. Es ist vielleicht gerade sehr wichtig, die Kontrolle während derselben Jahresperiode durchzuführen. Wir sehen, daß die „Kontrolle“ nicht geringen Schwankungen unterworfen ist (bis zu 14 Proz.), und doch ist der Unterschied zwischen Kontrolle und Versuch ganz augenscheinlich (und in allen von uns durchgeführten Versuchen gleichsinnig): wie J so auch JK geben nach einer längeren Depressionsperiode einen bedeutenden Anstieg des Katalasewerts, der bei einigen unserer Versuche (J) bei sehr hoher Katalasezahl zum Tode führte. In Abb. 1 ist auch zu sehen, wie nach Schilddrüsenfütterung die Katalasezahl sofort herunterging.

Bei kurz dauernden Versuchen von 2 bis 3 Monaten bei Bestimmung der Katalasezahl alle 2 Tage erhielten wir ein ähnliches Bild; es traten Tagesschwankungen mehr hervor. Bei JK konnte im Verlauf von 2 Monaten keine, bei J-Injektionen aber eine deutliche Anstiegstendenz registriert werden.

Ganz ausnahmslos war auch immer ein kleiner und kurzer Anstieg gleich nach Beginn der Injektionen.

Nach diesen kurzdauernden Versuchen wurden den Tieren die Schilddrüsen rein entfernt (Abb. 4 nach JK-Injektion, Abb. 5 nach

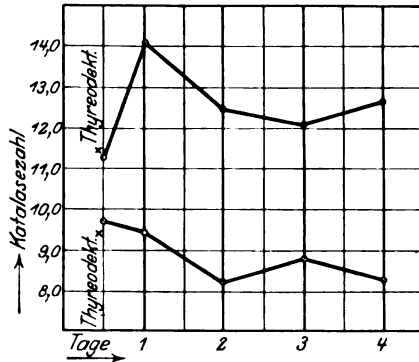


Abb. 4.

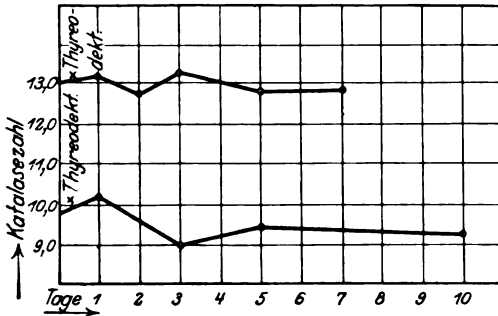


Abb. 5.

J-Injektion), Abb. 6 zeigt den Verlauf nach Thyreodektomie eines unvorbehandelten Tieres. In allen Fällen, besonders nach JK-Vorbehandlung, ist eine mehr oder weniger ausgesprochene Tendenz einer *Abschwächung* der Katalasetätigkeit sichtbar; jedenfalls kein Anstieg, den wir bei J- und JK-Vorbehandlung beobachteten.

Wir prüften weiter, ob Schilddrüsenfütterung zu einer Veränderung der Katalasezahl führt. Es war hier längere Fütterung mit sehr geringen Gaben nicht am Platze, denn es mußte ein ausgesprochenes

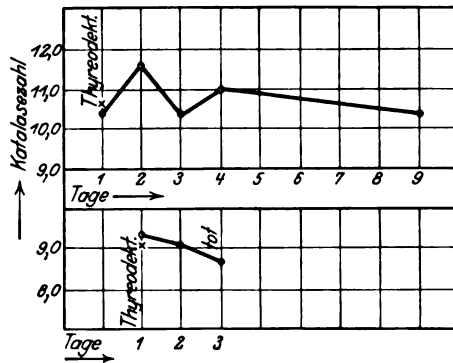


Abb. 6.

Bild einer scharfen Schilddrüsenwirkung erhalten werden. Mittels einer Schlundsonde wurde Kaninchen täglich je 0,3 g Thyreoidin (russisches Präparat) in 1 cm Wasser eingeführt. Die Resultate sind aus der Tabelle V zu ersehen.

Tabelle V.

Kaninchen P			Kaninchen K		
Tag der Fütterung	Gewicht	Katalasezahl	Tag der Fütterung	Gewicht	Katalasezahl
1.	1300	13,3	1.	1800	10,8
2.	1300	14,6	2.	1800	11,7
3.	1150	15,0	3.	1650	12,4
4.	1100	13,9	4.	1550	10,2

In beiden Fällen ist anfänglich ein *Anstieg* der Katalasezahl zu beobachten, in beiden Fällen beginnt am vierten Tage ein Abfall. Wir vermuteten, daß die Katalasezahlen eventuell sich unter zwei Einwirkungen summieren: 1. Anstieg durch spezifische Schilddrüsenwirkung. 2. Sturz durch sekundäre Erscheinungen wie Gewichtsverlust, schlechte Eßlust usw. Dieses wurde auch einigermaßen durch einen Hungerversuch bekräftigt. Wir untersuchten die Katalasezahl bei zwei hungernden Tieren und fanden, daß vom ersten bis zum fünften Hungertag, bei einem Gewichtsverlust von 10 bis 15 Proz., die Katalasezahl um etwa 25 Proz. sinkt (entgegen den Befunden von *Strauss*, l. c.). Dieses läßt vermuten, daß bei Schilddrüsenfütterung die eigentliche

spezifische Wirkung, die zum Anstieg der Katalasetätigkeit führt noch durch sekundäre hemmende Momente verdeckt wird.

Zum Schluß sei noch ein Versuch von Schilddrüsenverfütterung einem schilddrüsenlosen Tier angeführt (Abb. 7). Die Abbildung läßt keine Zweifel, daß Thyreodektomie und Schilddrüsenfütterung gegenteilig die Katalase des Blutes beeinflussen.

Summieren wir nochmals alle unsere Befunde, so müssen wir finden, daß ein Zusammenhang zwischen Schilddrüsenfunktion und Katalaseaktivität des Blutes besteht. Dieses ist keine direkte Wirkung, denn J, Jodion, Jodprotein und aktives Schilddrüsenpräparat steigern *in vitro* nicht die Katalaseaktivität. Dagegen wird die Katalase durch Schilddrüsenfütterung oder durch längere J- und JK-Vorbehandlung der Kaninchen aktiviert (oder mobilisiert). Dieses unterstreicht auch nochmals die Anfachung der Schilddrüsentätigkeit durch Jodgaben.

Im übrigen ist durch unsere Versuche die Rolle der Katalase nicht näher erforscht. Braucht der Organismus mehr Katalase, weil erhöhter Eiweißumsatz beginnt, oder weil Fetttransport stattfindet, oder durch sekundär eintretende Störungen der Funktion anderer Drüsen? Der Weg, diesen Fragen näher nachzugehen, scheint uns aber gegeben. Die durch gestörte Schilddrüsentätigkeit eintretenden bekannten Erscheinungen müßten auf andere Art einzeln experimentell geschaffen und die Katalaseaktivität des Blutes dabei studiert werden.

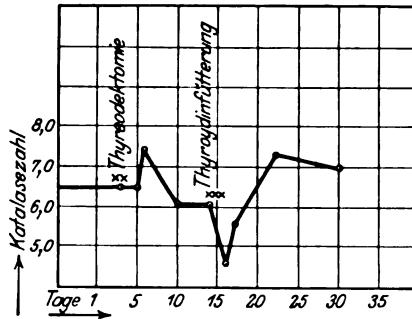


Abb. 7.

Über das glykolytische Vermögen zellfreier Extrakte aus Tumoren und anderen Geweben.

Von

Nikolaus Alders, Hermann Chiari und Daniel Laszlo.

(Aus der Abteilung für physiologische Chemie im Wiener physiologischen Universitätsinstitut und dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität Wien.)

(Ausgeführt mit Unterstützung der „Seegenstiftung“ der Akademie der Wissenschaften in Wien.)

(Eingegangen am 23. Oktober 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

1. Einleitung und Fragestellung.

In Fortführung von Untersuchungen über die *Glykolyse* von Tumoren und anderen Geweben, die im erstgenannten Institute im Gange sind¹⁾, hat der eine von uns zusammen mit den Obengenannten die Frage aufgeworfen, *ob und wie das glykolytische Prinzip von der Zelle abtrennbar sei.*

Über die Möglichkeit, *zellfreie glykolysierende Gewebefiltrate* herzustellen, finden sich in der Literatur widersprechende Angaben. Wohl beschreiben einige Autoren [*Stoklasa*²⁾, *Ransom*³⁾] Verschwinden von Zucker bei Auftreten von Alkohol und Kohlensäure in zellfreien Filtraten aus tierischen und pflanzlichen Geweben selbst nach recht grober mechanischer Schädigung derselben und unter Verwendung von Antiseptics. Doch stehen diesen Befunden eine Anzahl absolut widersprechender Ergebnisse gegenüber. Wurden früher bakterielle Zersetzungen für die Resultate der genannten Autoren verantwortlich gemacht, so kann man heute auch gegen die Verwendung von Antiseptics bei Glykolyseversuchen Einwand erheben. Ferner ist die Labilität des glykolysierenden Prinzips gegen mechanische und ther-

¹⁾ Vgl. *Dische* und *Laszlo*, diese Zeitschr. **175**, 412, 1926.

²⁾ *Stoklasa*, Alkoholische Gärung im Tierkörper. *Pflügers Arch.* **101**, 311; *Zentralbl. f. Phys.* **18**, 25; *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **38**, 664.

³⁾ *Ransom*, A contr. to the study of muscle enz., *Journ. of Phys.* **40**, 1, 1910.

mische Insulte sowie gegen geringfügige chemische Milieuänderungen erwiesen. So bedingt mechanische Schädigung (Zerreiben oder gar Auspressen) eines selbst stark glykolysierenden Gewebes ein bedeutendes Absinken seiner zuckerspaltenden Fähigkeit¹⁾2). Ferner bewirkt — ganz abgesehen von *größeren* chemischen Einwirkungen — selbst eine geringgradige Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration der das Gewebe umspülenden Flüssigkeit gegen die saure Seite³⁾ hin oder eine minimale Änderung ihrer chemischen Zusammensetzung⁴⁾ ebenfalls eine Schwächung seines glykolytischen Vermögens. Über die Hemmung der Glykolyse durch Antiseptica verweisen wir auf die Arbeiten *O. Warburgs*.

Auf Grund dieser Literaturangaben mußten wir einerseits das zum Versuch gelangende Gewebe mit möglichster Schonung seiner Vitalität und glykolytischen Fähigkeit behandeln und andererseits ohne Verwendung antiseptischer Mittel keimfreie Filtrate herstellen.

Nach neueren Untersuchungen besitzen zwar wohl alle Gewebe in mehr oder minder hohem Grade die Fähigkeit, Kohlehydrate abzubauen, doch wählten wir zur Beantwortung unserer Frage Gewebsarten, die als solche schon ein relativ hohes glykolytisches Vermögen besitzen. Mußten wir doch mit der Möglichkeit rechnen, in unseren Filtraten — wenn überhaupt — nur einen *kleinen Teil* des gesamten glykolytischen Vermögens des untersuchten Gewebes vorzufinden. Von diesem Gesichtspunkt ausgehend, wählten wir für unsere Versuche vor allem *Tumorgewebe*, in zweiter Linie *Nieren*, und als Vergleichsobjekt das relativ wenig glykolysierende *Lebergewebe*. Des weiteren haben wir auch *Muskelgewebe* zur Untersuchung herangezogen, allerdings in der Erkenntnis, daß das zuckerspaltende Vermögen des Muskelgewebes möglicherweise mit dem der genannten Organe nicht in Parallele zu setzen ist. *Wir wollen vor der Hand unter Glykolyse das Verschwinden von Kohlehydraten verstehen.*

Unsere auf Muskeln bezüglichen Resultate bilden wohl eine Ergänzung der positiven Ergebnisse *Meyerhofs*⁵⁾, die erst nach Beendigung unserer Versuche zu unserer Kenntnis gelangt sind.

2. Methodik.

a) Prinzip.

Unsere Versuchsanordnung war im Prinzip folgende: Wir stellten eine Suspension von entsprechend vorbehandeltem glykolysierenden

¹⁾ Vgl. *O. Warburg* und *Minami*, diese Zeitschr. **142**, 316, 334.

²⁾ *Russel* und *Gye*, Brit. Journ. of exper. Pathol. I, Nr. 4, 1920.

³⁾ *Rona* und *Wilenko*, diese Zeitschr. **62**, 1, 1914.

⁴⁾ *N. Watermann*, Nederlandsch Tyjdschr. v. Geneesk. **69**, 577, 1925; *Ronas* Ber. **33**, 845.

⁵⁾ *Meyerhof*, Naturwissensch. **14**, 196, 1926; C. 1926, I, 2809.

Gewebe in einer zuckerhaltigen „Ringerschen Lösung“ her und versuchten, das glykolytische Prinzip durch Schütteln bei Brutofentemperatur aus dem Gewebe in die „Ringerlösung“ zu überführen. Aus dieser Gewebs-Ringer-Suspension gewannen wir darauf ein zell- und bakterienfreies Filtrat und untersuchten es auf sein glykolytisches Vermögen.

b) *Behandlung des Gewebes.*

Wie schon eingangs erwähnt, mußten wir das zur Untersuchung gelangende Gewebe derart behandeln, daß seine Vitalität, vor allem sein glykolytisches Vermögen möglichst wenig herabgesetzt wurde. Hier hielten wir uns aus den bei *Dische* und *Laszlo* (l. c.) ausführlich erörterten Gründen an die daselbst angegebene Methodik.

Das zum Versuch zu verwendende Gewebe wurde sofort nach Köpfen und Ausblutenlassen des Tieres — ohne Beachtung aseptischer Kautelen — mit einer kleinen Schere dem Tiere entnommen. Darauf wurde es in ein etwa 30 ccm fassendes, mit eingeschliffenem Stöpsel verschließbares, vorher gewogenes Glasgefäß gebracht und daselbst mit einer feinen Schere so weit zerkleinert, daß es einen homogenen Brei bildete; das Gefäß wurde neuerdings samt Inhalt gewogen und aus der Differenz beider Wägungen das Gewicht des Gewebes festgestellt. Wir verwendeten für unsere Versuche mindestens je 0,6 g Gewebe.

c) *Extraktion.*

Dem derartig zerkleinerten Gewebe setzten wir — 5 bis 10 Minuten nach dem Töten des Tieres — die 10- bis 20fache Menge einer glucosehaltigen¹⁾ „Ringer“lösung zu.

Die Wasserstoffionenkonzentration unseres „Ringers“ entsprach zu Beginn der Versuche einem p_H von etwa 7,8. Die während eines Versuchs gebildeten Milchsäuremengen konnten, auch bei Versuchen mit starker Glykolyse, die Alkaleszenz des „Ringers“ nicht unter die des Blutes herunterdrücken.

Die Glucosekonzentration des verwendeten „Ringers“ betrug in den meisten Fällen 100, in einigen Fällen 150 mg-Proz. Wie *O. Warburg* nachgewiesen hat, zeigt nämlich die Glykolyse bei dieser Glucosekonzentration, die sich übrigens durch Verzuckerung von Gewebsglykogen um einiges erhöht, nahezu das Maximum.

Die übrige Zusammensetzung des verwendeten „Ringers“ entsprach vollkommen der von *Dische* und *Laszlo* beschriebenen.

¹⁾ Wir verwendeten einen im Vakuum getrockneten Traubenzucker (*Kahlbaum*), der analytisch eingewogen wurde.

Diese Gewebs-, „Ringer“-Suspension erhielten wir nun 1 Stunde lang im Brutofen bei 39° C in mäßig starker Bewegung. Dazu diente uns ein an genannter Stelle beschriebener Schüttelapparat.

Diese — im folgenden als „Vorschüttelung“ bezeichnete — Schüttelung des Gewebebreies in zuckerhaltiger „Ringerlösung“ bei Brutofentemperatur sollte zur Extraktion des glykolytischen Prinzips aus den Zellen in die umgebende Flüssigkeit dienen.

Bis jetzt wurde auf Wahrung der Sterilität keine Rücksicht genommen.

d) Filtration.

Zur Herstellung eines zell- und keimfreien Filtrats verwendeten wir einen *Filtrierapparat*, dessen Konstruktion folgende ist:

Der Apparat (vgl. Abbildung) besteht aus einem oberen Anteil, der der Filtration dient, und einem unteren, in dem das Filtrat steril aufbewahrt und dem Teile desselben für chemische und bakteriologische Untersuchungen steril entnommen werden können. Beide Teile sind durch einen gut dichtenden Schliff (a) miteinander verbunden und werden durch Spiralfedern aneinandergepreßt. Der *Oberteil* besteht aus einem bis 15 ccm graduierten Glasrohre (der Nullpunkt der Einteilung liegt bei dem dem Unterteil angehörigen Hahne c), das oben eine zur Aufnahme der Chamberlandkerze K dienende Erweiterung trägt. Der Oberteil besitzt ein Ansatzrohr (b) zum Anschluß an eine Vakuumpumpe. Der Flansch der Filterkerze und der obere Rand des Apparats sind durch eine gut anliegende Gummimanchette miteinander verbunden; das periphere Ende des Ansatzrohres (b) ist mit Watte gefüllt.

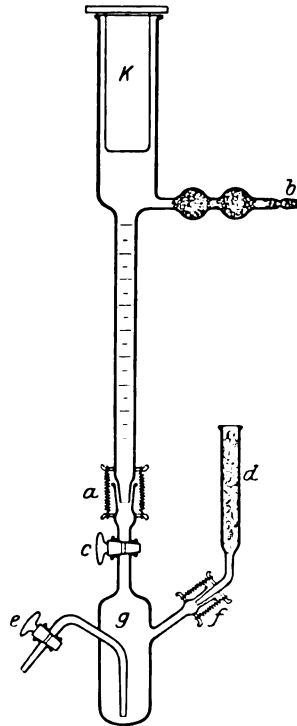


Abb. 1.

Der *Unterteil* des Apparats ist ein etwa 20 ccm fassendes zylindrisches Glasgefäß, das nach oben durch den eingeschliffenen Hahn c verschließbar ist.

Seitlich befindet sich ein schief ansteigendes Ansatzrohr, an das sich ein mittels eines Schliffes und zweier Drahtspiralen verbundenes, winkelig abgelenktes Rohr (d) anschließt; dieses ist mit Watte gefüllt. In das Gefäß (g) taucht fast bis zum Boden ein dünnes Glasröhrchen ein, das nach außen mündet und durch den Hahn e verschließbar ist.

Der Apparat wurde vor jedem Versuche, nachdem alle seine Schiffe und (offenen) Hähne, sowie sein oberes, die Filterkerze enthaltendes Ende sorgfältig mit Zellstoff umwickelt worden war, bei $2\frac{1}{2}$ Atm. Druck $1\frac{1}{2}$ Stunden lang im Sterilisator *sterilisiert*.

Nach Entnahme des Apparats aus dem Sterilisator wurden die Hähne geschlossen und der Apparat vollständig auskühlen gelassen. Darauf befestigten wir die Vorrichtung an einem Stativ und verbanden sie am Ansatzrohre *b* mit einer Wasserstrahlluftpumpe. Durch das nun entstehende Vakuum wurde die Kerze vermittelst der beschriebenen Gummimanchette an den eigentlichen Apparat angepreßt.

Nach Entfernung der die Kerze nach oben verschließenden Zellstoffumhüllung erfolgte die *Filtration* der Gewebs-, „Ringer“-Suspension. (Natürlich mußte am Ende der einstündigen „Vorschüttelung“ des Gewebes der Apparat zur Filtration schon bereit sein.)

Das *Filtrat* war, je nach dem zur Untersuchung gelangten Organe, hellgelb bis farblos, stets klar. Seine Menge betrug 5 bis 15 ccm, die Filtration dauerte bei gut filtrierenden, erst wenige Male verwendeten Kerzen 2 bis 5 Minuten, bei länger im Gebrauch stehenden Kerzen etwas länger.

War die zum Versuch benötigte Filtratmenge, deren Volumen an der beschriebenen Graduierung abzulesen war, erhalten, so wurde der Schlauch der Vakuumpumpe abgezogen und durch Öffnung des Hahnes *c* die Flüssigkeit aus dem Oberteile des Apparats in das Kölbchen *g* abgelassen. Darauf wurde der Hahn *c* wieder geschlossen und der Oberteil des Apparats vom Unterteil abgehoben. Auf diese Weise konnten wir — ohne das Apparatsystem öffnen zu müssen — das zell- und bakterienfreie Filtrat in das handliche, vollkommen abgeschlossene Kölbchen *g* überführen.

Die unserer chemischen Untersuchung dienenden Flüssigkeitsmengen wurden dem Apparate folgendermaßen entnommen: An das — wie beschrieben mit sterilisierter Watte erfüllte — Glasrohr *d* wurde ein kleines Handgebläse angesetzt, der Hahn *e* geöffnet und mittels des durch das Gebläse erzeugten geringen Überdruckes etwas Flüssigkeit durch das Ausflußrohr austropfen gelassen, worauf der Hahn *e* sofort wieder geschlossen wurde. Die *ersten* ausfließenden Tropfen kamen nicht zur Verwendung, während die folgenden in einer absolut trockenen, reinen Eprouvette aufgefangen wurden. Auf diese Weise konnten wir dem Kölbchen Flüssigkeit entnehmen, ohne den in ihm verbleibenden Rest den Luftkeimen aussetzen zu müssen¹⁾. Die der

¹⁾ Durch Anbringung einer entsprechenden, *abbrennbaren* Metallschutzvorrichtung am Ausflußrohre des Apparats können in dem Kölbchen *g* Flüssigkeiten *auch längere Zeit* aufbewahrt und aus ihm erwünschte Mengen steril ausgepumpt werden.

Gesamtkohlehydrat-(G. K. H.)-bestimmung dienende, *sofort anschließende* Behandlung der entnommenen Probe wird weiter unten besprochen.

e) Verfolgung der Veränderung des Kohlehydratgehalts des Filtrats.

Nun ließen wir das Kölbchen im Brutofen bei 39° C durch die Schüttelapparatur *ganz sanft* schütteln („Nachschüttelung“). Je nach dem Versuche wurden nach 1, 2, 3 usw. Stunden dem Kölbchen auf die eben beschriebene Weise Flüssigkeitsmengen entnommen und in ihr die G. K. H. bestimmt.

f) Bakteriologische Prüfung des Filtrats.

Nach Beendigung des Versuchs wurde der restliche Kolbeninhalt auf seine Sterilität geprüft. Die Zellstoffumhüllung des Schliffes *f* wurde gelöst, das Röhrchen *d* abgenommen, das Ende des Ansatzrohres abgebrannt, mittels einer sterilen Kapillare Kolbeninhalt nach den üblichen bakteriologischen Prinzipien entnommen und auf folgenden Nährböden 3 bis 10 Tage lang bebrütet:

1. Bouillon, aerob.
2. Zuckerbouillon, aerob.
3. Zuckeragarplatte (Schüttelkultur), aerob.
4. Leberbouillon (bzw. Hirnbrei), anaerob.

In 12 Fällen war der Inhalt der Kölbchen verunreinigt. Zumeist handelte es sich um *Staphylokokkus albus*; einmal um einen Schimmelpilz und zweimal um das *Bact. faecale alcaligenes*.

Bei strikter Einhaltung der hier angegebenen wenigen Manipulationen und bei einiger Übung gelingt es mit hoher Wahrscheinlichkeit, sterile Filtrate zu bekommen und sie während der Versuchsdauer steril zu erhalten.

g) Gesamtkohlehydratbestimmung.

Als Maß einer eventuell stattgefundenen Glykolyse verwendeten wir die Abnahme der G. K. H. im Filtrate. Wir bestimmten die G. K. H. nach der von *Dische* und *Popper*¹⁾ ausgearbeiteten kolorimetrischen Methode in folgender Weise:

Von der dem Apparate wie oben beschrieben entnommenen Flüssigkeit pipettierten wir *sofort nach der Entnahme* aus dem Kölbchen *g* mittels einer in hundertstel Kubikzentimeter eingeteilten, peinlich trockenen Pipette 1 ccm in eine Eprouvette, setzten 4 ccm destilliertes Wasser und 1,3 ccm HCl (10proz.) zu, wodurch die HCl-Konzentration in der Eprouvette 2,2 Proz. betrug. *Durch den Säurezusatz wurde jegliche*

¹⁾ Diese Zeitschr. 175, 371, 1926.

weitere Glykolyse unterbrochen. Die Hydrolyse und der kolorimetrische Vergleich sämtlicher einem Versuch angehöriger Proben erfolgte gleichzeitig und unter denselben Modalitäten.

Das *Prinzip* dieser G. K. H.-Bestimmung beruht auf dem Auftreten einer braunen Färbung, die sämtliche Kohlehydrate, nicht aber andere reduzierende Substanzen, beim Erhitzen mit Indol und starker H_2SO_4 geben.

In der unmittelbar *nach Beendigung der Filtration* abgenommenen Probe (stets als *Probe a* bezeichnet) bestimmten wir den Ausgangskohlehydratgehalt im Filtrat; *jegliche Abschwächung des Farbwertes der weiterhin abgenommenen Proben gegen den der Probe a bewies eine stattgehabe Glykolyse.* Die später abgenommenen Proben bezeichneten wir als *Probe b, c* usw.

Zur Feststellung des *absoluten* G. K. H.-Gehalts der Probe a, auf dessen Bedeutung wir weiter unten zurückkommen werden, entnahmen wir dem zum Versuch verwendeten „Ringer“ 1 ccm und behandelten ihn ebenso wie die *anderen* Proben.

Mit Hinblick auf die zu erwartende *Labilität* des extrahierten glykolytischen Prinzips war bei allen beschriebenen Manipulationen möglichst *rasches Arbeiten* erforderlich.

8. Versuchsergebnisse.

a) *Über das glykolytische Vermögen zellfreier Filtrate aus Mäusetumoren.*

Zur Verwendung gelangten in der Mehrzahl der Fälle *Mäusecarcinome*, fortgeimpft aus dem *Ehrlichschen Stamme*, in einigen Fällen kamen *Mäusesarkome* zu Untersuchung.

Die Tumoren wurden 11 bis 16 Tage nach der Überimpfung den Tieren entnommen. Was die *Malignität* der Geschwülste anbelangt, so ist zu bemerken, daß sie nach 7 Tagen deutlich nachweisbar, nach 15 bis 16 Tagen gewöhnlich schon exulzeriert, häufig nekrotisch, die Tumorträger hinfällig waren.

Zum Versuch gelangten natürlich nach Möglichkeit nur nicht nekrotische Gewebsteile, wobei wir schon hier vorausschicken wollen, daß eine *absolut* reinliche Trennung zwischen nekrotischen und nicht nekrotischen Tumorteilen kaum durchführbar ist. Geringe Beimengungen nekrotischer Gewebspartikel machen sich in den Resultaten selbstverständlich bemerkbar.

Die Versuchsergebnisse scheinen uns in Tabelle I wie in den folgenden Tabellen hinreichend übersichtlich dargestellt.

Zur *Kolonne 5* der Tabelle I sei bemerkt, daß die hier angeführten Prozentzahlen *weit außerhalb der Fehlergrenze* (± 3 Proz.) *der angewendeten Methodik* liegen und somit als Basis für die Berechnung der unter 8. und 9. angeführten Zahlen herangezogen werden können.

Durch Vergleich des G. K. H.-Gehalts der Ausgangsprobe a mit dem der aus der verwendeten „Ringerlösung“ bereiteten Standardprobe

Tabelle I. Kohlehydratabbau in Filtraten von Mäusetumoren.

1	2	3	4	5			6	7		8	9	10	11
				Kolorimetrisch ermittelte prozentuale Abnahme der Gesamt-KH im Filtrat gegenüber der Probe a				Ges.-KH-Gehalt, bezogen auf die (unter 4) vers. zehnte „Ringermenge“ in mg					
Protokoll-Nr.	Zeitdauer seit der Impfung	Gewicht des gewaschenen Gewebes	Menge des dem Gewebe zugesetzten „Ringers“	nach 1 Stde.	nach 2 Stdn.	nach 3 Stdn.	Im verwendeten „Ringers“ enthaltene Glucosemenge	in der Probe a	in der Probe b	mg	mg		
4	12	3,2	30	—	15,1	—	30	32,0	27,17	4,83	0,75	verunreinigt	2 Ca ₂ -Mäuse, Tumor z. Teil nekrotisch
5	12	3,2	30	—	25,4	—	30	41,0	30,59	10,41	1,63	steril	2 Ca ₂ -Mäuse, Tumor nicht nekrotisch
6	14	1,1	20	—	15,8	—	20	16,7	14,06	2,64	1,20	verunreinigt	3 Ca ₂ -Mäuse, Tumor zum Teil nekrotisch-Parallelversuche: Nr. 6 wurde 1 Stde., Nr. 7 2 Stdn. lang extrahiert
7	14	1,1	20	—	17,1	—	20	14,1	11,69	2,41	1,10	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch
16	13	1,25	20	15,8	27,9	27,9	20	20,0	14,42	5,58	—	steril	2 Ca ₂ -Mäuse, der eine Tumor nicht, der zweite zum Teil nekrotisch
19	14	0,65	6	—	20,0	—	6	—	—	—	—	steril	2 Ca ₂ -Mäuse, Tumor stark nekrotisch
20	15	1,8	20	—	13,3	—	20	17,6	15,26	2,34	0,65	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch
22	15	1,4	20	—	19,6	—	20	27,8	22,35	5,45	1,94	verunreinigt	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch, auch nach 4 1/2 Stdn. keine Glykolyse
26	14	1,45	25	—	θ	—	25	20,8	20,80	θ	θ	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch
28	15	2,4	30	15,6	28,1	—	30	23,4	16,82	6,58	1,37	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch
30	11	1,8	30	—	19,2	—	30	23,4	18,91	4,49	1,25	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor exulceriert, zum Teil nekrotisch, Tier hinfällig
31	12	2,0	30	—	12,3	—	30	29,6	25,96	3,64	0,91	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor zum Teil nekrotisch, Tier hinfällig
32	12	2,6	20	11,6	22,9	—	20	23,1	17,81	5,29	1,0	steril	1 Ca ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch, „Vorschüttelung“ nur 1/2 Stunde
33	13	1,9	30	12,3	17,0	16,8	30	—	—	—	—	steril	2 Ca ₂ -Mäuse, Tumor exulceriert, zum Teil nekrotisch
34	15	1,6	30	7,7	15,8	—	30	23,4	19,70	3,70	1,16	steril	1 Sa ₂ -Maus, Tumor nicht nekrotisch
59	15	2,4	30	—	19,8	—	30	32,8	26,31	6,49	1,35	steril	1 Sa ₂ -Maus, Tumor zum größten Teile nekrotisch
63	15	2,7	30	—	θ	—	45	32,5	32,50	θ	θ	steril	1 Sa ₂ -Maus, Tumor zum größten Teile nekrotisch
64	16	2,5	30	—	17,9	—	45	50,6	41,54	9,06	1,81	steril	1 Sa ₂ -Maus, Tumor zum größten Teile nekrotisch
65	16	1,55	20	—	12,3	—	30	24,6	21,57	3,03	0,98	steril	1 Sa ₂ -Maus, Tumor zum größten Teile nekrotisch

stellten wir den *absoluten* G. K. H.-Gehalt der Probe a fest. Bezogen wir letzteren auf die gesamte zur „Vorschüttelung“ verwendete (in der Tabelle I unter 4. verzeichnete) „Ringermenge“, so gewannen wir gleichzeitig ein Bild über die Veränderung des Zuckergehalts der Gewebs-„Ringer“-Suspension während der „Vorschüttelung“; diese Veränderung ist einerseits *durch Abgabe eines Teiles der Gewebeskohlehydrate*, andererseits *durch Gewebsglykolyse* bedingt, also inkonstant als Resultierende zweier entgegengesetzt gerichteter Komponenten. Wir bezogen die in den Kolonnen 7 und 8 angeführten, errechneten Zahlen auf die gesamten dem Gewebe zugesetzten „Ringermengen“. Dies konnten wir deshalb tun, weil in einer *homogenen* Suspension sowohl der Gehalt an Kohlehydrat als auch der an eventuell extrahiertem glykolysierenden Agens als gleichmäßig verteilter betrachtet werden kann.

Die unter 9. verzeichneten Zahlen wurden folgendermaßen berechnet: Die — auf die ursprünglich verwendete „Ringermenge“ bezogene — Gesamtabnahme der Kohlehydrate im Filtrat (in der Kolonne 8 angeführt) wurde durch Gewebsgewicht (unter 3.) und Anzahl der Stunden der „Nachschüttelung“ (unter 5.) dividiert. Diese Zahl gibt ein Bild über die Menge des von den Zellen abgetrennten zucker-spaltenden Prinzips.

Von den 19 in der Tabelle I angeführten Versuchen¹⁾ ergeben 17 eine *Abnahme der G. K. H im Filtrat*, die sich *zwischen 12,3 und 28,1 Proz. (nach 2 Stunden)* bewegt. Aus den zwei negativen Fällen (Nr. 26 und 63), wie auch aus den in den weiteren Tabellen angeführten Fällen mangelnder Filtratglykolyse ist zu ersehen, daß sowohl unsere Methodik als auch die der G. K. H.-Bestimmung zuverlässige Werte ergibt. Die Fälle Nr. 19 und 33 wurden nicht auf *absolute* Kohlehydratmengen ausgewertet. Von den 15, in der Berechnung vollkommen durchgeführten positiven Versuchen ergibt sich als *Mittelwert für die Glykolyse des Filtrats eines Grammes Gewebes pro Stunde 1,29 mg.*

Aus Kolonne 5 ist ersichtlich, daß die Abnahme der G. K. H. im zellfreien Filtrate bei der von uns verwendeten Methodik *2 Stunden lang ungeschwächt* andauert; nach einer weiteren Versuchsstunde blieb hier, wie in weiter unten angeführten Versuchen der Kohlehydratgehalt des Filtrats konstant. Ein Vergleich der unter 9. angegebenen Zahlen mit den unter 11. verzeichneten Bemerkungen über den Zustand der verwendeten Tumoren lehrt, daß Fällen von relativ starker Filtratglykolyse im allgemeinen nicht nekrotische Tumoren entsprechen.

¹⁾ Hierzu kommen noch *fünf qualitative Vorversuche*, von denen drei eine Kohlehydratabnahme von 30 bzw. 15 bzw. 24,7 Proz. nach 2 Stunden im Filtrate ergaben, während zwei negativ ausfielen.

Was die Sterilität der Filtrate anbelangt, so finden wir letztere in sechs Fällen unsteril, ein Prozentsatz, welcher auf noch mangelnde Übung am Beginn unserer Arbeit zurückzuführen ist. (Auf die Möglichkeit bakterieller Zuckerspaltung bei zweistündiger Versuchsdauer werden wir noch zu sprechen kommen.)

Zusammenfassend läßt sich über diese Versuchsserie sagen, das zellfreie Filtrate von 17 (aus 19 untersuchten) Tumoren glykolytische Fähigkeit aufweisen.

b) Über das glykolytische Vermögen zellfreier Filtrate aus Rattenlebern.

Zur Verwendung gelangten Lebern von gesunden, teils normal ernährten, teils gehungerten Ratten.

Die Versuche dieser Reihe führen wir in der Tabelle II an.

Diese Tabelle wurde in derselben Weise wie die Tabelle I angelegt.

In keinem der neun untersuchten Fälle konnten wir eine Filtratglykolyse nachweisen. Dreimal (Nr. 1, 11, 70) fanden wir in der Probe b eine minimale Erhöhung (+ 3 Proz., + 2,2 Proz., + 2 Proz.) des G. K. H.-Gehalts gegen den der Probe a, was — mit Hinblick auf die Geringfügigkeit der Ausschläge — auf Versuchsfehler zurückzuführen ist. Ein Vergleich der Zahlen der Kolonne 4 und 5 zeigt, daß vom Lebergewebe verschieden hohe Kohlehydratmengen an das Filtrat abgegeben wurden (in einigen Fällen allerdings auffallend wenig). Doch ist der Kohlehydratgehalt in den Proben a keineswegs so hoch, daß eine wesentliche Abnahme des G. K. H.-Gehalts im Filtrat bei der Kolorimetrie hätte übersehen werden können. Auch in unsterilen Filtraten finden wir (einmal selbst nach 5½-stündiger Versuchsdauer) keine Glykolyse.

c) Glykolytisches Vermögen zellfreier Filtrate aus Rattennieren.

Wir untersuchten Nieren normal ernährter, gesunder Ratten.

Von der Anführung der absoluten Werte nehmen wir in dieser Versuchsreihe Abstand, möchten jedoch bemerken, daß die von einem von uns zusammen mit Z. Discbe (l. c.) gefundene starke Glykolyse des Nierengewebes in allen Versuchen deutlich zum Ausdruck kam, obwohl die Abgabe eines Teiles der Gewebs-K. H. an den „Ringer“ eine geringgradigere Glykolyse hätte verschleiern können.

Von den 12 Versuchen dieser Reihe (davon einer unsteril) zeigten acht eine Filtratglykolyse, die einem Kohlehydratabbau von 7,7 bis 33,6 Proz. in 2 Stunden entspricht. (Der Wert 7,7 Proz. liegt wohl nahe an der oberen Grenze der Versuchsfehler unserer Methodik.) Bei den übrigen vier Fällen ergab die Probe b) den gleichen Kohlehydratgehalt wie die Probe a). Im Falle Nr. 43 finden wir im Filtrat nach

Tabelle II. Glykolytisches Vermögen von Filtraten aus Rattenlebern.

1	2	3	4	5	6		7	8
					in der Probe a	in der Probe b		
Protokoll-Nr.	Gewicht des verwendeten Gewebes	Menge des zugesetzten „Ringers“ dem Gewebe	Kolorimetrisch ermittelte prozentische Schwankungen, des Gesamtk.H.-Gehalts der Probe b gegen die Probe a nach 2 Stunden	In zugesetzten „Ringer“ enthaltene Glucosemenge in mg	Gesamt-K.H.-Gehalt bezogen auf die (unter 3) verzehnte Menge des zugesetzten „Ringers“ in mg		Bakterielle Kontrolle	Anmerkungen
1	5,3	30	+ 3	30	70,6	72,7	steril	Die Ratte wurde nach 64stünd. Hungern getötet
2	3,6	30	0	30	39,0	39,0	verunreinigt	Nach 24stündigem Hungern
3	3,5	30	- 0,5	30	39,2	39,0	steril	Nach 44stündigem Hungern
8	4,3	30	0	30	33,3	33,0	steril	—
11	4,5	30	+ 2,2	30	36,3	37,1	steril	Nach 3 Stdn. auch keine Abnahme d. K. H. i. Filtrat
13	3,5	30	0	30	37,5	37,5	verunreinigt	Auch nach 5 1/2 Stunden trotz Unsterilität keine Glykolyse im Filtrat
15	2,7	30	0	30	53,0	53,0	steril	—
67	2,3	30	- 0,5	45	65,8	65,5	steril	—
70	2,3	30	+ 2	45	53,4	54,5	steril	—

Tabelle III. Kohlehydratabbau in Filtraten v. Rattenlebern. (Der dem Gewebe zugesetzte „Ringer“ enthielt 100 mg.-Proz. Glucose.)

1	2	3	4	5	6
Protokoll-Nr.	Gewicht des verwendeten Gewebes	Menge des dem Gewebe zuges. „Ringers“ ccm	Kolorimetr. ermittelte prozentuale Abnahme der Gesamtk.H. im Filtrat gegenüber der Probe a	Bakterielle Kontrolle	Anmerkungen
			nach 1 St. nach 2 St. nach 3 St.		
9	1,9	30	—	steril	
10	2,2	30	12,8	steril	
12	1,4	30	22,3	steril	
43	0,6	15	33,6	steril	
45	0,8	15	7,8	steril	
49	1,45	20	15,8	steril	
50	1,6	20	11,1	steril	
52	1,15	15	10,9	steril	
54	1,3	15	0	steril	
57	1,4	20	18,8	steril	
69	1,55	20	0	steril	
72	1,70	20	7,7	steril	
24	3,5	30	0	steril	Der dem Gewebe zugesetzte „Ringer“ war in diesen Versuchen
25	3,5	30	1,5	steril	150 mg.-Proz. an Glucose
			0	steril	Häufigere (einem m. Äther narkotisierte Hunde oper. entf. Niere), Nr. 25 wie gewöhnlich behandelt.
			1,5	steril	Nr. 24 Gewebe zerrieben, Nr. 25 wie gewöhnlich behandelt.

Tabelle IV.
Kohlhydratabbau im Filtrate von Rattenmuskeln.

1	2	3	4	5	6		7	8	9	10
					Gesamt-K.H.-Gehalt, bezogen auf die verzeihnete „Ringer“-menge in mg	in Probe a in Probe b				
Proto-koll. Nr.	Gewicht des verwendeten Gewebes g	Menge des dem Gewebe zugesetzten „Ringer“- ccm	Kolorimetrisch ermittelte Proz. Abnahme des Gesamt-K.H. im Filtrat gegenüber der Probe a nach 2 Stunden	Im ver-wendeten Ringer enthaltene Glucose-menge mg	Gesamt-K.H.-Gehalt, bezogen auf die verzeihnete „Ringer“-menge in mg		Im Filtrat abgebaute K.H.-Menge, bezogen auf die verzeihnete „Ringer“-menge mg	Menge der K.H., die vom Filtrat eines Gramms Gewebe pro Stunde abgebaut wurde mg	Bakterielle Kontrolle	Anmerkung
44	3,30	30	2,0	30	25,4	24,9	0,5	0	steril	—
46	3,40	30	10,6	30	43,4	38,8	4,6	0,68	"	—
48	3,45	30	15,3	30	31,0	26,3	4,7	0,68	verunr.	—
51	3,10	30	10,6	30	24,4	21,8	2,6	0,42	steril	—
53	3,10	30	15,8	30	30,0	25,3	4,7	0,76	"	Nach 30' „Vorschütteln“ d. Gewebe-Ringersuspension 3 ccm einer 1,3% NaHCO ₃ -Lösung zugef.
55	2,90	30	0	30	26,7	26,7	0	0	"	
68	2,40	30	14,4	45	47,0	40,2	6,8	1,40	"	Wie oben, nur 2 ccm NaHCO ₃ -Lösung
71	3,50	35	24,9	52,5	64,6	48,7	15,9	2,27	"	
73	2,65	27	+ 2,0	40,5	32,0	32,6	0	0	"	Wie bei Nr. 53
74	3,00	27	0	40,5	29,2	29,2	0	0	"	

1 Stunde die prozentische Abnahme der Kohlehydrate halb so groß wie nach 2 Stunden. In den Fällen Nr. 10 und 12 änderte sich der G. K. H.-Gehalt des Filtrats nach 2 Stunden nicht weiter (vgl. Tabelle I). Der Ausgangskohlehydratgehalt in den Filtraten (Probe a) dürfte sich von den entsprechenden Werten der ersten Versuchsreihe (Tumoren) kaum unterschieden haben.

In einem Falle untersuchten wir die einem mit Äther *narkotisierten* Hunde operativ entfernte Niere und fanden hier bei zwei Versuchsmodifikationen (s. Anmerkung zu Nr. 24 und 25) keine Filtratglykolyse.

Zusammenfassend ist über diese Versuchsreihe zu sagen, daß von zwölf untersuchten Rattennieren in sieben Fällen das glykolytische Prinzip — in zum Teil weit außerhalb der Fehlergrenze liegendem Grade — im zellfreien Filtrat nachzuweisen war.

d) Über glykolytisches Vermögen zellfreier Filtrate aus Muskelgewebe.

Es wurde Muskelgewebe normaler Ratten untersucht. Die Versuchsanordnung war bei dieser Reihe dieselbe wie bei den übrigen.

Nach einer halben Stunde „Vorschüttelung“ fügten wir in einigen Versuchen (vgl. Kolonne 10) 2 bzw. 3 ccm einer 1,31proz. NaHCO_3 -Lösung zu und hofften so, die durch das Auftreten von Milchsäure bedingte Herabsetzung der Alkaleszenz der Gewebs-„Ringer“-Suspension kompensieren zu können. In diesen Fällen ist der zur Beurteilung einer *Gewebsglykolyse* nötige Vergleich zwischen den Zahlen der Kolonne 5 und 6 nur nach Anbringung der entsprechenden (gewöhnlich etwa 10 Proz. betragenden) Verdünnungskorrektur zulässig.

In dieser Versuchsreihe wurde in sechs von zehn Versuchen (davon einer unsteril) eine *Abnahme der G. K. H. im Filtrat von 10,6 bis 24,9 Proz. in 2 Stunden* gefunden. Die vom Filtrate eines Grammes Muskelgewebe pro Stunde abgebaute Zuckermenge schwankte zwischen 0,42 und 2,27 mg.

Es gelingt somit zwar auch bei dieser Versuchsanordnung *in einem Teile* der untersuchten Fälle eine extracelluläre Glykolyse nachzuweisen, doch scheint unsere Methodik für diese Versuche nicht die geeignetste zu sein; hat doch *Meyerhof* (l. c.) bis 100 Proz. des glykolyisierenden Prinzips von der *Muskelzelle* abzutrennen vermocht. Dies wiederum ein Hinweis darauf, daß der Zuckerabbau bzw. die Bindung des glykolyisierenden Agens an die Zelle *bei der Muskulatur* möglicherweise verschieden ist von dem anderer Gewebearten.

4. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Überblicken wir nun unsere gesamten Resultate, so sehen wir, daß es uns gelungen ist, *in Filtraten* stark glykolyisierender Gewebe (*Tumoren, Niere*) *in 24 von 31 untersuchten Fällen* dieser Art eine *Glykolyse* nachzuweisen. Um dem Einwand vorzubeugen, daß die Glykolyse

des Tumorfiltrats durch Agentien hervorgerufen werde, die aus entweder bereits im Tumorgewebe schon vorhandenen oder erst während der Entnahme dazugekommenen Mikroorganismen stammten, wurde Tumorgewebe bakteriologisch untersucht. Dabei ließ sich ein Bakterium der Coligruppe isolieren, das in großer Menge in Glucose-Ringerlösung suspendiert und in der gewohnten Weise weiter behandelt, im Filtrat zwar eine *ganz geringe* Glykolyse feststellen ließ, die jedoch trotz der ganz enormen Konzentration der Bakterienaufschwemmung weit hinter der durch das Tumorzellfiltrat bedingten zurückblieb.

Die Filtrate von neun untersuchten *Lebern* normaler Ratten zeigten in keinem Falle eine Glykolyse. Dies scheint uns um so eher plausibel, als das *Lebergewebe* an sich im Vergleich zu den oben genannten Geweben eine nur geringe glykolytische Fähigkeit besitzt. Drei dieser nicht glykolysierenden Filtrate waren unsteril. Auch dadurch zeigte es sich, daß eine durch Bakterien bedingte Zuckerspaltung in unserer Versuchsanordnung nicht zur Geltung kam; *waren doch auch die Ausschläge in unsterilen Filtraten keineswegs höher als in sterilen.*

Betrachten wir die Kohlehydratmenge, die vom *Filtrat* eines Grammes Tumorgewebe pro Stunde abgebaut worden war, so sehen wir, daß die entsprechenden Zahlen (Tabelle I, Kolonne 9) von derselben Größenordnung sind.

Mit der von uns benutzten Methode der Messung der Glykolyse haben *Dische* und *Laszlo* (l. c.) festgestellt, daß 1 g Tumorgewebe pro Stunde im Mittel 5 mg Zucker abbaut. Vergleichen wir diesen Mittelwert mit dem von uns für das *Filtrat* eines Grammes Tumorgewebe gefundenen (1.29), so zeigt sich, daß ein immerhin *namhafter Teil* des glykolytischen Vermögens der Tumorzelle ins Filtrat übergehen kann.

Somit ist es nicht unwahrscheinlich, daß das glykolytische Prinzip — wenn schon in vitro an eine Ringerlösung — auch in vivo an die das glykolysierende Gewebe umspülende Flüssigkeit abgegeben werden kann.

Was nun die *Natur* des glykolytischen Prinzips anbelangt, so können wir vorläufig nichts darüber aussagen.

Es kann in exakter Weise zwischen Ferment, Ultravirus und filtrierbaren Zelltrümmern vorderhand nicht unterschieden werden.

5. Zusammenfassung.

1. Es wurde versucht, in *zell- und keimfreien Filtraten* aus Tumoren und anderen Geweben eine *Glykolyse* nachzuweisen.
2. Es wurde eine *Versuchsanordnung* beschrieben, welche es ermöglicht, *zell- und keimfreie Filtrate* herzustellen und in beliebigen Zeitabständen ihren jeweiligen Kohlehydratgehalt — ohne Gefährdung der Sterilität — zu prüfen.

3. Es konnte in sterilen Filtraten aus *Mäuse-Carcinom- und Sarkomgewebe* in der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Fälle das glykolysierende Prinzip nachgewiesen werden. Bei der von uns durchgeführten Behandlung des Gewebes und Messung der Glykolyse beträgt der von den Zellen abgetrennte Anteil des glykolytischen Prinzips einen *namhaften* Teil des in ihnen ursprünglich vorhandenen.

4. Aus dem an sich stark glykolysierenden *Nierengewebe* normaler Tiere ließ sich in der Mehrzahl der Fälle das glykolytische Agens in Filtraten nachweisen.

5. In den von uns untersuchten Filtraten aus *Lebergewebe* normaler Tiere konnte in keinem Falle ein Kohlehydratabbau gefunden werden.

6. Es wurde gezeigt, daß die Filtratglykolyse *nach 2 Stunden* sistierte.

7. Es wird die Ansicht ausgesprochen, daß aus stark glykolysierenden Geweben das glykolytische Prinzip *möglicherweise auch in vivo* abgegeben werden kann.

8. Auch in einigen Filtraten aus *Muskelgewebe* konnte in Übereinstimmung mit *Meyerhof* ein Kohlehydratabbau nachgewiesen werden.

Weitere Untersuchungen über diese Fragen, insbesondere über eventuelle Atmung der zellfreien Extrakte sowie über das Schicksal der abgebauten Glucose, sind im hiesigen Institute im Gange.

Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. VI.

Von

Erik Hägglund und Truls Rosenqvist.

(Aus dem chemischen Institut der Akademie zu Åbo, Finnland.)

(Eingegangen am 23. Oktober 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

In dem Folgenden teilen wir die Resultate der schon früher angekündigten Untersuchungen über die *Gärung der Brenztraubensäure* in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration unter Anwendung von *Hefesaft* mit. Bereits früher wurden einige Resultate über diesen Gegenstand veröffentlicht, die aber nur als eine erste Orientierung dienen konnten¹). Die hier mitgeteilten Resultate beleuchten die Frage wesentlich eingehender. Wir können bestätigen, was wir schon früher fanden, nämlich, daß *die Tätigkeit der Carboxylase bei schwach alkalischer Reaktion völlig aufhört*. Bei neutraler Reaktion ist die Wirkung dieses Enzyms sehr stark geschwächt. Die größte Gærtätigkeit entfaltet die Carboxylase bei einer Wasserstoffionenkonzentration, entsprechend $p_H = 3,5$ bis 6, wie aus den Kurvenzeichnungen hervorgeht. Aus dieser und vielleicht noch deutlicher aus der unten angegebenen Tabelle ergibt sich, daß die p_H -Werte für die Spitzenleistung des Enzyms sich mit der Gärungszeit etwas nach der sauren Seite verschiebt, und zwar linear von etwa 4,3 bei 10 Minuten zu 3,5 bei 60 Minuten. Diese Verschiebung ist natürlich nur scheinbar und beruht auf der Abnahme der Acidität während der Gärung infolge des Verschwindens der stark dissoziierten Brenztraubensäure aus der Lösung, während wir die Konzentration der H^+ -Ionen vor der Gärung gemessen haben. Versucht man, den p_H -Wert der *Optimalwirkung* für die Zeit 0 zu extrapolieren, so ergibt sich die Zahl 4,6. Wir möchten aber ausdrücklich hervorheben, daß die p_H -Aktivitätskurven, wie wir aus der Gärung in den ersten 40 Minuten registriert haben, *sehr flache Optima* zeigen. In der Nähe von dem Neutralpunkt werden sie aber durchweg sehr steil. Was nun die absolute Gärungsgeschwindigkeit betrifft, so sehen wir, daß diese in den ersten 20 Minuten wesentlich größer ist als in den folgenden Intervallen von 20 Minuten, was mit den Ergebnissen von *Neuberg*

¹) E. Hägglund und A. M. Augustsson, diese Zeitschr. 170, 122, 1926.

und Hägglund und Augustsson in Übereinstimmung steht. Dies beruht auf der Veränderung der Acidität. In einer kommenden Mitteilung werden wir uns mit der Frage näher beschäftigen.

Die Brenztraubensäure wurde in unseren Versuchen im Optimumbereich der Wasserstoffionenkonzentration nach 2 Stunden fast vollständig vergoren. Um das zu erreichen, war es notwendig, einen *stark gärkräftigen Saft* zu bekommen. Nach der Vorschrift von Lebedew ist

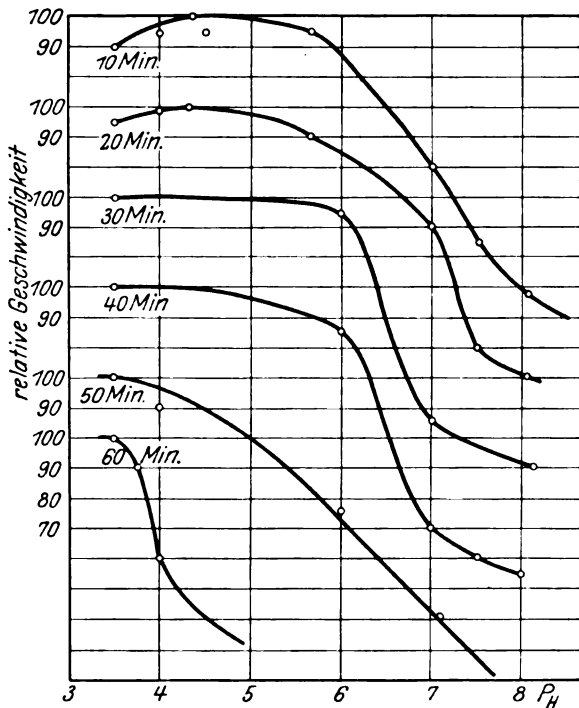


Abb. 1.

das schwer zu erreichen. Wir haben deswegen eine *neue Methode zur Saftgewinnung* ausgearbeitet, nach welcher es möglich wurde, einen außerordentlich gärkräftigen Saft herzustellen. Wir konnten auf diese Weise nicht nur aus Trockenhefen von Unterhefen, sondern auch von Oberhefen Säfte mit starker Gärkraft erhalten. Aber noch interessanter ist die Feststellung, daß es nach dieser Methode möglich ist, *lebende Hefe* für die Saftbereitung zu benutzen. Wir kommen auf diese Frage in einer kommenden Mitteilung zurück. Die Methode der Saftgewinnung beruht darauf, daß die Extraktion der Hefe nicht mit Wasser, sondern mit einer alkalisch reagierenden Salzlösung, bei den hier in Frage kommenden Versuchen: einer 0,15mol. Na_2HPO_4 -Lösung, vorgenommen

wird. Es sei hervorgehoben, daß wir mit schwach sauer reagierenden Phosphatlösungen keinen Effekt erreicht haben.

Versuche.

Auf Grund der schnell eintretenden Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration konnten die p_H -Bestimmungen nicht in den mit Pyruvinat versetzten Hefesaftlösungen erfolgen. Wir wählten eine andere Arbeitsweise. 30 g in der Luft bei gewöhnlicher Temperatur getrockneter Unterhefe $S^1)$ wurden in 90 ccm 0,15 mol. Na_2HPO_4 -Lösung mit 0,9 ccm Toluol aufgeschlämmt und 4 Stunden in einem Thermostaten bei 30^0 belassen. Nachher wurde der Saft in einem Büchnertrichter mit gewöhnlichem Filtrierpapier abgesaugt. Nach einer Stunde wurden auf diese Weise 50 bis 55 ccm Saft erhalten. Wir bereiteten nun eine Natriumphosphatlösung mit derselben Phosphat- und Wasserstoffionenkonzentration wie die des Saftes. Durch Feststellung des Mischungsverhältnisses zwischen der Na-Phosphatlösung mit der Pyruvinatlösung konnten Lösungen von bestimmter H-Ionenkonzentration hergestellt werden. Wurde nun statt der Na-Phosphatlösung eine gleiche Menge der Saftlösung genommen, so bekamen wir gepufferte Saft-Brenztraubensäure-Mischungen von bekannter H-Ionenkonzentration, deren Kohlensäureentwicklung volumetrisch verfolgt wurde. Die Kohlensäure wurde nach beendeter Gärung, wie in früheren Mitteilungen angegeben worden ist, durch Zusatz von Schwefelsäure ausgetrieben.

Die Ergebnisse der Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Kohlensäure in Kubikzentimetern.

Gäransatz: 15 ccm 0,15 mol. Brenztraubensäurelösung, 5 ccm Hefesaft, 0,15 mol. Phosphat.

p_H	Zeit in Minuten						120 Gesamtmenge
	10	20	30	40	50	60	
3.5	13,0	7,7	5,4	4,0	3,7	2,9	42,4
3.7	12,6	7,4	5,6	4,5	3,2	2,5	41,8
4.0	12,5	8,6	4,4	6,3	3,4	1,8	44,6
4.3	15,2	7,8	5,9	4,8	2,3	0,5	45,0
4.5	13,6	7,5	5,3	4,3	1,6	0,7	43,0
6.0	13,7	8,7	4,3	3,8	1,8	0,7	41,5
7.0	7,3	5,2	1,4	0,5	0,2	0	26,2
7.1	5,8	4,5	1,3	0,6	0,5	0	27,7
7.3	5,5	3,4	1,4	1,0	0,5	0	27,1
7.4	4,3	2,5	1,2	0,4	0,2	0	25,3
7.5	3,9	1,6	1,0	0,3	0,1	0	23,4
7.7	3,1	1,3	0,3	0,3	0	0	16,3
8.1	1,6	0,8	0,5	0,4	0	0	13,6

¹⁾ Die Hefe, die wir der Brauerei *Sinebrychoff*-Helsingfors verdanken, wurde uns in vorzüglicher Reinheit geliefert.

Die relative Gärungsgeschwindigkeit zu verschiedenen Zeiten ergibt sich aus folgenden Zahlen.

p_{H}	Zeit in Minuten					
	10	20	30	40	50	60
3,5	90	95	100	100	100	100
3,7	85	95	100	100	90	80
4,0	95	100	100	100	90	60
4,3	100	100	100	100	60	20
4,5	95	95	95	95	50	20
6,0	95	95	95	85	55	20
7,0	50	60	25	15	10	0
7,1	40	40	25	20	20	0
7,3	40	40	25	20	20	0
7,4	30	30	20	15	10	0
7,5	25	20	20	10	0	0
7,7	20	20	10	10	0	0
8,1	10	10	10	5	0	0

Auf die Diskussion der vorliegenden Ergebnisse kommen wir in Zusammenhang mit der Frage des sogenannten *Neuberg*-Quotienten zurück, worüber demnächst eine Arbeit aus dem hiesigen Institut erscheinen wird.

Über die Lage der Absorptionsstreifen von Kaliumpermanganat und Uranyl nitrat in verschiedenen farblosen Lösungsmitteln.

Von
Viktor Ritter von Kurelec.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungar. Universität Budapest.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1926.)

Der Tatsache, daß die im sichtbaren Spektrum gelegenen Absorptionsstreifen eines in farblosen Lösungsmitteln gelösten Farbstoffs je nach der Natur des Lösungsmittels eine mehr oder minder starke rot- oder violettwärts gerichtete Verschiebung erleiden können, ist erst seit der bekannten Mitteilung von *Kundt*¹⁾ eine größere Beachtung zuteil geworden. Die in unserem Institut von *Szilárd*²⁾ ausgeführten Untersuchungen beziehen sich auf den Hämatoporphyrindimethylester, der sich zu solchen Untersuchungen besonders gut eignet; einerseits, weil er sich in einer größeren Anzahl von organischen Lösungsmitteln gut löst, andererseits, weil sein Spektrum durch vier schöne Absorptionsstreifen ausgezeichnet ist.

In der vorliegenden Arbeit war beabsichtigt, ähnliche Untersuchungen an einer größeren Anzahl anorganischer gefärbter Stoffe auszuführen; doch haben sich hierzu bloß zwei, nämlich Kaliumpermanganat und Uranyl nitrat, als geeignet erwiesen.

Apparatur.

Die Bestimmungen habe ich mittels eines *Zeiss*schen Gitterspektrometers ausgeführt, dessen Wellenlängentrommel durch möglichst häufig wiederholte Eichung mit der Na-Linie kontrolliert wurde. Als Lichtquelle diente eine Osmium-Nitra-Lampe (Gleichstrom, 8 Volt Spannung), als Flüssigkeitsbehälter der sonst für spektrophotometrische Zwecke verwendete Trog von 11 mm lichter Weite, der aus einem mittleren hufeisenförmigen Teile und zwei planparallelen Glasplatten besteht. Da diese Teile nicht etwa mit Kitt aneinander befestigt sind, sondern bloß durch den Druck einer Metallfeder zusammengehalten werden, ist ihre Reinigung sehr einfach und gründlich durchzuführen. Peinlichste Reinlichkeit war aber besonders

¹⁾ *A. Kundt*, Ann. d. Phys. u. Chem., N. F., 4, 53, 1878.

²⁾ *A. Szilárd*, diese Zeitschr. 170, 185, 1926.

in den mit KMnO_4 ausgeführten Versuchen mit Rücksicht auf deren leichte Reduzierbarkeit notwendig; diesem Postulate wurde dadurch Genüge getan, daß ich die zuletzt mit destilliertem Wasser gewaschenen Teile des Troges nicht mit einem Tuche abgewischt habe, sondern den größeren Teil des Wassers abtropfen, das übrige Wasser aber in einem Thermostaten verdampfen ließ. In Versuchen mit KMnO_4 hatte ich stets nach einiger Zeit dessen Reduktionsprodukte in Form eines mehr oder minder dunklen braunen Belags, namentlich an den mattgeschliffenen Glasteilen abgelagert; ich legte die Gläser für kurze Zeit in eine Lösung von Oxalsäure und Schwefelsäure ein, worauf der Belag alsbald vollständig verschwunden war. In Versuchen mit stark ätzenden, oder leicht flüchtigen, oder scharf riechenden Lösungsmitteln verwendete ich verschließbare Flaschen mit planparallelen Wänden.

Der Spalt wurde stets 0,08 mm weit gehalten.

Bei den Ablesungen habe ich darauf verzichtet, die Stelle der maximalen Absorption innerhalb je eines Absorptionsstreifens feststellen zu wollen; sondern habe nur die Lage der beiden Ränder je eines Streifens abgelesen. Indem eine jede dieser Ablesungen links und rechts mindestens 15mal wiederholt wurde, durfte ich hoffen, aus den so erhaltenen Werten an asymmetrischen Streifen, wenn auch nicht die Stelle der maximalen Absorption, so doch die der Streifenmitte hinreichend genau bestimmt zu haben.

A. Vorversuche (wichtige Kautelen).

Um sicher entscheiden zu können, ob in dem einen oder anderen Lösungsmittel die Lage der Absorptionsstreifen auch wirklich eine verschiedene sei oder nicht, mußten alle Momente ausgeschlossen werden, die vielleicht an sich bereits eine solche Änderung zu bewirken imstande sind. Solche Momente sind:

- a) Etwaige Verunreinigung des gelösten Stoffes von verschiedener Herkunft;
- b) Verunreinigung der verwendeten Lösungsmittel;
- c) Verschiedenheit der Versuchstemperatur;
- d) Verschiedene Konzentration der untersuchten Lösungen;
- e) Längeres Stehen der Lösungen.

a) *Verschiedene Präparate.* Ich habe von KMnO_4 sowohl wie von $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ Präparate verschiedener Herkunft in verschiedenen Lösungsmitteln $[\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ bloß im Wasser] gelöst und die Mitte je zweier Streifen bestimmt. Wie aus Tabelle I und II hervorgeht, waren die Streifenmitten an den verschiedenen Präparaten stets an denselben Stellen gelegen.

Tabelle I. KMnO_4 .

Lösungsmittel	Streifen 2			Streifen 3		
	Handels- ware uu	Kahlbaum reinst uu	Merck reinst uu	Handels- ware uu	Kahlbaum reinst uu	Merck reinst uu
Wasser	547.4	547.4	547.4	525.1	525.1	525.3
Äthylalkohol	550.4	550.5	550.4	528.4	525.7	528.4
Aceton	550.0	549.9	549.9	528.2	528.2	528.2
Eisessig	547.8	547.8	547.8	525.1	525.1	525.1

Tabelle II.
 $UO_2(NO_3)_2$. Wässrige Lösungen.

Streifen 1					Streifen 2				
Kahl- baum	Kahl- baum reinst	Schu- hardt	Schu- hardt 2mal umkrist.	de Haën	Kahl- baum	Kahl- baum reinst	Schu- hardt	Schu- hardt 2mal umkrist.	de Haën
$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
486,8	486,8	486,8	486,7	486,8	469,7	469,6	469,9	469,7	469,7

Es ergab sich also an den verschiedenen Präparaten kein nennenswerter Unterschied. Nicht genug an dem, habe ich $KMnO_4$ in den konzentrierten wässrigen Lösungen einiger organischer Stoffe gelöst, die augenscheinlich stark reduzierend wirkten; jedoch, wie aus Tabelle III ersichtlich, meistens, ohne in der Lage der Absorptionsstreifen eine wesentliche Änderung zu finden. Nur im Falle von $HgCl_2$ fand ich eine deutliche, wenn auch geringe Rotwärtsverschiebung der Streifen 1 bis 4.

Tabelle III.
 $KMnO_4$.

Die Lösung enthält außer $KMnO_4$	Streifen 1	Streifen 2	Streifen 3	Streifen 4	Streifen 5
	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
Nichts	571,2	547,4	525,1	505,0	486,8
Arabinose	571,1	547,3	525,3	505,5	—
Glucose	571,8	547,8	525,3	505,3	—
Citronensäure	—	—	—	505,3	486,9
Weinsäure	?	547,7	525,3	?	?
Buttersaures Calcium	?	547,2	525,0	?	?
Mercurichlorid	571,7	548,0	525,9	505,6	?

Desgleichen habe ich in den konzentrierten Lösungen verschiedener Zuckerarten $UO_2(NO_3)_2$ gelöst und bloß geringe Verschiebungen der beiden ersten Streifen konstatieren können, die laut Tabelle IV allerdings etwas größer waren, als in den Versuchen mit $KMnO_4$. Angesichts der großen Konzentration der zugesetzten „Verunreinigung“ dürften die praktisch vorkommenden wohl ohne jedweden Einfluß sein.

Tabelle IV.
 $UO_2(NO_3)_2$.

Die Lösung enthält außer $UO_2(NO_3)_2$	Streifen 1	Streifen 2	Die Lösung enthält außer $UO_2(NO_3)_2$	Streifen 1	Streifen 2
	$\mu\mu$	$\mu\mu$		$\mu\mu$	$\mu\mu$
Nichts	487,4	470,6	Maltose	487,3	470,5
Glucose	487,9	470,9	Lactose	487,3	470,9
Mannose	487,5	471,3	Saccharose	487,7	470,7

b) *Reinheit der Lösungsmittel.* Die meisten Lösungsmittel standen mir in hinreichender Reinheit zur Verfügung. Um aber sicher zu gehen, habe ich sichtlich unreines Pyridin bzw. nicht einwandfreien Amylalkohol mit den betreffenden reinsten Präparaten verglichen, und, wie aus der Tabelle V hervorgeht, in der Lage der Absorptionsstreifen keine Unterschiede konstatieren können.

Tabelle V.

Lösung	Lösungsmittel	Streifen 1	Streifen 2	Streifen 3
		$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
K ₂ MnO ₄	Pyridin (unrein)	—	549,3	527,1
	„ purissim. <i>Kahlbaum</i>	—	549,0	527,5
	„ „ <i>Schuchardt</i>	—	549,3	527,4
UO ₂ (NO ₃) ₂	Amylalkohol	489,9	467,2	—
	„ <i>Merck</i>	489,9	467,2	—
	„ purissim. <i>Kahlbaum</i>	489,8	467,2	—

c) *Temperatur der Lösung.* Von *Hantzsch* und *Clark*¹⁾ wurde 1908, von *Hantzsch*²⁾ 1912 in Übereinstimmung mit *Hiebendaal*³⁾ und im Gegensatz zu *Bremer*³⁾, zu *Bolton* und *Morton*³⁾ und zu *Hartley*³⁾ gefunden, daß die Temperatur keinen Einfluß auf die Lage der Absorptionsstreifen des K₂MnO₄ habe. Derselbe Gegensatz zwischen verschiedenen Autoren besteht auch bezüglich des UO₂(NO₃)₂, indem *Bremer*⁴⁾, dann *Morton* und *Bolton*⁴⁾ die Unabhängigkeit der Lage der Absorptionsstreifen von der Temperatur behaupteten. Die Tatsache, daß *Bremer*⁴⁾ in UO₂SO₄-Lösungen die Mitte des ersten Streifens von 490,6 auf 492,2, den des zweiten Streifens von 473,8 auf 474,5 $\mu\mu$, in UO₂(NO₃)₂-Lösungen die Mitte des ersten Streifens von 485,9 auf 487,2, die Mitte des zweiten Streifens von 469,6 auf 470,8 $\mu\mu$ verschoben fand, wenn er die Temperatur der Lösung von 20° C auf 80° C erhöhte, würde mich eigentlich der Notwendigkeit entheben, diesem Punkte Aufmerksamkeit zu schenken, da ja derlei Schwankungen der Laboratoriums-temperatur ausgeschlossen sind. Nichtsdestoweniger habe ich entsprechende Bestimmungen sowohl an K₂MnO₄ (in Wasser, in Aceton und in Eisessig gelöst), wie auch in UO₂(NO₃)₂ (in Wasser gelöst) bei verschiedenen Temperaturen ausgeführt und dessen Ergebnisse in den Tabellen VI, VII und VIII zusammengestellt. Um einer komplizierten Apparatur entraten zu können, habe ich einfach die Temperaturen der über oder unter Zimmertemperatur erwärmten bzw. abgekühlten wässrigen Lösungen am Beginn und am Ende je einer Ablesungsreihe bestimmt. Würden sich bei den verschiedenen Temperaturen wesentliche Unterschiede ergeben haben, so wären meine so erhaltenen Resultate natürlich nicht eindeutig gewesen. Da aber, wie aus den Tabellen ersichtlich, ein Temperaturunterschied von 13 bis 14° C bloß eine Verschiebung von 1 $\mu\mu$ in maximo verursacht hatte, die Änderung der Zimmertemperatur aber bei weitem nicht so viel ausmachte, läßt sich

1) *A. Hantzsch* und *H. Clark*, Zeitschr. f. phys. Chem. **63**, 377, 1908.

2) *A. Hantzsch*, Zeitschr. f. Elektrochem. **18**, 471, 1912.

3) *Kayser*, Handb. d. Spektroskopie, 1905, **3**, 102, 103, 416.

4) Nach *Kayser*, Handb. d. Spektroskopie, 1901, **3**, 415.

füglich behaupten, daß die Versuchstemperatur meine weiter unten zu besprechenden Versuchsergebnisse nach keiner Richtung hin beeinflußt haben konnte. Dasselbe geht auch aus den mit je einer Temperaturbestimmung ausgeführten Versuchen an Lösungen von KMnO_4 in Aceton und in Eisessig hervor.

Tabelle VI. KMnO_4 .

Temperatur der Lösung		Streifen 2	Streifen 3	Temperatur der Lösung		Streifen 2	Streifen 3
am Beginn der Ablesungen	am Ende der Ablesungen			am Beginn der Ablesungen	am Ende der Ablesungen		
°C	°C	$\mu\mu$	$\mu\mu$	°C	°C	$\mu\mu$	$\mu\mu$
39	34	548.5	525.9	24	23.6	547.2	525.5
34	31	547.2	525.4	21	22	547.4	525.2
31	29	547.9	525.7	17	19	547.2	525.7
27	26	548.1	525.9	16	17	547.4	525.5

Tabelle VII. $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$.

Temperatur der Lösung		Streifen 1	Streifen 2	Temperatur der Lösung		Streifen 1	Streifen 2
am Beginn der Ablesungen	am Ende der Ablesungen			am Beginn der Ablesungen	am Ende der Ablesungen		
°C	°C	$\mu\mu\mu$	$\mu\mu\mu$	°C	°C	$\mu\mu\mu$	$\mu\mu\mu$
40.5	36.3	487.4	470.6	24	24.2	487.1	470.3
36	33	487.2	470.7	22	22.3	487.2	470.4
32.5	26	487.3	470.7	20	21	487.4	470.9
32	30	487.3	470.4	18	19	487.4	470.5
28	28	487.2	470.4	16	17	486.9	470.5
26	26	487.2	470.5				

Tabelle VIII. KMnO_4 .

Lösungsmittel	Temperatur der Lösung	Streifen 1	Streifen 2	Streifen 3	Streifen 4
	°C				
		$\mu\mu\mu$	$\mu\mu\mu$	$\mu\mu\mu$	$\mu\mu\mu$
Eisessig . .	9	—	547.5	524.8	—
	18	—	547.2	525.1	—
Aceton . .	8	571.8	547.5	525.3	504.7
	18	571.6	547.3	525.2	504.5

d) *Konzentration der Lösung.* Ich habe wässrige KMnO_4 -Lösungen in zwei Konzentrationen hergestellt: in einer möglichst geringen und einer möglichst großen, die eben noch das Ablesen der Ränder des dritten und vierten Streifens gestattete. Wie die in Tabelle IX verzeichneten Befunde zeigen, hat zwar in der konzentrierten Lösung eine Verbreiterung der Streifen stattgefunden, wobei die Mitte des dritten Streifens ein wenig rotwärts, die des vierten Streifens ein ganz wenig violettwärts gerückt war. Da aber in meinen weiter unten zu beschreibenden Versuchen die Kon-

zentrationsunterschiede nicht im entferntesten an obige heranreichen, läßt sich sagen, daß die Lage der Streifenmitten von der verwendeten Konzentration der KMnO_4 -Lösungen praktisch unbeeinflußt war.

Tabelle IX. KMnO_4 .

Lösung	Streifen 3				Streifen 4			
	Linker Rand μμ	Rechter Rand μμ	Breite μμ	Mitte μμ	Linker Rand μμ	Rechter Rand μμ	Breite μμ	Mitte μμ
möglichst verdünnt	530.3	519.7	10.6	525.0	510.1	500.4	9.7	505.3
möglichst konzentriert	531.8	519.1	12.7	525.5	510.8	499.1	11.7	505.0

Nicht dasselbe läßt sich von den $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ -Lösungen sagen, die, um die Streifen deutlich erkennen zu können, in verhältnismäßig sehr konzentrierten Lösungen untersucht werden mußten. Wie aus der Tabelle X hervorgeht, findet in Lösungen mit bis auf die Hälfte abnehmenden Konzentrationen (1 bis 6) eine Verschmälerung der Absorptionsstreifen 1 und 2 statt, jedoch überwiegend vom linken Rande her, so daß die Mitte des erstens Streifens nach Maßgabe der zunehmenden Verdünnung stark, die des zweiten Streifens weniger violettwärts verschoben wurde.

Tabelle X. $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$.

Konzentration	Streifen 1				Streifen 2			
	Linker Rand μμ	Rechter Rand μμ	Breite μμ	Mitte μμ	Linker Rand μμ	Rechter Rand μμ	Breite μμ	Mitte μμ
1	491.3	484.4	6.9	487.9	—	—	—	—
2	490.9	484.1	6.8	487.5	—	—	—	—
3	490.6	483.9	6.7	487.3	474.4	467.3	7.1	470.9
4	490.5	483.7	6.8	487.1	473.9	467.5	6.4	470.7
5	489.9	484.0	5.9	486.9	473.6	467.3	6.3	470.5
6	—	—	—	—	473.6	467.4	6.2	470.5

Aus diesem Grunde wäre es durchaus notwendig gewesen, um einwandfrei vergleichbare Resultate zu erhalten, sämtliche Bestimmungen an Lösungen von derselben Konzentration auszuführen. Leider ging dies aber nicht an, da zwar in den wässerigen Lösungen von der oben genannten Konzentration sowohl der erste wie auch der zweite Streifen gut abgelesen werden konnte, in vielen anderen Lösungsmitteln aber die Konzentration, die sich zur Ablesung eines Streifens gut eignete, für die Ablesung des anderen nicht zu brauchen war.

Wie groß der hieraus resultierende Fehler war, läßt sich nicht abschätzen; doch läßt sich annehmen, daß er die weiter unten zu bestimmenden Ergebnisse und die aus ihnen gezogenen Schlüsse nicht beeinflußt haben dürfte.

e) *Längeres Stehen der Lösung.* Naturgemäß können Stoffe von so großer Tinktionsfähigkeit, wie es das KMnO_4 ist, nur in Lösungen von relativ sehr geringer Konzentration untersucht werden, was wieder zur

Folge hat, daß schon chemische Umsetzungen von geringem Ausmaße zu einer merklichen Änderung der Lichtabsorption bzw. zu einer Änderung der Lage der Absorptionsstreifen führen können. Eine solche Änderung ist von vornherein *nicht* zu erwarten, wenn als Lösungsmittel reines Wasser verwendet wird, und war, wie aus der Tabelle XI hervorgeht, die Mitte des zweiten und dritten Streifens nach beinahe 2 Stunden langem Stehen unverändert geblieben, und bloß am vierten Streifen eine etwa $1\ \mu\mu$ betragende Verschiebung der Streifenmitte infolge einseitiger Verengung des Streifens eingetreten. (In der Konzentration, die hier zur Verwendung kam, war weder der erste noch der fünfte Streifen genau abzulenken.)

Tabelle XI. KMnO_4 .

Zeit	Streifen 2			Streifen 3			Streifen 4		
	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte
Min.	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
0	554.3	540.0	547.2	531.7	518.4	525.1	511.2	499.6	505.4
25	553.9	539.6	546.8	531.3	518.9	525.1	510.5	499.4	504.9
50	553.6	541.2	547.4	531.5	518.5	525.0	510.1	499.6	504.9
80	554.1	540.3	547.2	531.3	518.4	524.9	509.8	499.8	504.8
110	554.3	540.0	547.2	531.5	518.5	525.0	509.6	499.5	504.6

Ein möglicherweise anderes Verhalten war in Lösungen zu erwarten, in denen es zu einer chemischen Reaktion zwischen dem oxydablen Lösungsmittel und dem leicht reduzierbaren KMnO_4 kommt, und zwar gibt es, da die minimalen Mengen des Reduktionsproduktes des KMnO_4 , die hier in Betracht kommen, als farblos angesehen werden können, zwei Möglichkeiten: an *symmetrischen* Streifen rücken die Ränder wohl zusammen, die Lage der Streifenmitte bleibt aber unverändert; an *asymmetrischen* Streifen wird auch eine Verlagerung der Streifenmitten zu konstatieren sein.

Ich habe KMnO_4 in Methylalkohol, in Aceton und in Pyridin gelöst und konnte das Abblässen der Lösungen infolge eingetretener Reduktion nach einiger Zeit auch mit dem bloßen Auge wahrnehmen. An denselben Lösungen habe ich die Lage des zweiten Absorptionsstreifens in kurzen Zeitintervallen bestimmt und bin zu folgenden, in Tabelle XII zusammengestellten Ergebnissen gekommen.

Tabelle XII. KMnO_4 .

Zeit	Methylalkohol			Pyridin			Aceton		
	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte	Linker Rand	Rechter Rand	Mitte
Min.	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
0	558.6	543.0	550.8	556.7	542.8	549.8	558.1	541.2	549.7
10	557.5	542.8	550.2	556.0	542.7	549.4	558.0	541.5	549.8
20	557.7	543.4	550.6	555.8	542.7	549.3	557.8	541.4	549.6
30	556.9	543.7	550.3	555.6	543.0	549.3	557.4	542.1	549.8
40	—	—	—	555.3	543.4	549.4	557.3	542.1	549.7
50	—	—	—	555.3	543.7	549.5	557.3	542.3	549.8
60	—	—	—	—	—	—	557.0	541.9	549.5 ?

Es ergibt sich aus Tabelle XII, daß sich innerhalb 1 Stunde die Mitte des zweiten Streifens in der Acetonlösung *gar nicht*, in beiden anderen Lösungen um einige Zehntel $\mu\mu$ violettwärts verschiebt. Dem entspricht, daß in der Acetonlösung eine von beiden Seiten her gleich starke, also symmetrische Einengung des Streifens stattfindet, während in den beiden anderen die Einengung von links her stärker ist. Sicherlich sind obige Änderungen größer, als aus einem etwaigen Beobachtungsfehler herrühren könnte; trägt man jedoch, wie ich es in den weiter unten zu beschreibenden meritorischen Versuchen getan habe, durch möglichst rasche Ablesung Sorge dafür, daß die zu beobachtende Flüssigkeit bloß wenige Minuten lang im Beobachtungstroge stehengelassen wird, so läßt sich füglich sagen, daß eine etwaige Änderung in der Lage der Absorptionsstreifen ausschließlich durch die Natur des Lösungsmittels bedingt ist bzw. durch die unbekanntenen Vorgänge, die sich zwischen dem Lösungsmittel und dem gelösten Stoffe im Augenblick der erfolgten Lösung abspielen, nicht aber durch den Reduktionsvorgang.

B. Eigentliche Versuche an KMnO_4 .

KMnO₄ in Wasser. Um sicher zu sein, daß meine Feststellungen auch richtig seien, mußte ich vor allem darauf bedacht sein, für die Lösung von KMnO_4 in reinem destillierten Wasser verlässliche, als Vergleichsbasis verwendbare Daten zu erhalten. Bei der Schwierigkeit, richtiger Unmöglichkeit, die Lage von Absorptionsstreifen mit der Genauigkeit festzustellen, wie dies an vielen Emissionslinien ohne weiteres ausführbar ist, mußte ich mich damit begnügen, Ablesungen in möglichst großer Zahl auszuführen und meine Daten mit den besten aus der Literatur bekannten zu vergleichen. Zu diesem Behufe habe ich die Streifenmitten in zahlreichen Versuchen auf obige Weise festgestellt, und zwar bezieht sich die weitaus größte Zahl dieser Feststellungen auf die am besten sichtbaren Streifen 2 und 3, die geringste auf den am schwersten zu beobachtenden Streifen 1. In nachstehender Tabelle XIII habe ich die Ergebnisse aller dieser Bestimmungen zusammengestellt. Bezüglich des Streifens 2 ist zu bemerken, daß ein deutlicher Unterschied zwischen älteren, oft noch unsicheren Ablesungen und den späteren besteht, die mit bereits erlangter größerer Übung ausgeführt wurden; übrigens geben die älteren, noch schwankenden Werte genau denselben Mittelwert, wie die späteren, weit besser übereinstimmenden.

Vergleicht man meine für je einen Streifen erhaltenen Mittelwerte mit den in derselben Tabelle verzeichneten der früheren Autoren, so ergibt sich sofort, daß meine Daten am besten mit denen von *Formánek* übereinstimmen; insbesondere liegen die von mir ermittelten Streifenmitten um einige Zehntel $\mu\mu$ weiter rotwärts als die älteren *Formánek*-schen, und um einige Zehntel $\mu\mu$ weiter violettwärts als die neueren *Formánek*-schen Stellen. Alles in allem läßt sich sagen, daß die von mir an wässrigen KMnO_4 -Lösungen ermittelten Werte geeignet sind,

Unterschiede, die durch Verwendung verschiedener Lösungsmittel verursacht werden, auf dieser Basis zu berechnen.

Tabelle XIII.

KMnO₄, wässrige Lösung.

		Mitte der Streifen					
		1	2	3	4	5	
		μμ	μμ	μμ	μμ	μμ	
Eigene Versuche		571.0	547.9	548.4	525.4	504.6	486.2
		571.0	547.8	547.4	525.4	505.3	486.8
		571.0	547.7	546.9	525.2	504.8	486.1
		571.0	546.6	547.1	525.0	504.6	487.0
		571.0	546.6	546.9	525.2	505.4	487.2
		571.3	547.0	547.2	525.6	504.9	486.5
		571.3	547.0	546.8	525.0	504.9	487.1
		—	547.5	547.4	525.5	504.8	487.2
		—	548.0	547.2	525.2	504.6	487.2
		—	548.0	547.2	524.8	504.9	487.0
		—	547.9	547.5	525.1	505.1	487.0
		—	547.7	547.4	525.1	504.9	—
		—	548.0	547.4	525.0	504.9	—
		—	547.9	547.5	524.9	505.3	—
		—	546.9	547.3	525.0	—	—
		—	—	547.3	525.2	—	—
		—	—	547.5	525.4	—	—
		—	—	—	525.3	—	—
		—	—	—	525.5	—	—
		—	—	—	525.5	—	—
	Mittelwerte	571.2	547.4	525.1	505.0	486.8	
	<i>J. Formánek</i> *) (1905)	570.7	547.0	525.2	504.5	486.5	
	<i>A. Hantzsch u. H. Clark</i> **) (1908)	572.2	546.3	526.7	505.6	488.3	
	<i>G. u. H. Krüss</i> ***) (1909)	574.9	550.9	524.0	505.8	486.4	
	<i>T. R. Merton</i> †) (1911)	571.9	547.7	525.6	—	—	
	<i>W. N. Hartley</i> ††) (1912)	571.9	547.7	525.6	—	—	
	<i>J. Formánek</i> †††) (1922)	571.5	547.5	525.5	505.5	487.0	

*) *J. Formánek*, Qualitative Spektralanalyse, 2. Aufl., 1905.**) *A. Hantzsch u. H. Clark*, Zeitschr. f. phys. Chem. **63**, 377, 1908.***) *G. u. H. Krüss*, Kolorimetrie und Quantitative Spektralanalyse, S. 203, 1909.†) *T. R. Merton*, Journ. of the Chem. Soc. **99**, 637, 1911.††) *W. N. Hartley*, Journ. Chem. Soc. **101**, 286, 1912.†††) *J. Formánek*, Chemiker-Kalender 1922, I.

KMnO₄ in verschiedenen Lösungsmitteln. Die Bestimmungen wurden teils in solchen Lösungsmitteln vorgenommen, die bereits frühere Autoren verwendet hatten, teils in neueren. Von den von anderen Autoren verwendeten Lösungsmitteln stand mir Methylacetat nicht zur Verfügung; in Äthylformiat, Äthylpropionat und in Acetessigester, die auch von anderen Autoren nicht verwendet wurden,

fand eine so rasche Reduktion des KMnO_4 statt, daß es mir nicht möglich war, verlässliche Ablesungen auszuführen. Dasselbe gilt auch für reinste 50proz. Schwefelsäure, in der nur der zweite und dritte Streifen, und auch diese nicht genau abgelesen werden konnten. Schwierigkeiten waren auch dadurch entstanden, daß KMnO_4 in Methylalkohol zwar vorzüglich, in Äthylalkohol gut, im *n* Propylalkohol aber nur mehr schwer löslich ist, so daß hier nur die Lage des zweiten und dritten Streifens genau bestimmt werden konnte. Im *n* Butylalkohol ist KMnO_4 vollends unlöslich, daher mußte wohl oder übel an seiner Stelle der tertiäre Butylalkohol verwendet, also diese Reihe mit einem nicht streng homologen Gliede fortgesetzt werden. Dasselbe war auch in einigen anderen Reihen der Fall. Die Ergebnisse aller dieser Bestimmungen sind in nachfolgender Tabelle XIV zusammengestellt.

Tabelle XIV. KMnO_4 .

Lösungsmittel	Mitte der Absorptionsstreifen					
	1 $\mu\mu$	2 $\mu\mu$	3 $\mu\mu$	4 $\mu\mu$	5 $\mu\mu$	
Wasser	571,2	547,4	525,1	505,0	486,8	
Säure {	Salpeter-*)	571,1	547,1	525,0	504,3	486,7
	Phosphor-*)	571,1	546,7	525,4	504,4	486,6
	Schwefel-*)	?	545,5	523,8	?	?
	Eisessig	571,5	547,9	525,1	504,7	486,8
Essigsäureanhydrid	573,0	549,0	527,2	507,2	489,3	
Alkohol {	Methyl-	574,6	550,4	528,6	508,3	489,7
	Äthyl-	574,8	550,4	528,4	508,4	490,0
	<i>n</i> -Propyl-	?	550,5	528,6	?	?
	Tert. Butyl-	574,2	549,1	527,6	507,2	490,3
	Glykol	573,6	549,5	527,8	507,8	489,0
Ester {	Äthylacetat-	572,9	548,7	527,1	507,0	488,8
	Äthylbutyrat-	574,1	548,9	528,3	507,5	488,1
Nitril {	Aceto-	572,0	548,2	526,7	506,8	488,5
	Propio-	573,5	549,7	528,2	508,2	489,6
	<i>n</i> Butyro-	573,6	550,0	528,3	508,1	489,8
	Iso-valero-	572,8	549,0	527,2	507,2	489,3
Aceton	573,7	549,9	528,2	508,3	490,0	
Pyridin	573,1	549,3	527,5	507,6	489,9	

*) 50proz.

Um aus diesen meinen Ablesungen beweisende Schlüsse zu ziehen, erscheint es angebracht, ihre Verlässlichkeit durch einen Vergleich mit den Angaben früherer Autoren zu erhärten, soweit solche überhaupt aufzutreiben waren.

Der Vergleich ergab:

a) Vorzügliche Übereinstimmung mit *Merton* und *Hartley* bezüglich Methyl- und Äthylalkohol.

	Methylalkohol			Äthylalkohol		
<i>Hantzsch</i> und <i>Clark</i> *)	572.9	550.3	528.4	—	—	—
<i>Merton</i> **) u. <i>Hartley</i> ***)	574.7	550.5	528.5	574.7	550.3	528.2
Eigene Versuche	574.6	550.4	528.6	574.8	550.4	528.4

*) *A. Hantzsch* u. *H. Clark*, Zeitschr. f. phys. Chem. **63**, 377, 1908.

) *Th. R. Merton*, Journ. Chem. Soc. **99, 637, 1911.

***) *W. N. Hartley*, Journ. Chem. Soc. **101**, 286, 1912.

b) Leidliche Übereinstimmung teils mit *Merton* und *Hartley*, teils mit *Hantzsch* und *Clark* bezüglich Aceton, Acetonitril, Pyridin und Salpetersäure, indem die Unterschiede 0,9 $\mu\mu$ in maximo — und auch dies nicht an allen Streifen — betragen.

	Aceton				Acetonitril		
<i>Hantzsch</i> und <i>Clark</i>	572.9	546.6	528.8	508.0	490.1	—	—
<i>Merton</i> und <i>Hartley</i>	573.5	549.6	527.6	—	—	571.8	547.8
Eigene Versuche	573.7	549.9	528.2	508.3	490.0	572.0	548.2

	Pyridin				Salpetersäure		
<i>Hantzsch</i> und <i>Clark</i>	574.4	550.6	527.9	507.6	489.7	—	—
<i>Merton</i> und <i>Hartley</i>	573.8	545.0	527.7	—	—	571.8	547.8
Eigene Versuche	573.1	549.3	527.5	507.6	489.9	571.1	547.1

c) Am wenigsten befriedigend ist die Übereinstimmung bezüglich Glykol, Eisessig und Essigsäureanhydrid, indem die Unterschiede bis zu 1,7 $\mu\mu$ betragen.

	Glykol			Essigsäureanhydrid		
<i>Merton</i> und <i>Hartley</i>	573.0	548.4	526.7	571.9	548.0	526.0
Eigene Versuche	573.6	549.5	527.8	573.0	549.0	527.2

	Eisessig			
<i>Hantzsch</i> und <i>Clark</i>	569.8	547.9	525.4	506.0
Eigene Versuche	571.5	547.9	525.1	504.7

Mit Rücksicht auf obige Zusammenstellung kann ich meine Ergebnisse als gesichert betrachten und aus ihnen zunächst den Schluß ziehen, daß die Streifen des $KMnO_4$ durch die verschiedenen Lösungsmittel in weitaus den meisten Fällen rotwärts verschoben werden.

Im einzelnen ergab sich folgendes:

In starken Säuren ist die Lage des ersten, dritten und fünften Streifens so gut wie gar nicht verändert, während der zweite und vierte Streifen wenig,

aber sicher violettwärts verschoben sind. In Essigsäureanhydrid findet eine Verschiebung aller Streifenmitten gegen *Rot* zu statt.

Alkohole. In den ersten drei Gliedern der homologen Reihe der normalen einwertigen Alkohole werden alle Streifenmitten *rotwärts* verschoben, ohne daß eine Wirkung der zunehmenden C-Zahl bemerkbar wäre; desgleichen, wenn auch in geringem Grade am tertiären Butylalkohol. Auch am Glykol findet eine geringere Verschiebung aller Streifenmitten nach *Rot* zu statt.

Ester. In den beiden untersuchten Estern findet ebenfalls eine Verschiebung nach *Rot* zu statt; sie ist an den ersten vier Streifen im Äthylbutyrat größer, als im Äthylacetat, nimmt also mit wachsender C-Zahl zu.

Nitrile. In allen Nitrilen findet eine Verschiebung sämtlicher Streifenmitten nach *Rot* zu statt; sie ist am Propionitril durchweg größer als am Acetonitril, nimmt aber am nächsten Gliede, am Butyronitril kaum mehr zu. Am Isovaleronitril, das an Stelle des fehlenden Valeronitrils verwendet werden mußte, ist die Verschiebung aller Streifen durchweg geringer, als der C-Zahl entsprechen würde.

Aceton und Pyridin. Alle Streifenmitten sind nach *Rot* verschoben; dabei ist an den ersten vier Streifen die Verschiebung in Aceton größer als in Pyridin.

C. Versuche an $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$.

Die Absorptionsstreifen des $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ sind erst in unverhältnismäßig stärker konzentrierten Lösungen sichtbar, wie die des KMnO_4 , und in den wässrigen Lösungen konnte ich mit der mir zu Gebote stehenden Apparatur von den von anderen Autoren beschriebenen zahlreichen Absorptionsstreifen bloß Streifen 1 bis 4, in vielen anderen Lösungsmitteln auch diese nicht alle, ablesen. Vor allem mußte auch hier, wie in den KMnO_4 -Versuchen, um eine annehmbare Vergleichsbasis zu haben, die Lage der Absorptionsstreifen in reinem, destilliertem Wasser ermittelt werden, zu welchem Behufe sich am besten Lösungen eigneten, die etwa 45 g auf 100 ccm destillierten Wassers enthielten. (In einer Lösung, die 60 g auf 100 ccm enthält, ist der zweite Streifen so dunkel, daß seine Ränder nicht mehr abzulesen sind.) Die Einzelablesungen sind in nachfolgender Tabelle XV in der chronologischen Reihenfolge angegeben, wie ich sie erhielt.

Wie aus Tabelle XV ersichtlich, stimmen meine Werte auch untereinander nicht immer gut überein. Namentlich muß es auffallen, daß die Übereinstimmung innerhalb wohl zu unterscheidender Gruppen von Zahlen, die zur selben Zeit erhalten wurden, eine weit bessere ist, als zwischen benachbarten Gruppen. Um eine Verschiebung der Wellenlängenskala kann es sich nicht handeln, da diese, wie erwähnt, immerfort kontrolliert wurde. Als mögliche Ursache kann aber der Umstand in Betracht kommen, daß an asymmetrischen Absorptionsstreifen die Lage der aus den Rändern berechneten Streifenmitte auch von der Intensität des auf den Spalt auffallenden Lichtes abhängt. Daß aber infolge der oft stark variierenden Spannung des städtischen Gleichstroms die Belichtung nicht immer gleich intensiv war, konnte ich sehr

Tabelle XV.
 $UO_2(NO_3)_2$, wässrige Lösung.

	Mitte der Streifen						
	1		2		3*)	5*)	
	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	
Eigene Versuche	487.0	486.6	470.9	470.3	455.5	442.8	
	487.5	486.6	470.8	470.2	455.3	443.2	
	487.6	486.6	471.0	469.3	455.4	443.2	
	487.4	486.6	470.9	469.4	455.4	442.8	
	487.4	486.6	470.8	469.4	455.6	442.9	
	487.4	486.2	470.9	469.3	455.5	443.0	
	487.4	486.2	471.1	469.6	—	—	
	487.6	486.2	470.9	469.5	—	—	
	487.6	486.4	470.9	469.5	—	—	
	487.7	486.5	470.9	469.6	—	—	
	487.7	486.7	470.0	469.6	—	—	
	487.7	487.0	469.8	469.6	—	—	
	487.8	486.9	470.2	469.3	—	—	
	487.7	486.7	470.2	469.7	—	—	
	487.8	486.8	469.8	469.7	—	—	
	487.8	486.6	469.2	469.8	—	—	
	488.0	486.6	469.8	469.7	—	—	
	487.9	486.7	469.5	469.7	—	—	
	487.2	486.7	469.6	470.7	—	—	
	486.5	487.4	469.6	470.5	—	—	
	486.7	487.4	470.2	470.5	—	—	
	486.7	487.3	470.2	—	—	—	
	486.9	—	470.1	—	—	—	
	487.3	—	—	—	—	—	
	Mittelwerte	487.0		470.0		455.5	442.9
	Drussen **)	486		472		454	438
	Formánek **)	486.7		470.5		454.5	442.5
	Morton und Bolton **)	488		472		455	440
Boehlerdorff **)	483—479		470—466		453—449	?	
Knoblauch **)	492—485		478—468		—	—	
Hagenbach **)	489—484		474—470		458—452	445—438	
Hubendaal **)	481—474		466—457		—	—	
Oeffinger **)	489—486		474—468		458—455	—	
Bremer **)	485.9		469.6		—	—	
Jones und Strong ***)	487.0		470.5		—	—	
Formánek †)	486.7		470.5		454.5	442.5	

*) Streifen 3 und 4 konnte ich erst später, nach erlangter größerer Übung ablesen.

**) Káyer, Handb. der Spektroskopie 3, 422, 1905.

***) H. C. Jones und W. W. Strong, Amer. Chem. Journ. 49, 37, 1910.

†) J. Formánek, Chemiker-Kalender 1922, I.

häufig beobachten. Wieviel von der Unstimmigkeit diesem Umstande zugeschrieben werden kann, wieviel der oben bereits erwähnten Schwierigkeit, die Ränder von Absorptionsstreifen genau abzulesen, läßt sich nicht entscheiden. Zieht man aber in Betracht, daß die Mittelwerte aller meiner Ablesungen mit denen einiger anderer Autoren gut übereinstimmen bzw. am ersten Streifen bloß um 0,3 violettwärts, am

zweiten Streifen aber um $0,5 \mu\mu$ rotwärts gegen die *Formánek*schen Werte verschoben sind, lassen sie sich füglich als Vergleichsbasis für die nachfolgenden, an einer größeren Reihe von Lösungsmitteln ausgeführten Bestimmungen verwenden. Die Versuche wurden an homologen Reihen von Alkoholen, Aldehyden, Estern, Nitrilen und an einigen anderen Lösungsmitteln ausgeführt, ihre Ergebnisse sind in nachfolgender Tabelle XVI zusammengestellt. Die Tabelle enthält zahlreiche Lücken, und zwar entweder, weil die Ränder des betreffenden Streifens undeutlich daher nicht abzulesen gewesen sind, oder aber, weil das oft in spärlicher Menge zur Verfügung stehende Lösungsmittel nicht hinreichte, um die zur genauen Ablesung der verschiedenen Streifen nötigen verschiedenen Konzentrationen herzustellen.

Zum Vergleiche meiner Ergebnisse mit den aus der Literatur bekannten Daten soll nachfolgende Zusammenstellung dienen:

	1	2	3
a) Methylalkohol.			
Eigene Versuche	486,1	465,0	450,5
<i>Deussen</i> *)	485,0	468,0	—
b) Äthylalkohol.			
Eigene Versuche	484,5	465,8	450,2
<i>Deussen</i>	484,5	468,0	—
<i>Formánek</i> *)	483,0	465,7	450,0
c) Propylalkohol.			
Eigene Versuche	484,2	466,3	451,2
<i>Jones</i> und <i>Strong</i> **)	482,0	464,0	447,0
d) Amylalkohol.			
Eigene Versuche	484,9	467,2	—
<i>Deussen</i> *)	484,5	468,0	—
e) Glycerin.			
Eigene Versuche	490,0	473,2	—
<i>Deussen</i>	487,0	473,5	—
f) Äthyläther.			
Eigene Versuche	485,6	468,5	452,5
<i>Deussen</i>	485,0	468,5	—
g) Aceton			
Eigene Versuche	484,3	466,9	451,5
<i>Deussen</i>	484,5	468,0	—

*) *Kayser*, Handb. d. Spektroskopie 8, 422, 1905.

**) *H. C. Jones* und *W. W. Strong*, Amer. Chem. Journ. 47, 27, 1912.

Tabelle XVI.
 $UO_2(NO_3)_2$.

Lösungsmittel	Mitte der Absorptionsstreifen				Spez. Gewicht	Brechungsindex (n)
	1 $\mu\mu$	2 $\mu\mu$	3 $\mu\mu$	4 $\mu\mu$		
Wasser	487,0	470,0	455,5	442,9	—	1,3333 *)
Alkohol	Methyl-	486,1	465,0	450,5	—	0,792 1,3326
	Äthyl-	484,5	465,8	450,2	435,2	0,789 1,3614
	n Propyl-	484,2	466,3	451,2	—	0,804 1,3859
	n Butyl-	484,9	467,9	—	—	0,804 1,3991
	Iso-Butyl-	484,6	467,6	—	—	0,808 1,3974
	n Amyl-	484,9	467,2	452,1	—	0,815 1,4078
	Iso-Amyl-	484,7	467,3	—	—	0,810 1,4084
	tert. Amyl-	484,2	467,6	—	—	0,812 1,4058 *)
	prim. Capryl-	484,9	467,4	—	—	? ?
	n Oktyl-	484,9	467,4	—	—	0,827 1,4314
	Allyl-	484,6	467,5	—	—	0,855 1,4134
Glykol	490,4	472,9	—	—	1,109 1,4274	
Glycerin	490,0	473,2	—	—	1,260 1,4729	
Aldehyd	Acet-	484,5	466,9	451,6	437,0	0,783 1,3316
	Propyl-	485,1	470,0	—	—	0,807 —
	n Butyl-	?	468,8	—	—	0,817 —
	Iso-Butyl-	?	468,9	454,3	—	? —
	n Valer-	?	469,3	454,7	440,8	0,819 —
	Iso-Valer-	?	468,8	—	—	0,803 —
Nonyl-	?	468,2	453,4	439,7	? 1,4403 *)	
Citronellal	?	469,2	454,4	—	0,856 —	
Äthyläther	485,6	468,5	452,5	—	0,714 1,3566	
Aceton	484,3	466,9	451,5	—	0,792 1,3592	
Ester	Äthyl-formiat	484,6	466,8	452,4	—	0,923 1,3599
	acetat	484,5	466,6	451,1	—	0,901 1,3726
	propionat	484,6	467,4	452,3	—	0,889 1,3848
	butyrat	484,6	468,3	452,4	—	0,880 1,3960
	valerat	484,8	467,8	453,0	—	0,868 1,3976
	capronat	485,2	468,4	453,9	—	0,873 1,4079
	Propylpropionat	484,8	467,8	452,7	—	? —
	Iso-Amylacetat	484,6	467,5	452,7	—	0,874 1,4014 *)
Äthylmalonat	484,7	467,7	452,1	—	1,155 —	
Nitril	Aceto-	483,4	466,6	451,4	—	0,783 1,3469 *)
	Propio-	483,8	466,6	451,4	—	0,781 1,3469 *)
	n Butyro-	484,0	467,2	452,0	—	0,794 1,3850 *)
	Iso-Valero-	484,1	468,0	453,2	—	— —
Org. Säuren	Eisessig **)	483,4	466,7	452,0	—	1,049 1,3718
	Propionsäure	483,7	466,9	452,5	—	0,992 1,3904 *)
	n Buttersäure	484,0	466,7	452,6	—	0,964 1,3976
	Iso-Valeriansäure	484,6	467,6	453,0	—	0,942 1,4037 *)
	Milchsäure ***)	?	473,8	458,2	—	1,240 1,4314
	β -Oxybuttersäure	?	466,8	452,2	—	— 1,4439

*) Von mir selbst bestimmt.

**) Ameisensäure bildet mit der Uranylösung einen dichten Niederschlag.

***) D. A. B. 1926.

Tabelle XVI (Fortsetzung).

Lösungsmittel		Mite der Absorptionsstreifen				Spez. Gewicht	Brechungs index (n)
		1 uu	2 uu	3 uu	4 uu		
Org.-Säuren	Weinsäure *)	?	474.4	459.2	—	—	1.3943**)
	Citronensäure *)	489.3	473.3	458.1	—	—	1.3962**)
Konz. anorg.-Säuren	Schwefelsäure	490.4	473.0	454.9	—	—	—
	Salzsäure	492.6	478.2	461.9	—	—	—
	Salpetersäure	483.3	468.0	451.1	—	—	—

*) Konzentrierte wässrige Lösung.

**) Von mir selbst bestimmt.

Die Übereinstimmung ist an manchen Stellen recht gut, und geht aus diesen Bestimmungen hervor, daß *in der überwiegenden Zahl aller Lösungsmittel die Absorptionsstreifen des $UO_2(NO_3)_2$ gegenüber der wässrigen Lösung violettwärts verschoben sind*, und daß innerhalb je einer homologen Reihe ein gewisser „Gang“ der Verschiebung mit der zunehmenden C-Zahl, dem zu- oder abnehmenden spezifischen Gewicht und dem zunehmenden Brechungsindex besteht.

Alkohole. In der Reihe der einwertigen homologen Alkohole sind die Streifenmitten 1, 2 und 3 *violettwärts* verschoben, von welcher Regel auch die nicht streng in diese Reihe gehörenden Iso- und tertiären Alkohole nicht abweichen. Mit zunehmender C-Zahl verringert sich die Verschiebung des zweiten Streifens vom Methyl- bis zum Butylalkohol, die des dritten Streifens vom Methyl- bis zum Amylalkohol. Sehr merkwürdig ist das Verhalten der mehrwertigen Alkohole Glykol und Glycerin, indem sie ebenfalls eine ansehnliche Verschiebung beider Streifenmitten bewirken, die jedoch im Gegensatz zu den einwertigen Alkoholen *rotwärts* gerichtet ist.

Aldehyde. Lückenlose Ablesungen sind nur bezüglich des zweiten Streifens vorhanden, indem der dritte und vierte nicht immer, der erste Streifen nur ausnahmsweise deutlich zu sehen war. Alle Streifenmitten sind *violettwärts* verschoben, und zwar weitaus am stärksten am Acetaldehyd; mit zunehmender C-Zahl wird die Verschiebung eine *geringere*. Am ausgesprochensten ist diese Verringerung am vierten Streifen.

Äthyläther und Aceton bedingen ebenfalls eine *violettwärts* gerichtete Verschiebung beider Streifenmitten; jedoch ist diese am Aceton weit stärker, als am Äthyläther; und in beiden Fällen am zweiten Streifen größer.

Ester. In der homologen Reihe der Äthylester ist Streifenmitte 1 ein wenig, und sind Streifenmitten 2 und 3 weit stärker *violettwärts* verschoben. Die Verschiebung bleibt am ersten Streifen so gut wie unverändert, wird mit zunehmender C-Zahl am zweiten und dritten Streifen deutlich *geringer*.

Nitrile. Wie erinnerlich, hat in den $KMnO_4$ -Versuchen eine starke *rotwärts* gerichtete Verschiebung aller fünf Streifenmitten stattgefunden, welche Verschiebung vom Aceto- zum Propionitril stark zunimmt. Hierzu im Gegensatz sind am $UO_2(NO_3)_2$ Streifenmitten 1, 2 und 3 stark *violettwärts* verschoben, dabei verhalten sich aber gerade Aceto- und Propionitril beinahe gleich, während an den übrigen Gliedern dieser Reihe die Verschiebung mit zunehmender C-Zahl *geringer* wird.

Organische Säuren. In der homologen Reihe der einwertigen organischen Säuren sind Streifenmitten 1, 2 und 3 stark violettwärts verschoben, doch wird diese Verschiebung mit zunehmender C-Zahl *geringer*, an der Isovaleriansäure noch geringer. Merkwürdig ist es, daß von den untersuchten einwertigen Oxysäuren die Milchsäure eine *violettwärts*, die β -Oxybuttersäure aber eine *rotwärts* gerichtete Verschiebung verursachen, noch merkwürdiger, daß mehrwertige Oxysäuren (Weinsäure, Citronensäure) ebenfalls eine *rotwärts* gerichtete Verschiebung bewirken.

Konzentrierte anorganische Säuren. In Schwefelsäure, und noch stärker in Salzsäure werden die ersten drei Absorptionsstreifen stark *rotwärts*, hingegen in Salpetersäure *violettwärts* verschoben.

D. Zusammenfassende Betrachtungen über die Verschiebung der Absorptionsstreifen.

Es kann nicht der Zweck unserer Betrachtungen sein, nach der wirklichen Ursache der im vorangehenden besprochenen Verschiebung der Absorptionsstreifen in verschiedenen Lösungsmitteln zu suchen, um so weniger, da diesbezüglich auch in der optischen Physik nur gewisse Zusammenhänge, nicht aber das Wesen der Sache gefunden wurde. In erster Linie soll hier a) die Verschiebung in KMnO_4 -Lösungen einerseits und in $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ -Lösungen andererseits verglichen und dann b) nach Zusammenhängen im obigen Sinne gefahndet werden.

a) Da die von mir untersuchten fünf Streifen des KMnO_4 sich von Rot bis in Blau, die vier von mir untersuchten Streifen des $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ aber von Blau bis tief in Violett hinein erstrecken, könnte man fürs erste annehmen, daß die entgegengesetzte Richtung der Verschiebungen vielleicht gar nicht durch die verschiedene Natur des Gelösten, sondern dadurch bedingt ist, daß die Beobachtungen an KMnO_4 -Lösungen vorwiegend im Gebiet der langwelligen, an $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ -Lösungen aber vorwiegend im Gebiet der kurzwelligen Strahlen ausgeführt wurden.

KMnO_4	571,2	547,4	525,1	505,0	486,8			
$\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$					487,0	470,0	455,5	442,9

Angesichts des Umstands jedoch, daß in der wässrigen Lösung der genannten Salze wenigstens *ein* Streifen — der fünfte am KMnO_4 und der erste am $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ — genau zusammenfallen, wird man sofort eines Besseren belehrt, denn der genannte KMnO_4 -Streifen wird von den verschiedenen Lösungsmitteln *rotwärts*, der genau an derselben Stelle gelegene $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ -Streifen aber *violettwärts* verschoben.

Eine weitere Möglichkeit, an die gedacht werden muß, ist, daß die Verschiebung der Absorptionsstreifen in Abhängigkeit von der Ladungsart des vom betreffenden Salze gelieferten farbigen Ions bald gegen das rote, bald gegen das violette Spektralende erfolgt. Indessen ist diese Annahme, wenigstens für die von mir untersuchten beiden

Fälle nicht stichhaltig, indem wohl das KMnO_4 in den von mir verwendeten starken Verdünnungen weitgehend dissoziiert ist und das farbige Anion MnO_4^- liefert (dessen Lichtabsorption übrigens nicht von dem des Moleküls verschieden ist); bezüglich einer Dissoziation des Uranylsalzes aber nichts bekannt ist¹⁾.

b) Was die Abhängigkeit der Streifenlage von anderen Eigenschaften der Lösungsmittel anbelangt, konnte innerhalb je einer homologen Reihe bloß stellenweise nachgewiesen werden, daß der Grad der Verschiebung von der C-Zahl des Lösungsmittels abhängt, und zwar in dem Sinne, daß am KMnO_4 die *rotwärts* gerichtete Verschiebung des Streifens in den höheren Homologen *zunimmt*, an $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ aber die *violettwärts* gerichtete Verschiebung in den höheren Homologen *abnimmt*, was so formuliert werden kann, daß *durch die wachsende C-Zahl die Streifenmitten beider Stoffe rotwärts verschoben werden*.

Weit stärker ist, wenigstens am $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$, die Abhängigkeit der Lage der Streifenmitten vom spezifischen Gewicht des Lösungsmittels, indem überall dort, wo das spezifische Gewicht kleiner als 1 ist, die Verschiebung violettwärts erfolgt; während in der Mehrzahl der Lösungen, deren spezifisches Gewicht des Lösungsmittels mehr als 1 beträgt (Glykol, Glycerin, Weinsäure- und Citronensäurelösung, Schwefelsäure), die Streifenmitten rotwärts verschoben sind. Allerdings läßt sich, da den Lösungsmitteln mit dem höheren spezifischen Gewicht auch die höheren Brechungsindizes eigentümlich sind und laut mehreren einschlägigen Mitteilungen gerade der Brechungsindex es ist, mit dem die Verschiebung der Absorptionsstreifen in Zusammenhang gebracht wird, auch in meinen Versuchen nicht sicher entscheiden, wie der Zusammenhang eigentlich beschaffen ist. Noch mehr wird die Frage dadurch kompliziert, daß von den Alkoholen und organischen Säuren gerade die zwei- bzw. mehrwertigen es sind, die die anormale rotwärts gerichtete Verschiebung bewirken.

E. Chemische Umsetzung als nachgewiesene Ursache der Verschiebung von Absorptionsstreifen.

Wie bereits erwähnt, konnte der eigentliche Grund der Verschiebung von Absorptionsstreifen — abgesehen von den Fällen, wo sich nach wohlbekannten Gesetzen anders gefärbte Teilchen, Ionen aus Molekülen oder umgekehrt entstehen — bisher nicht ermittelt werden. Anders verhält es sich bezüglich der nachfolgend zu beschreibenden Versuche in denen die Verschiebung der Absorptionsstreifen einer chemischen Deutung zugänglich ist. Wird nämlich die wässrige Lösung eines Uranylsalzes mit einer fremden Säure versetzt, so kann ein mit de

¹⁾ *Gmelin-Kraut*, Handb. d. anorgan. Chem. **3**, Abt. 1, S. 1073.

fremden Säure gebildetes Uranylsalz entstehen, dessen Absorptionsstreifen anders als die des ursprünglichen gelagert sind; daher die Möglichkeit besteht, auf dem Wege der Spektrometrie einen teilweisen Aufschluß über Ausmaß und Bedingungen dieser Umsetzungen zu erhalten.

1. Ich habe 3,454 g $UO_2(NO_3)_2$ (kristallwasserfrei gewogen) im Wasser gelöst und mit wachsenden Mengen von H_2SO_4 versetzt, so zwar, daß das Gesamtvolumen der Lösung jedesmal 14 ccm betrage, und erhielt für die Lage der beiden ersten Absorptionsstreifen nachfolgende Werte:

H_2SO_4	Streifen 1	Streifen 2
0	487,0	470,0
0,473	489,7	473,5
0,788	489,6	473,6
0,867	489,7	473,7
0,946	489,9	473,9
1,576	490,3	474,4
$UO_2(SO_4)$ im H_2O	490,4	474,2

Aus diesen Daten ist ersichtlich, daß nach Maßgabe des wachsenden H_2SO_4 -Gehalts der Lösung die Absorptionsstreifen rotwärts verschoben werden, und, sobald der H_2SO_4 -Zusatz 1,576 g erreicht hat, identisch mit denen einer rein wässrigen Lösung von UO_2SO_4 gelegen sind, zum Zeichen dessen, daß nun infolge eines „zweifachen Umsatzes“ alles $UO_2(NO_3)_2$ in UO_2SO_4 verwandelt wurde¹⁾. Daß aber hierzu die dem Nitratgehalt (0,85 g), äquivalente Menge H_2SO_4 (0,66 g) nicht genügt, geht daraus hervor, daß erst nach dem etwa 2,4fachen Zusatze die Lage der Absorptionsstreifen des Sulfats erreicht war.

2. Daß der Prozeß bei einer gewissen wässrigen HNO_3 -Konzentration in umgekehrter Richtung *nicht* verläuft, beweist der nächste Versuch, in dem eine wässrige Lösung von UO_2SO_4 mit Salpetersäure versetzt wurde, ohne daß eine Verrückung der Absorptionsstreifen violettwärts erfolgt wäre, die doch hätte eintreten müssen, wenn das Nitrat in einigermaßen beträchtlichen Mengen entstanden wäre.

	1. Streifen	2. Streifen
4,57 g UO_2SO_4 in 14 ccm H_2O	490,4	474,3
4,57 g UO_2SO_4 nach Zusatz von 0,47 g HNO_3 und H_2O ad 14 ccm	490,3	474,0

3. Wurden 3,454 g $UO_2(NO_3)_2$ mit wachsenden Mengen von HCl versetzt, so trat abermals eine Verschiebung der Absorptionsstreifen auf, die folgenden Gang aufwies:

HCl	Streifen 1	Streifen 2
0	487,0	470,0
0,36	487,6	473,0
0,48	488,5	473,9
0,65	488,7	474,5
0,71	489,2	474,0
1,21	491,0	475,5
UO_2Cl_2 in H_2O	488,7	474,0
UO_2Cl_2 in conc. HCl	493,4	479,5

¹⁾ Dieser meiner Annahme würde natürlich die Grundlage fehlen, wenn es sich um verdünnte Lösungen eines stark dissoziierenden Salzes handelte.

Auch hier erfolgt nach Maßgabe des HCl-Zusatzes eine rotwärts gerichtete Verschiebung der Absorptionsstreifen; hier aber genügt eine dem Nitratgehalt (0,85 g) äquivalente Menge von HCl (0,50 g) gerade, um alles Nitrat in das Chlorid zu verwandeln, dessen Absorptionsstreifen in wässriger Lösung am Fuße der Zusammenstellung verzeichnet sind. Wird noch weiter HCl hinzugefügt, so erfolgt eine weitere Verschiebung der Absorptionsstreifen nach Rot, was sich gut mit dem Umstande deckt, daß, wie ebenfalls am Fuße der Zusammenstellung verzeichnet ist, in einer Lösung von UO_2Cl_2 in konzentrierter HCl die Streifen sehr stark rotwärts verschoben sind, welcher Zustand durch die fortgesetzte Zugabe von HCl von mir wohl angenähert, jedoch nicht erreicht wurde.

4. Ich habe eine Lösung von 2,616 g UO_2Cl_2 mit wachsenden Mengen von HNO_3 versetzt und die Lösung jedesmal mit Wasser auf 9,7 ccm aufgefüllt. Es wurde folgendes Verhalten der Absorptionsstreifen beobachtet:

HNO_3	Streifen 1	Streifen 2
0	488,7	474,0
0,35	488,8	473,9
0,80	488,9	474,4
1,33	489,9	475,2
Sehr viel	483,3	468,0
$\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ in H_2O	487,0	470,0
$\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ in conc. HNO_3	483,3	466,0

Es wird also bei mäßigen HNO_3 -Konzentrationen kein Nitrat aus dem Chlorid gebildet; denn dies würde entsprechend dem Verhalten einer wässrigen Lösung des Nitrats (wie aus den Daten am Fuße der Zusammenstellung ersichtlich), eine violettwärts gerichtete Verschiebung der Streifen bedingen, während tatsächlich eine Verschiebung nach Rot eingetreten war. Als ich nun HNO_3 im großen Überschuß hinzufügte, trat unter Gasbildung eine Bräunung der Flüssigkeit auf; als aber nach dem Erwärmen wieder die ursprüngliche hellgelbe Färbung erschienen war, zeigten die Streifen eine starke violettwärts gerichtete Verschiebung. Ihre Lage entsprach sehr gut dem Spektrum des $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ in ccm HNO_3 , zum Zeichen dessen, daß nun erst alles Chlorid in das Nitrat verwandelt war.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. *Hári* ausgeführt.

Beiträge zur Reduktion von Kupferoxydsalzen durch Traubenzucker und durch Harnsäure.

Von
Elisabeth Lányi.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der königl. ungar. Universität
Budapest.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Reduktion von Kupferoxyd durch biochemisch so wichtige Stoffe wie Traubenzucker (Fruchtzucker usw.) und Harnsäure ist ein in quantitativer Anwendung über und über oft geprüfter Vorgang, dessen Eigentümlichkeiten aber zurzeit noch nicht näher erklärt sind. Diese bestehen darin, daß die Reaktion bekanntlich nicht nach stöchiometrischen Proportionen verläuft, und das quantitative Ergebnis außerdem auch in Abhängigkeit von der verwendeten Konzentration des Zuckers, der Kupferlösung usw. jeweils ein verschiedenes ist. Die noch ausständige Lösung obiger Fragen wurde, wie ich gleich vorausschicken möchte, durch nachstehend beschriebene Versuche nicht gelöst, höchstens der Lösung um einen Schritt nähergebracht. Und zwar geschah dies einerseits, indem ich die Konzentration des reduzierenden Stoffes oder die Kochzeiten variierte; andererseits dadurch, daß ich das bei diesen Reduktionsreaktionen verwendete Seignettesalz durch andere $\text{Cu}(\text{OH})_2$ in Lösung enthaltende Stoffe ersetzte; ferner durch Vornahme der Reduktion auch in saurer statt, wie gewöhnlich, in alkalischer Lösung; endlich durch Vergleich der Kupfermengen, die durch Traubenzucker einerseits, durch Harnsäure andererseits reduziert werden.

Es kam in meinen Versuchen nicht darauf an, verschiedene quantitative Methoden zu vergleichen, vielmehr wählte ich nur eine, die verhältnismäßig einfach durchzuführen und doch genau ist. Als solcher bediente ich mich der *Bertrandschen* Methode, natürlich, um gut vergleichbare Resultate zu erhalten, unter steter Berücksichtigung der vorgeschriebenen Kautelen. Ich habe stets denselben Brenner und

dieselbe Flammenhöhe verwendet, die Flüssigkeit nach abgelaufener Kochzeit sofort unter fließendem Wasser abgekühlt und gleich darauf mit dem Dekantieren begonnen. Auch habe ich nur reinste Reagenzien, so z. B. Traubenzucker von *Kahlbaum* und dreimal umkristallisiertes Cuprisulfat, verwendet.

A. Versuche an Traubenzucker.

1. Versuche mit alkalischer Seignettesalzlösung unter Variierung der Zuckerkonzentration und der Kochzeit.

Die Versuche wurden an verschiedenen konzentrierten Zuckerlösungen ausgeführt, wobei 20, 30 usw. bis 100 mg Zucker mit dem Kupferoxyd in Reaktion traten. Die Dosierung dieser Mengen führe ich an diese Stelle beispielsweise an; in den übrigen Versuchsreihen erfolgte sie in analoger Weise.

0,4996 g Traubenzucker in 100 ccm gelöst; von dieser Lösung:

15 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 30 mg Traubenzucker
20 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 40 „ „
25 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 50 „ „
30 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 60 „ „

0,7500 g in 150 ccm Wasser gelöst; von dieser Lösung:

20 ccm auf 100 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 20 mg Traubenzucker
35 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 70 „ „
40 ccm auf 50 ccm verdünnt; hiervon 20 ccm entnommen	= 80 „ „
20 ccm entnommen	= 100 „ „

Dabei ist aber erstens zu bemerken, daß die Stammlösungen stets nur zu einer Versuchsreihe verwendet und nur so viel Verdünnungen hergestellt wurden, wie im Verlauf der nächstfolgenden einigen Stunden aufgearbeitet werden konnte; zweitens, daß die in den Tabellen enthaltenen Zahlen in einigen Versuchsreihen den Mittelwert aus zwei Parallelanalysen darstellen, die an je einer Lösung ausgeführt wurden; in anderen Versuchsreihen habe ich zwei oder mehrere gleich konzentrierte Lösungen hergestellt und an jeder derselben je zwei Parallelanalysen ausgeführt; die Mittelwert solcher Analysenpaare sind in Fußnoten unterhalb der betreffenden Tabellen angegeben; die Tabelle selbst enthält den entsprechenden Gesamtmittelwert.

Die Ergebnisse der an Traubenzucker mit Seignettesalz in alkalischer Lösung ausgeführten Versuche sind in nachfolgender Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Traubenzucker mg	20	30	40	50
1 Min. Kochzeit; mg Cu	37.5 ¹⁾	55.8 ²⁾	73.8 ³⁾	91.9 ⁴⁾
2 - " " " "	39.0 ⁵⁾	57.8 ¹⁰⁾	75.7 ¹¹⁾	93.6 ¹²⁾
3 - " " " "	40.1	59.1	77.5	95.0
5 - " " " "	41.7	60.9	79.6	97.6
10 - " " " "	42.7	62.8	82.2	100.8

Traubenzucker mg	60	70	80	100
1 Min. Kochzeit; mg Cu	110.2 ⁵⁾	128.0 ⁶⁾	144.4 ⁷⁾	177.4 ⁸⁾
2 - " " " "	111.9 ¹³⁾	128.6 ¹⁴⁾	145.6 ¹⁵⁾	177.7 ¹⁶⁾
3 - " " " "	112.8	129.8	146.1	177.8
5 - " " " "	116.0	132.3	147.7	178.8
10 - " " " "	118.9	133.4	148.8	179.4

1) Mittelwert aus 37.2 und 37.7, 2) aus 55.9 und 55.7, 3) aus 74.1 und 73.5, 4) aus 91.3 und 92.5, 5) aus 110.1 und 110.3, 6) aus 127.4 und 128.7, 7) aus 143.4 und 145.4, 8) aus 176.9 und 177.9, 9) aus 38.9 und 39.0, 10) aus 58.0 und 57.6, 11) aus 76.1 und 75.3, 12) aus 93.3 und 94.5, 13) aus 111.6 und 112.1, 14) aus 127.6 und 129.7, 15) aus 145.3 und 145.9, 16) aus 177.2 und 178.2.

Bezüglich der Tabelle I ist zu bemerken, daß die für 3 Minuten Kochzeit angegebenen Daten der *Bertrandschen* Originaltabelle entnommen sind. Doch habe ich bei der Kochzeit von 3 Minuten auch selbst Bestimmungen an verschiedenen konzentrierten Zuckerlösungen vorgenommen und mich durch die gute Übereinstimmung meiner Werte mit den *Bertrandschen* davon überzeugen können, daß die Bedingungen und die Ausführung meiner Versuche der Vorschrift entsprachen.

In der Tabelle II ist berechnet, wieviel vom Reduktionsprodukt bei den verschiedenen Zuckerkonzentrationen auf je 10 mg Zucker entfällt.

Tabelle II.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
1 Min. Kochzeit; mg Cu	18,7	18,6	18,4	18,4	18,4	18,3	18,0	17,7
2 - " " " "	19,5	19,2	18,9	18,8	18,6	18,5	18,2	17,8
3 - " " " "	20,0	19,7	19,3	19,0	18,8	18,5	18,3	17,8
5 - " " " "	20,8	20,3	19,9	19,5	19,3	18,9	18,5	17,9
10 - " " " "	21,3	20,9	20,5	20,2	19,8	19,1	18,6	18,2

Aus Tabelle I und II geht zunächst die längst bekannte Tatsache hervor, daß durch ein und dieselbe Zuckermenge um so weniger Kupferoxyd reduziert wird, je konzentrierter die Lösung ist; weiterhin, was auch zu erwarten ist, daß die Menge des Reduktionsprodukts mit der längeren Kochzeit zunimmt.

Aus einer genauen Betrachtung der Tabellen I und II geht aber auch hervor, daß die Menge des Reduktionsprodukts von der gleichzeitigen Variation der Konzentration und der Kochzeit in ziemlich komplizierter Weise abhängt.

In der Tabelle III ist die Wirkung der zunehmenden Kochzeit bei zunehmender Zuckerkonzentration dadurch dargestellt, daß bezüglich der

Kochzeiten von 2, 3, 5 und 10 Minuten bei jeder Zuckerkonzentration das Plus an Reduktionsprodukt gegenüber dem Ergebnisse der Kochzeit von 1 Minute berechnet ist.

Tabelle III.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
Unterschied in Cu zwischen 2 und 1 Min.	1,5	2,0	1,8	1,9	1,7	1,3	1,3	0,5
" 3 " 1 "	2,6	3,3	3,7	3,1	2,6	1,8	1,7	0,4
" 5 " 1 "	4,2	5,1	5,8	5,7	5,8	4,3	3,3	1,4
" 10 " 1 "	5,2	7,0	8,4	8,9	8,7	5,4	4,4	2,6

Dieses Plus ist am geringsten bei der höchsten von mir verwendeten Zuckerkonzentration (100 mg), größer bei der geringsten Zuckerkonzentration (20 mg) und weitaus am größten bei den mittleren Zuckerkonzentrationen, und zwar ergibt sich das Maximum bei einer um so größeren mittleren Zuckerkonzentration, je länger die Kochzeit ist. Diese Verhältnisse gehen klar aus den vier Kurven (in Abb. 1) hervor,

durch die das Plus an Reduktionsprodukt dargestellt ist, wenn die Kochzeit von 1 auf 2 Minuten, von 1 auf 3 Minuten, von 1 auf 5 Minuten und von 1 auf 10 Minuten verlängert wurde.

Will man also das Ergebnis des Reduktionsvorganges von der Kochzeit möglichst unabhängig machen, so muß man die Reduktion bei möglichst großen Konzentrationen (100 mg in dem von Bertrand vorgeschriebenen Gemisch), oder aber bei möglichst geringen Konzentrationen (20 mg im Bertrand'schen Gemisch) vornehmen; Konzentrationen aber, die zwischen 20 und 100 mg gelegen sind, durch Einengen oder durch Verdünnen auf den oben genannten größten, oder geringsten Wert bringen.

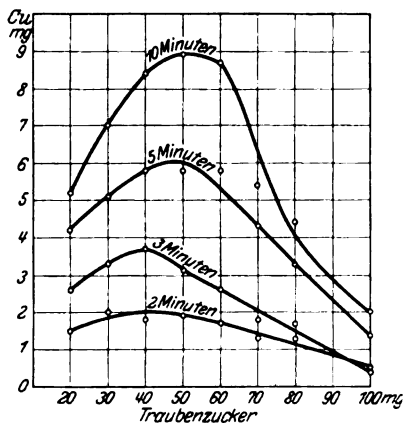


Abb. 1.

Das günstige Ergebnis, das man bei 100 mg Zucker erhält, läßt sich aber noch verbessern. Denn, während bei 100 mg Zucker die Zunahme des Reduktionsprodukts durch Verlängerung der Kochzeit von 1 auf 10 Minuten 179,4 — 177,4, also etwas mehr als 1 Proz. beträgt, wird der absolute, wie auch der relative Zuwachs, wie aus nachfolgender Tabelle IV hervorgeht, bei 120 mg Zucker noch geringer. (Allerdings mußte bei dieser Versuchsreihe statt der von Bertrand vorgeschriebenen Lösung von 20 g CuSO₄ in 500 ccm Wasser eine solche verwendet werden, die 24 g im selben Volumen enthielt.)

Tabelle IV.

Kochzeit Min.	1	2	3	5	10
mg Cu	207,9	207,9	208,2	208,0	208,5

Die Zunahme beträgt bei der Verlängerung der Kochzeiten von 1 auf 10 Minuten nur mehr 208,5 — 207,9, also etwa 0,3 Proz. Daß auch durch eine Verringerung der Konzentration unter die von mir verwendete untere Grenze von 20 mg der Einfluß der verschiedenen Kochzeiten noch mehr heruntergedrückt werden kann, ist sehr wahrscheinlich; denn solche Verhältnisse herrschen ja bei der vielbewährten *Bang*schen und bei anderen Mikromethoden; es sei denn, daß die Reoxydation des nunmehr sehr geringen Reduktionsprodukts unter den Verhältnissen, die bei der Ausführung der *Bertrand*schen Methode herrschen, störend ins Gewicht fällt.

2. Ersatz des Seignettesalzes durch Citronensäure.

Der $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -Niederschlag, der die Reduktion durch den Zucker erleidet, wird in den meisten üblichen Verfahren durch Seignettesalz in Lösung erhalten, und es war wünschenswert, es durch andere Stoffe zu ersetzen, sofern sie ebenfalls $\text{Cu}(\text{OH})_2$ in Lösung zu erhalten vermögen. Zu diesen Stoffen gehört auch die Citronensäure¹⁾. Ich habe, um mit den früheren vergleichbare Resultate zu erhalten, CuSO_4 in derselben, Citronensäure aber in einer dem Seignettesalz äquimolekularen Konzentration verwendet. Da aber die Möglichkeit bestand, daß in einer Mischung von Lauge und Citronensäure beim Stehen unerwünschte Veränderungen eintreten, durch die die Versuchsergebnisse in unkontrollierbarer Weise beeinflusst werden können, habe ich wohl, wie früher, 20 ccm der CuSO_4 -Lösung, jedoch abweichend von dem mit dem Seignettesalz geübten Verfahren, von einer doppeltkonzentrierten Lauge und einer (dem Seignettesalz) doppeltäquimolekularen Citronensäurelösung je 10 ccm gesondert verwendet. Die Zuckerkonzentration habe ich ebenso wie in den Seignettesalzversuchen variiert, als Kochzeit jedoch stets nur die Dauer von 10 Minuten gewählt. Die Reduktion verlief gleich glatt wie in den Seignettesalzversuchen mit dem alleinigen Unterschiede, daß im zitronensauren Medium die Korngröße des Reduktionsprodukts eine viel geringere war, daher der Niederschlag weit langsamer und weniger vollkommen zu Boden sank.

In der Tabelle V sind die reduzierten Kupfermengen angegeben, und ist auch berechnet, wie viel reduziertes Kupfer auf je 10 mg Zucker bei den verschiedenen Zuckerkonzentrationen entfällt.

Tabelle V.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
mg Cu	35,3	51,3	68,0	84,6	99,1	108,3	129,2	150,7
. . pro 10 mg Zucker	17,6	17,1	17,0	16,9	16,5	15,5	16,1	15,1

Die Daten der Tabelle V lassen leicht erkennen, daß mit zunehmender Zuckerkonzentration die Menge des reduzierten Kupfers, wie in den Seignettesalzversuchen, zwar zunimmt, doch verhältnismäßig stets geringer wird. Vergleicht man hingegen die mit Citronensäure und mit Seignettesalz bei den verschiedenen Zuckerkonzentrationen erhaltenen Werte, wie dies in der Tabelle VI geschehen ist, so ergibt sich einerseits, daß in den Citronensäureversuchen durchweg weniger Kupfer reduziert wird, andererseits aber, daß dieses Minus stets annähernd gleich groß ist.

¹⁾ Luff, Chem. Centralbl. 1898/b, 683.

Tabelle VI.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
Mit Citronensäure weniger . . Proz.	16,3	18,3	17,3	16,0	16,6	18,8	13,2(?)	16,0

Allerdings sind die in Prozenten ausgedrückten Unterschiede etwas schwankend und durchaus nicht so konstant, wie es erwünscht wäre; doch rührt dies sicherlich nur von den kaum zu vermeidenden Versuchsfehlern her.

3. Ersatz des Seignettesalzes durch Glycerin.

Ein zweiter Stoff, der, ohne selbst zu reduzieren, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ in Lösung zu erhalten vermag, daher zum Ersatz des Seignettesalzes geeignet erscheint, ist das Glycerin, wie dies bereits von einer Reihe von Autoren¹⁾ erkannt wurde. Meine mit Glycerin ausgeführten Versuche habe ich nach dem bei der Citronensäure vorangehend beschriebenen Prinzipien eingerichtet: namentlich habe ich CuSO_4 in der von *Bertrand* vorgeschriebenen Konzentration verwendet, von der Lauge doppelt konzentrierte, vom Glycerin aber doppelt äquimolekulare Lösungen angefertigt, und von diesen beiden je 10 ccm zu dem zu kochenden Gemische hinzugefügt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle VII zusammengestellt.

Tabelle VII.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
mg Cu	45,2	65,8	86,5	105,2	125,4	145,1	160,9	190,0
„ „ pro 10 mg Zucker	22,6	21,6	21,6	21,0	20,9	20,7	20,1	19,0

Den Daten der Tabelle VII ist zu entnehmen, daß auch hier von je 10 mg Zucker mit zunehmender Zuckerkonzentration Kupferoxyd in verhältnismäßig abnehmenden Mengen reduziert wird. Vergleicht man obige Werte wieder mit den mit Seignettesalz erhaltenen (Tabelle VIII), so ergibt sich, daß die Menge des Reduktionsproduktes in den Glycerinversuchen bei jeder Zuckerkonzentration größer ist als in den Seignettesalzversuchen, und daß, wenn auch der Unterschied recht große Schwankungen aufweist, diese Schwankungen um einen konstanten Wert herum erfolgen.

Tabelle VIII.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
Mit Glycerin mehr Proz.	7,1	4,8	5,0	4,2	5,2	8,1	7,5	5,6

4. Reduktion in schwach essigsaurer Lösung.

Um zu prüfen, ob der eigentümliche Verlauf des Reduktionsvorganges, der den Seignettesalz, Citronensäure und Glycerin enthaltenden Medien in gleicher Weise zukommt, von der gleichzeitigen Anwesenheit von starken

¹⁾ Löwe, Zeitschr. f. analyt. Chem. 9, 20.

fixen Alkalien abhängt oder nicht, habe ich die Versuche in schwach essigsauren Lösungen fortgesetzt, mußte jedoch, da CuSO_4 unter diesen Umständen nicht reduziert wird, an dessen Stelle $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, also das *Barfoedsche* Reagens, verwenden. Ich habe zu diesem Behufe nach *Rosenthalers* Vorschrift ¹⁾ 13,3 g $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$ in 200 ccm 1proz. Essigsäure gelöst, zu jedem Gemisch je 20 ccm dieser Kupferlösung und der zu untersuchenden Zuckerlösung verwendet, und das Gemisch, um den *Bertrandschen* Anordnungen analoge Versuchsbedingungen zu schaffen, mit Wasser auf 60 ccm ergänzt. Schwierigkeiten sind hierbei einerseits durch die teilweise Verflüchtigung der Essigsäure während der 10 Minuten betragenden Kochdauer entstanden, andererseits aber daraus, daß der Niederschlag von Cu_2O äußerst fein verteilt war. Diesen Schwierigkeiten ist es zuzuschreiben, daß jeder der in der Tabelle IX mitgeteilten Versuche zwei oder mehrere Male wiederholt werden mußte, und daß trotzdem gewisse Schwankungen der Werte zu verzeichnen waren.

Tabelle IX.

Traubenzucker mg	20	30	40	50
mg Cu	41,1 ¹⁾	61,0 ²⁾	79,8 ³⁾	96,3 ⁴⁾
- - pro 10 mg Zucker . .	20,5	20,3	19,9	19,3

Traubenzucker mg	60	70	80	100
mg Cu	108,5 ⁵⁾	120,6 ⁶⁾	129,5 ⁷⁾	139,9 ⁸⁾
- - pro 10 mg Zucker . .	18,1	17,2	16,2	14,0

¹⁾ Mittelwert aus 41,2 und 40,9. ²⁾ aus 60,9 und 61,1. ³⁾ aus 78,7, 80,1, 80,4 und 80,1. ⁴⁾ aus 94,2 und 98,4. ⁵⁾ aus 107,5, 110,2, 114,4, 104,1, 106,2. ⁶⁾ aus 122,8, 118,0 und 120,6. ⁷⁾ aus 129,0, 128,5, 129,9 und 130,5. ⁸⁾ aus 141,0 und 138,8.

Aus Tabelle IX geht hervor, daß der Reduktionsprozeß auch in der schwach essigsauren Lösung analog wie in der alkalischen vor sich geht, indem von derselben Zuckermenge um so weniger Kupferoxyd reduziert wird, je konzentrierter die Zuckerlösung ist. Ein Vergleich der in essigsaurem Medium mit $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$ und in alkalischer Seignettesalzlösung mit CuSO_4 ausgeführten Versuchen ergibt weiterhin, wie der Tabelle X zu entnehmen ist, nicht nur, daß die Menge des Reduktionsproduktes in der essigsauren Lösung eine geringere ist, sondern auch, daß in der essigsauren Lösung die mit wachsender Zuckerkonzentration erfolgende relative Abnahme des Reduktionsproduktes eine weit rapidere ist, als in den alkalischen Lösungen:

Tabelle X.

Traubenzucker mg	20	30	40	50	60	70	80	100
Mit $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$ weniger. Proz.	2,9	2,9	2,9	4,7	9,6	10,6	14,9	28,3

Fassen wir die Ergebnisse der an Traubenzucker in alkalischer Lösung ausgeführten Versuche zusammen, so ergibt sich, daß seine Reduktionsfähigkeit bei einer und derselben Konzentration je nach der Art des Reagens,

¹⁾ L. Lippmann, Chemie der Zuckerarten. Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig 1904.

mit dessen Hilfe $\text{Cu}(\text{OH})_2$ in Lösung erhalten wurde, eine verschiedene ist. Diese Unterschiede können dadurch verursacht sein, daß ich, wie erwähnt, mangels einer anderen orientierenden Grundlage Citronensäure bzw. Glycerin in je einer dem Seignettesalz äquimolekularen Konzentration verwendet habe, es aber durchaus nicht ausgemacht ist, daß die Bildung der komplexen löslichen Verbindung des $\text{Cu}(\text{OH})_2$ mit Citronensäure bzw. mit Glycerin nach denselben molekularen Verhältnissen wie mit dem Seignettesalz

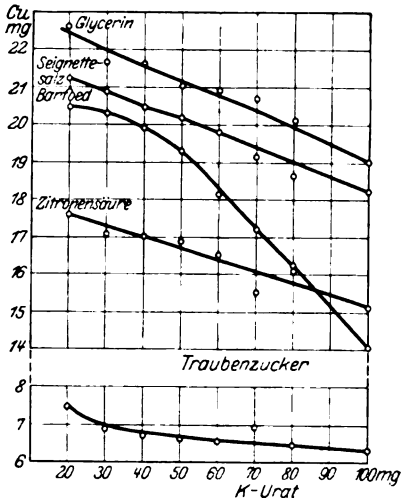


Abb. 2.

offenbar von der Verschiedenheit der Versuchsbedingungen her, darin bestehend, daß in den oben besprochenen Fällen eine stark alkalische, hier aber eine ausgesprochen saure Reaktion geherrscht hatte. Dem Wesen nach dürfte es sich aber auch hier um denselben Vorgang handeln.

B. Reduktion von Kupferoxyd durch Harnsäure.

Von quantitativen Versuchen sind diesbezüglich bekannt die Untersuchungen von *Worm Müller*¹⁾, aus denen hervorgeht, daß durch 1 Molekül des sauren Kaliumurats 2 Moleküle des schwefelsauren Kupfers reduziert wurden; ferner auch die Versuche von *Riegler*²⁾, aus dem sich ein vom obigen wesentlich abweichendes Resultat berechnen läßt, indem hier mehr als 2 Moleküle reduzierten Kupfersulfats auf 1 Molekül Harnsäure entfallen.

In meinen Versuchen habe ich teils *Merck*sches, teils nach *Bensch*³⁾ von mir hergestelltes saures Kaliumurat verwendet.

¹⁾ *Worm Müller*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 42, 127.

²⁾ *Riegler*, Zeitschr. f. analyt. Chem. 85, 31.

³⁾ *Bensch*, Ann. d. Chem. u. Pharm. 54, 190.

Zu letzteren Behufe habe ich reine Harnsäure in KOH von 1,12 spezifischem Gewicht in der Kälte gelöst und CO₂-Gas eingeleitet. Der anfangs gelatinöse Niederschlag hat bald eine körnige Umwandlung erfahren; auf das Filter gebracht, wurde er mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum über konz. H₂SO₄ getrocknet. Die Reinheit beider Präparate habe ich durch N-Bestimmungen nach *Kjeldahl* kontrolliert.

Merck'sches Präparat: 0,1393 g ergaben 0,03794 g N = 27,23 Proz. N
 0,1094 g „ 0,02984 g N = 27,27 „ N
 Eigenes Präparat: 0,0891 g „ 0,0235 g N = 26,40 (?) „ N
 0,1110 g „ 0,0303 g N = 27,30 „ N

Berechnet für C₅H₃N₄O₃K 27,23 Proz.

Außer dem fertigen Urat habe ich freie Harnsäure in alkalischer Lösung verwendet, was ja eigentlich auf dasselbe hinauskommt.

An abgemessenen Mengen dieser Lösungen, enthaltend 20 bis 120 mg des Urats (an den Lösungen von reiner Harnsäure auch 10 und 15 mg) wurde die Reduktion genau nach der *Bertrand'schen* Vorschrift ausgeführt. Da die Kochzeit von 3 und 5 Minuten, die ich in den ersten, orientierenden Versuchen verwendete, unsichere Resultate gab, habe ich weiterhin durchwegs eine Kochzeit von 10 Minuten gewählt. Die Dosierung erfolgte in den Versuchen an Harnsäure durch Abwägen der entsprechenden Stoffmenge und Lösung in kalter 4proz. Kalilauge, wobei natürlich berücksichtigt wurde, daß das beim Lösungsprozeß entstehende K-Urat in Mengen vorhanden sei, die in den betreffenden Tabellen angegeben sind. In den Versuchen mit fertigem K-Urat wurden ähnlich wie in den Traubenzuckerversuchen, Stammlösungen mittels 4proz. Kalilauge als Lösungsmittel, und aus diesen entsprechende Verdünnungen bereitet.

Die Ergebnisse aller dieser Versuche sind in der Tabelle XI zusammengestellt.

Tabelle XI.

K-Urat mg	10	15	20	30	40	50	60	70	80	100	120
<i>Merck'sches</i> Urat . . mg Cu	—	—	15,2	—	26,6	—	39,1	—	51,5	62,5	74,5
Eigenes „ „	—	—	14,9	—	27,2	—	39,1	—	50,8	63,2	76,0
Harnsäure „	9,4	12,1	15,0	20,6	26,8	33,0	39,5	48,2	51,6	63,2	—
Mittelwerte „	9,4	12,1	15,1	20,6	26,8	33,0	39,3	48,2	51,5	62,9	74,9
Pro 10 mg Urat . . mg Cu	9,4	8,1	7,5	6,9	6,7	6,6	6,5	6,9	6,4	6,3	6,3

Aus den Daten der Tabelle XI geht die meines Wissens bisher nicht bekannte Tatsache hervor, daß, wie in den Zuckerversuchen, die Menge des durch das Urat reduzierten Kupferoxydes mit wachsender Uratkonzentration verhältnismäßig stets geringer wird; am stärksten ist der Abfall beim Übergang von 10 mg auf 15 mg des verwendeten Urats; von 40 mg angefangen, weit geringer, so daß es den Anschein hat, als bestünde bei Uratmengen von 80 mg und darüber bereits eine volle Proportionalität zwischen der Menge des Urats und des reduzierten Kupferoxyds (s. auch Abb. 2).

Zu ganz interessanten Feststellungen gelangt man durch Vergleich (Tabelle XII) der an Uratlösungen und an Zuckerlösungen in gleicher Weise mit CuSO₄ und alkalischer Seignettesalzlösung ausgeführten Versuche.

Tabelle XII.

Traubenzucker oder K-Urat mg	20	30	40	50	60	70	80	100
Cu durch Traubenzucker, mg	42,7	62,8	82,2	100,8	118,9	133,4	148,8	179,4
„ „ K-Urat	15,1	20,6	26,8	33,0	39,3	48,2	51,5	62,9
Durch Traubenzucker wird n-mal mehr reduziert . . .	2,8	3,0	3,0	3,0	3,0	2,8	2,9	2,8

Es wird also durch Harnsäure weit weniger viel Kupferoxyd als durch gleiche Mengen Traubenzucker reduziert; dabei besteht aber wenigstens innerhalb der von mir verwendeten Konzentrationsgrenzen ein gewisser Parallelismus in der Reduktionsfähigkeit beider Stoffe. Dies geht aus der offensichtlichen Konstanz der in Tabelle XII berechneten Verhältniszahlen hervor (Mittelwert = 2,9), die ja diese Konstanz nur in dem Falle aufweisen können, wenn der Abfall der Reduktionsfähigkeit bei zunehmender Konzentration gleich groß ist am Traubenzucker und an der Harnsäure. Alles dies gilt natürlich nur für die Verhältnisse, die bei der Ausführung des *Bertrandschen* Verfahrens bezüglich der Konzentration des Kupfersulfates, des Seignettesalzes und der Lauge gegeben sind, und die auch ich mit Ausnahme der Kochzeit (bei mir 10 Minuten) befolgt habe.

C. Gegenseitige Beeinflussung der Reduktionsfähigkeit von Traubenzucker und Kallumurat.

Mit Rücksicht auf gewisse praktisch wichtige Umstände, wie z. B. der Bestimmung des Zuckers in harnsäurehaltigen Lösungen, war auch zu erwägen, wie die Reduktion wohl verläuft, wenn diese beiden so erheblich verschieden stark reduzierenden Stoffe gleichzeitig nebeneinander vorhanden sind? Diese Versuche wurden entsprechend der vorangehend befolgten Anordnung so ausgeführt, daß je 20 ccm der *Bertrandschen* CuSO_4 - und alkalischen Seignettesalzlösung, sowie 20 ccm einer Lösung, die Traubenzucker und Kaliumurat zu wechselnden Anteilen enthielt, vermischt und 10 Minuten gekocht wurden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in nachfolgender Tabelle XIII zu-

Tabelle XIII.

20 ccm Lsg. enthielten		Cu gefunden	mg Cu berechnet					
Trauben- zucker mg	K-Urat mg		nach A			nach B		
			aus Trauben- zucker	aus Urat	zu- sammen	aus Trauben- zucker	aus Urat	zu- sammen
30	60	95,5	62,7	39,3	101,7	60,6	37,8 ¹⁾	98,4
20	60	76,6	42,7	39,3	82,0	41,0	37,8	78,8
20	50	69,2	42,7	33,0	75,7	41,2	31,5	72,7
20	40	63,4	42,7	26,8	69,5	41,6	25,2	66,8

¹⁾ Hier ergeben sich für K-Urat + Traubenzucker (in K-Urat ausgedrückt) 150 mg, mit welcher Menge ich keine Versuche ausgeführt hatte, für welche daher auch keine entsprechenden Werte in Tabelle II enthalten sind. Bei der annähernden Konstanz des mit 80 bis 120 mg erhaltenen Wertes konnte aber angenommen werden, daß er auch für 150 mg gilt, und durfte daher mit diesem Werte gerechnet werden.

sammengestellt, daselbst auch nach zwei verschiedenen Methoden berechnet, wie viel Reduktionsprodukt eigentlich hätte erhalten werden müssen.

Führt man zunächst eine Berechnung A in der Annahme durch, daß sich Traubenzucker und K-Urat in ihren reduzierenden Wirkungen gegenseitig nicht beeinflussen, also jede 10 mg Traubenzucker bzw. K-Urat so viel Kupfer reduzieren, als ihren gerade vorhandenen Mengen laut Tabellen II und XI entspricht, so ergibt sich, daß durchwegs um 6 bis 9 Proz. weniger gefunden wurde, als aus der Berechnung hervorgeht. Zieht man jedoch bei einer Berechnungsart B in Betracht, daß z. B. im zweiten Versuch wohl nur 20 mg Traubenzucker vorhanden waren, daneben aber auch 60 mg K-Urat, durch die die Reduktionsfähigkeit der 20 mg Traubenzucker ebenso beeinflußt wird, wie durch ein Plus an Traubenzucker, so darf die Berechnung des durch 20 mg Traubenzucker reduzierten Kupfers nicht auf Grund des mit 20 mg überschriebenen Stabes der Tabelle II erfolgen, man wird vielmehr so rechnen müssen, wie wenn 20 mg plus so viel Traubenzucker vorhanden gewesen wäre, als den 60 mg K-Urat entspricht; allerdings unter Berücksichtigung der Tatsache, daß die Reduktionsfähigkeit des Urats nur den 2,9. Teil der Reduktionsfähigkeit des Traubenzuckers beträgt. Man rechnet also so, wie wenn $20 + \frac{60}{2,9} = 40,7$ mg Traubenzucker

vorhanden gewesen wäre, und berechnet die Menge des durch 20 mg Zucker reduzierten Kupfers aus dem mit 40 mg überschriebenen Stabe der Tabelle II. Dasselbe gilt auch für die Berechnung des Cu, das auf die K-Uratkomponente entfällt. Es waren zwar nur 60 mg Urat vorhanden, daneben aber auch 20 mg Traubenzucker, die so wirken, wie wenn ein Plus an K-Urat, also insgesamt $60 + (20 \times 2,9) = 118$ mg K-Urat vorhanden gewesen wären; demzufolge die Menge des durch 60 mg K-Urat reduzierten Kupfers nicht aus dem mit 60, sondern aus dem mit 120 mg überschriebenen Stabe der Tabelle XI erfolgt.

Führt man diese Berechnung auch in den anderen Versuchen durch, so ergeben sich die im letzten Stabe der Tabelle XIII verzeichneten Werte, die nur mehr um 3 bis 5 Proz. größer sind, als die gefundenen.

Es scheint also aus diesen Versuchen mit großer Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, daß *die relative Herabsetzung der Reduktionsfähigkeit des Traubenzuckers (bzw. des K-Urats) in gleicher Weise stattfindet, ob seine Konzentration allein oder die der reduzierenden Stoffe überhaupt gesteigert wird.*

D. Schlußbetrachtungen.

Das, was in allen Versuchen, ob an Traubenzucker in alkalischer oder in saurer Lösung, ob mit Seignettesalz oder mit Citronensäure oder mit Glycerin, ob an Traubenzucker oder an K-Urat ausgeführt, gleichmäßig in Erscheinung tritt, ist die relative Abnahme der Menge des Reduktionsprodukts mit steigender Konzentration am reduzierenden Stoffe. Die Schuld hieran kann demnach nur im gegenseitigen Aufeinanderwirken von Traubenzucker (oder K-Urat) und Kupferoxyd gelegen sein. Worin aber dies begründet ist, darüber läßt sich zurzeit nichts aussagen. Man könnte geneigt sein, die kolloide Natur des auf irgend eine Weise in Lösung gebrachten $\text{Cu}(\text{OH})_2$, auf das der molekulardisperse

Traubenzucker (oder K-Urat) einwirkt, verantwortlich zu machen. Hiergegen spricht aber, daß die relative Herabsetzung der Reduktionsfähigkeit des Traubenzuckers auch in der essigsäuren Lösung von $(\text{CH}_3\text{COO})_3\text{Cu}$, die offenbar nichtkolloider Natur ist, in Erscheinung tritt, und zwar in noch höherem Grade als in allen übrigen Versuchen. (Daß die Reduktionskurve in diesem Falle auch sonst abweichend verläuft, wurde an anderer Stelle begründet.)

Was endlich die Aussichten anbelangt, wie man diese so altbekannte und doch so wenig geklärte Frage einer endgültigen Lösung zuführen könnte, glaube ich auf die in Tabelle IV dargestellte Tatsachen hinweisen zu dürfen, daß bei höheren Zuckerkonzentrationen durch die verlängerte Kochzeit eine nur mehr geringfügige Änderung im Ergebnis hervorgerufen wird. Solche Versuche können vielleicht auch in der von mir bisher nicht berührten Frage Aufklärung schaffen, worin der oft erhebliche Unterschied in der Reduktionsfähigkeit verschiedener, auch isomerer Zuckerarten begründet ist.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. *Hári* ausgeführt.

Das Verhalten aktiver Chlorpräparate gegenüber organischer Materie.

Von
E. Remy.

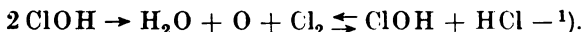
(Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1926.)

Die Einwirkung aktiver Chlorpräparate, wie sie in der Desinfektion vielfach Verwendung finden — z. B. *Antiformin*, *Caporit*, *Hypochlorit*, *Magnocid*, *Multisept*, *Chloramin* und *Pantosept* —, auf organische Substanz besteht darin, daß das aus diesen Präparaten mittelbar oder unmittelbar abgespaltene unterchlorigsaure Ion ClO' stark oxydierend wirkt und dadurch eine Zerstörung der Materie veranlaßt. Der Effekt der Aufschließung ist bei Anwendung genau gleicher Mengen organischer Substanz und freien Chlors, berechnet auf die entsprechenden Mengen der genannten Chlorpräparate, eine verschiedene, wobei auch das Medium, in welchem sich der gesamte Reaktionsmechanismus abspielt, eine wesentliche Rolle spielt. Quantitativ läßt sich aus den Chlorpräparaten die gesamte Menge an aktivem Chlor bzw. an unterchloriger Säure mittels Salzsäure abspalten, wobei die unterchlorige Säure im Sinne der Gleichung $\text{ClOH} + \text{HCl} = \text{H}_2\text{O} + \text{Cl}_2$ zerfällt. Jedoch ist diese Reaktion teilweise umkehrbar, während dieses nicht der Fall ist bei dem Zerfall der unterchlorigen Säure in freien Sauerstoff und Salzsäure, welche Reaktion die erstere bei Abwesenheit von Salzsäure, bei Anwesenheit sauerstoffziehender Substanzen, einleitet:



Die gesamte Umsetzung der unterchlorigen Säure läßt sich demnach durch folgendes Formelbild veranschaulichen:



Die nachstehenden Versuche sollen nun zeigen, inwieweit organische Substanz verschiedener Herkunft durch die angeführten Chlorpräparate

1) *Dobbertin*, Münch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 5, S. 129.

unter Zugrundelegung quantitativer Bedingungen aufgeschlüsselt wird bzw. welchen Präparaten hierbei die stärkste zerstörende Wirkung zugesprochen werden muß.

Zur Aufschließung im vorstehenden Sinne gelangten *Fellrückstände der Lederindustrie*, *Pfeffer* als ein rein pflanzliches Produkt, *Rindfleisch*, sowie *Tierkörpermehl*. Diese Stoffe waren bezüglich ihrer Zusammensetzung vorher einer Analyse unterworfen, deren Ergebnis in Tabelle I mitgeteilt ist.

Tabelle I.

Zusammensetzung	Fellrückstände Proz.	Pfeffer Proz.	Rindfleisch Proz.	Tierkörpermehl Proz.
Wasser	6.44	14.37	75.41	7.31
Mineralbestandteile . .	27.50	0.97	1.44	24.60
Ätherextrakt	30.90	10.87	2.21	14.11
Rohprotein	35.13	11.89	20.81	45.64
Rohfaser	—	4.23	—	8.34

Sodann wurde auf jodometrischem Wege der tatsächliche Gehalt der erwähnten Chlorpräparate an wirksamem Chlor ermittelt, da zahlreiche Untersuchungen ergaben, daß der in der Literatur angegebene Chlorgehalt nicht immer der wirklich vorhandenen Menge entsprach¹⁾. So zeigten die bei unseren Versuchen angewandten Chlorpräparate nachstehenden Gehalt an wirksamem Chlor:

Tabelle II.

Bezeichnung des Präparats	Chemische Zusammensetzung	100 ccm bzw. 100 g Präparat enthalten g wirksames Chlor	Der gefundenen Menge Chlor entsprechende Menge unter- chlorigsaures Ion ClO' g
Antiformin	Alkal. Hypochloritlsg.	5.55	8.02
Hypochlorit Braun	Wäss. Lsg. v. Natrium- hypochlorit	8.55	12.81
Caporit	Calciumhypochlorit	54.01	78.35
Magnocid	Basisches Magnesiumhypochlorit	38.65	56.06
Multisept	Gemisch äquimol. Mengen Bernsteinsäure und Chlorkalk	12.59	18.31
Chloramin	p-Toluolsulfochloramid- natrium	25.34	18.04
Pantosept	Dichlorylsulfamid- benzoesaures Natrium	14.45	20.96

¹⁾ Deutsches Arzneibuch, Ausgabe 5, 1910, S. 88.

Die Aufschließung der organischen Materie wurde bei den Versuchen zunächst in der Weise durchgeführt, daß 2,0 g der betreffenden Substanz mit so viel Grammen bzw. Kubikzentimetern Chlorpräparat versetzt wurden, daß aus der angewandten Menge Präparat mittels Salzsäure sich 2,0 g freies Chlor abspalten ließen, eine Chlormenge, die der angewandten organischen Substanz vollkommen gleich war. Hierauf fügte man 125 ccm Wasser hinzu, bei Anwendung flüssiger Chlorpräparate dagegen nur so viel, daß das Gesamtvolumen der Flüssigkeit nicht mehr als 125 ccm betrug, ließ 24 Stunden stehen und versetzte das Gemisch nach und nach mit 25 ccm konzentrierter Salzsäure. Nach sechsstündiger Einwirkung des bei gewöhnlicher Temperatur sich abspaltenden Chlors erhitzte man die Mischung 2 Stunden am Rückflußkühler. Dieser ganze Aufschließungsprozeß wurde in dem *Remy'schen* Aufschließungsapparate vorgenommen¹⁾. Den Inhalt des Kolbens filtrierte man alsdann durch ein zuvor bei 100° getrocknetes und gewogenes Filter, wusch den Rückstand mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion aus, sodann mit Alkohol und Äther, um etwaige Fettanteile zu beseitigen, trocknete Filter samt Rückstand bei 100° C, brachte beides zur Wägung und ermittelte so die Menge der durch Chlor nicht aufgeschlossenen Anteile. Durch Versuchen des Filters in einem zuvor ausgeglühten und gewogenen Tiegel konnte man die Menge an anorganischen Bestandteilen der Fellrückstände feststellen, damit indirekt auch die der organischen Anteile. Auch chloresaures Kali, das, wie bekannt, bei Gegenwart von Salzsäure stark zersetzend auf organische Substanzen einwirkt, wurde mit in den Bereich der Versuche gezogen. Ferner wandte man bei den Versuchen mit Rindfleisch mit Rücksicht auf den hohen Wassergehalt dieser Substanz 5,0 g anstatt 2,0 g an. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle III zusammengestellt:

Tabelle III.

Präparat	Angewandte Menge organ. Substanz	Angewandte Menge Präparat	Unaufgeschlossene Anteile			Menge der aufgeschlossenen Anteile	Verhältnis der Mengen nicht aufgeschlossener und aufgeschlossener Anteile zueinander
			Gesamtmenge	Anorganische	Organische		
			Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
A. Fellrückstände.							
Antiformin	2.0840	36 ccm	2.66	0.62	2.04	97,34	1 : 36,6
Caporit	2.0397	3,7 g	7,16	0,94	6,22	92,84	1 : 12,9
Hypochlorit	2.1835	23,5 ccm	4,27	0,77	3,50	95,73	1 : 22,4
Kaliumchlorat . . .	2.0675	1,2 g	4,66	0,75	3,91	95,34	1 : 20,5
Magnocid	2.0730	5,2 g	18,88	1,38	17,50	81,12	1 : 4,38
Multisept	2.0166	16,0 g	11,25	1,71	10,54	88,75	1 : 7,8
Chloramin	2 0745	7,9 g	19,06	0,74	18,32	80,94	1 : 4,2
Pantosept	2.0492	13,8 g	15,55	0,60	14,95	84,45	1 : 5,4

1) *E. Remy*, Chemiker-Ztg. 1925, Nr. 55, S. 332.

Tabelle III (Fortsetzung).

Präparat	Angewandte Menge organ. Substanz g	Angewandte Menge Präparat	Unaufgeschlossene Anteile			Menge der aufgeschlossenen Anteile Proz.	Verhältnis der Mengen nicht aufgeschlossener und aufgeschlossener Anteile zueinander
			Gesamtmenge Proz.	Anorganische Proz.	Organische Proz.		
B. Pfeffer.							
Antiformin	2,0499	36 ccm	9,15	0,73	8,42	90,85	1 : 9,9
Caporit	2,0717	3,7 g	7,16	0,22	6,94	92,84	1 : 12,9
Hypochlorit	2,0243	23,5 ccm	4,17	0,04	4,13	95,83	1 : 22,9
Kaliumchlorat	2,0557	1,2 g	9,25	0,03	9,22	90,78	1 : 9,8
Magnocid	2,0202	5,2 g	11,61	0,21	11,40	88,39	1 : 7,6
Multisept	2,0774	16,0 g	11,35	0,76	10,59	88,65	1 : 7,8
Chloramin	2,0165	7,9 g	12,47	2,25	10,22	87,53	1 : 7,0
Pantosept	2,0539	13,8 g	13,31	2,47	10,84	86,69	1 : 6,5
C. Rindfleisch.							
Antiformin	5,1556	36 ccm	2,46	0,02	2,44	97,54	1 : 39,6
Caporit	5,0432	3,7 g	2,95	0,04	2,91	97,05	1 : 32,9
Hypochlorit	5,4016	23,5 ccm	2,75	0,02	2,73	97,25	1 : 35,4
Kaliumchlorat	5,2198	1,2 g	1,26	0,01	1,25	98,74	1 : 78,4
Magnocid	5,3891	5,2 g	8,61	0,08	8,52	91,39	1 : 10,6
Multisept	5,0878	16,0 g	6,22	0,24	5,98	93,78	1 : 15,1
Chloramin	5,0264	7,9 g	5,82	0,13	5,69	94,18	1 : 16,2
Pantosept	5,1055	13,8 g	5,62	0,11	5,51	94,38	1 : 16,8
D. Tierkörpermehl.							
Antiformin	2,0080	36 ccm	7,60	0,58	7,02	92,40	1 : 12,1
Caporit	2,0018	3,7 g	6,12	0,63	5,49	93,88	1 : 15,3
Hypochlorit	2,0309	23,5 ccm	5,52	0,52	5,00	94,48	1 : 17,1
Kaliumchlorat	2,0747	1,2 g	6,80	0,68	5,12	93,20	1 : 13,7
Magnocid	2,0861	5,2 g	12,36	0,78	11,58	87,64	1 : 7,1
Multisept	2,0740	16,0 g	13,69	1,90	11,79	86,31	1 : 6,3
Chloramin	2,4265	7,9 g	14,50	0,51	13,99	85,50	1 : 5,9
Pantosept	2,1214	13,8 g	12,28	1,19	11,09	87,72	1 : 7,1

Die verschiedenen Analysen zeigen uns, daß das Aufschließungsvermögen der angewandten Chlorpräparate bei gleicher Versuchsanordnung und gleicher aktiver Chlormenge im Durchschnitt beträgt bei:

Antiformin	94,53	Proz.
Caporit	94,15	„
Hypochlorit	95,82	„
Kaliumchlorat	94,51	„
Magnocid	87,13	„
Multisept	89,37	„
Chloramin	87,04	„
Pantosept	88,31	„

Die rein anorganischen Chlorpräparate stimmen somit bis auf Magnocid in ihrem Aufschlußvermögen nahezu vollkommen überein, ebenso die organischen Präparate wie Chloramin und Pantosept.

Zwischen diesen rein anorganischen und organischen Präparaten steht das Multisept, das, wie bereits oben erwähnt, eine Mischung aus Bernsteinsäure und Chlorkalk ist. Ferner beweisen uns die Versuche, daß das aus den rein organischen Chlorpräparaten mittels Salzsäure abgespaltene Chlor seiner Quantität entsprechend nicht so vollständig bei der Zerstörung der organischen Substanz zur Ausnutzung kommt, wie dieses bei den anorganischen Präparaten der Fall ist. Eine Ausnahme von diesen macht das Magnocid, basisches Magnesiumhypochlorit, welches seiner Aufschließungsfähigkeit nach sich den rein organischen Chlorpräparaten anpaßt.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Einwirkung aller dieser Präparate auf organisches Material bei Gegenwart von Wasser, ohne Anwendung von Salzsäure.

Bei diesen Versuchen wurden je 5 g fein zerkleinertes Rindfleisch angewandt, das mit denen in Tabelle III aufgeführten Mengen der einzelnen Chlorpräparate, ausgenommen Kaliumchlorat, gemischt wurde, sodann fügte man so viel Wasser hinzu, daß das Gesamtvolumen der Flüssigkeit bei allen Versuchen genau 150 ccm betrug und ließ unter öfterem Umschütteln die einzelnen Gemenge 8 Tage stehen. Wie bei den früheren Versuchen bestimmte man sodann die Menge der nicht aufgeschlossenen Anteile des Fleisches, wobei eine Trennung dieser Stoffe in anorganische und organische Bestandteile nicht vorgenommen wurde. Die hierbei erhaltenen Versuchsergebnisse sind in Tabelle IV wiedergegeben:

Tabelle IV.

Präparat	Angewandte Menge Rindfleisch g	Angewandte Menge Präparat	Dauer der Einwirkung Tage	Nicht aufgeschlossene Anteile Proz.	Aufgeschlossene Anteile Proz.	Verhältnis nicht aufgeschlossener Anteile zu den aufgeschlossenen
Antiformin . . .	5,00	36 ccm	8	0,48	99,52	1 : 100
Caporit	5,00	3,7 g	8	13,45	86,55	1 : 6,4
Hypochlorit . . .	5,00	23,5 ccm	8	12,16	87,84	1 : 7,2
Magnocid	5,00	5,2 g	8	22,21	77,79	1 : 3,5
Multisept	5,00	16,0 g	8	15,64	84,36	1 : 5,5
Chloramin	5,00	7,9 g	8	20,58	79,42	1 : 3,9
Pantosept	5,00	13,8 g	8	19,59	80,41	1 : 4,1

Auf Grund dieser Befunde wird durch das *Antiformin* bei Fleisch ein praktisch vollkommener Aufschluß bewirkt, während die anderen Präparate hinsichtlich ihres Aufschließungsvermögens zum Teil erheblich hinter dem Antiformin zurückstehen. Aber auch hierbei zeigen Caporit und Hypochlorit einerseits, Chloramin und Pantosept andererseits ziemlich gut übereinstimmende Werte, während Magnocid wiederum eine Sonderstellung unter den anorganischen Präparaten einnimmt.

Zur Ermittlung der Menge Chlor, welche jeweils bei den vorstehenden Versuchen aus den einzelnen Präparaten abgespalten wurde, verfuhr man in folgender Weise:

Je 5 g fein zerkleinertes Rindfleisch wurden mit denen in Tabelle IV angegebenen Mengen der einzelnen Chlorpräparate versetzt und so viel Wasser hinzugefügt, daß das Gesamtvolumen der Flüssigkeit wiederum 150 ccm betrug. Nach öfterem gründlichen Umschütteln pipettierte man alle 24 Stunden je 10 ccm Flüssigkeit ab, filtrierte und bestimmte auf jodometrischem Wege den jeweiligen Chlorgehalt, den man alsdann auf das Gesamtvolumen der Flüssigkeit umrechnete. Die hierbei gefundenen Werte sind in Tabelle V mitgeteilt.

Tabelle V.

Gehalt an wirksamem Chlor	1	2	3	4	5	6	7
	5,0492 g Fleisch + 36 ccm Antiformin + 114 ccm Wasser	5,0493 g Fleisch + 3,7 g Caporrit + 150 ccm Wasser	5,016 g Fleisch + 23,5 g Hypochlorit + 150 ccm Wasser	5,0342 g Fleisch + 5,2 g Magnocid + 150 ccm Wasser	5,0233 g Fleisch + 16 g Multisept + 150 ccm Wasser	5,0188 g Fleisch + 7,9 g Chloramin + 150 ccm Wasser	5,0160 g Fleisch + 13,8 g Pantosept + 150 ccm Wasser
g	g	g	g	g	g	g	g
Bei Beginn des Versuchs . .	2,0000	2,0000	2,0000	2,0000	2,0000	2,0000	2,0000
Nach 24 Stdn. .	1,7731	1,1582	1,1825	0,0319	1,4164	1,3152	1,3471
„ 48 „	0,0447	0,8797	0,1192	0,0297	0,3877	1,1555	1,1679
„ 3 Tagen	0,0415	0,1892	0,0738	0,0276	0,0876	0,9876	0,9414
„ 4 „	0,0298	0,0596	0,0639	0,0212	0,0256	0,8760	0,8051
„ 5 „	0,0286	0,0351	0,0507	0,0204	0,0195	0,7985	0,6677
„ 6 „	0,0255	0,0248	0,0497	0,0142	0,0142	0,6940	0,5680
„ 7 „	0,0255	0,0224	0,0447	0,0128	0,0128	0,6602	0,4984
„ 8 „	0,0238	0,0206	0,0418	0,0123	0,0119	0,6283	0,4660

Hieraus läßt sich folgern, daß unter obigen Versuchsbedingungen die anorganischen Chlorpräparate ihren Gehalt an wirksamem Chlor praktisch nahezu quantitativ zur Geltung bringen, nicht dagegen die organischen. Im Mittel betrug die Abspaltung an aktivem Chlor bei den anorganischen Präparaten 98,74 Proz., bei den organischen dagegen 72,64 Proz. Daß aber trotzdem, wie die Befunde der Tabelle IV zeigen, ein Unterschied bezüglich des Aufschließungsvermögens bei den anorganischen Präparaten besteht, beruht einerseits auf der Reaktion des Mediums, in dem der Zersetzungsprozeß vor sich geht, andererseits auf dem chemischen Verhalten des zur Wirkung kommenden unterchlorigsauren Ions gegenüber seinen anorganischen oder organischen Resten. Eine alkalische Flüssigkeit lockert primär mehr oder weniger jedes organische Gewebe infolge der Wirkung der freien Hydroxyionen, macht somit das Gewebe der Angriffswirkung des unterchlorigsauren Ions zugänglicher, weniger dagegen die Wasserstoffionen. Deshalb ist man in der gerichtlichen Chemie vielfach dazu übergegangen, an Stelle des Zerstörungsverfahrens von *Fresenius* und *Babo* das modifizierte von *Friedmann* anzuwenden, unter Zuhilfenahme von Anti-

formin¹⁾. Dieses beweisen auch unsere vorstehenden Untersuchungen, wo der Aufschließungseffekt bei Anwendung von Antiformin genau der gleiche ist wie bei dem mit Kaliumchlorat und Salzsäure. Das vorzügliche Aufschließungsvermögen von Antiformin gegenüber organischer Materie kommt besonders aber bei den Bakterien zum Ausdruck, die vollkommen gelöst werden, wie die Untersuchungen von *Uhlenhuth*, *Gildemeister* und ihre Mitarbeiter beweisen. Für die Desinfektionslehre hat daher das Antiformin eine nicht zu unterschätzende Bedeutung erlangt²⁾. Daß bei erhöhter Alkalität des Mediums schon geringere Mengen unterchlorigsauren Ions zur Zerstörung des organischen Materials ausreichen, als in saurer Lösung, beweist folgender Versuch:

5 g zerkleinerten Rindfleisches wurden mit 3,7 g Caporit und 125 ccm Wasser versetzt, andererseits gab man zu einer genau gleichen Menge Rindfleisch 3,7 g einer Mischung aus 80 Teilen Caporit und 20 Teilen Natriumperoxyd, das bei Gegenwart von Wasser im Sinne der Gleichung: $\text{Na}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} = 2\text{NaOH} + \text{O}$ zerfällt. Auch dieses Gemisch versetzte man mit 125 ccm Wasser und ließ beide Versuche zunächst bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Hierauf fügte man in kleinen Portionen je 25 ccm reine Salzsäure hinzu, kochte 2 Stunden am Rückflußkühler und behandelte die nicht aufgeschlossenen Anteile in der oben angegebenen Weise. Das Ergebnis dieser beiden Untersuchungen gestaltete sich wie folgt:

Tabelle VI.

Angewandte Menge Fleisch g	Zugesetzte Menge Caporit g	Mittels Salzsäure abgespaltene Menge Chlor g	Unaufgeschlossene Anteile			Aufgeschlossene Anteile Proz.	Verhältnis von nicht aufgeschlossenen zu aufgeschlossenen Anteilen
			Gesamt-Proz.	Anorganische Proz.	Organische Proz.		
5,0432	3,7	1,99	2,95	0,04	2,91	97,05	1 : 32,9
5,0770	Zugesetzte Menge Caporitmischung 3,7	1,59	2,17	0,03	2,14	97,83	1 : 45

Wir sehen somit, daß das Natriumperoxyd das Caporit in seiner Aufschließungskraft günstig beeinflußt hat, daß somit die vielfache Annahme, daß in saurer Lösung das aus Chlorpräparaten abgespaltene Chlor bezüglich seines Aufschließungsvermögens besser zur Geltung kommt, als in neutralen oder alkalischen Medien, nicht stichhaltig ist. Gewiß wird in saurer Lösung augenblicklich quantitativ eine

¹⁾ *J. Gadamer*, Chemische Toxikologie 1924, S. 107.

²⁾ *Uhlenhuth* und *Xyländer*, Untersuchungen über das Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte 32, 158, 1909. *E. Gildemeister*, Wirkung des Antiformins auf Bakterien, Toxine verschiedener Herkunft, rote Blutkörperchen und Serumeiweiß. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte 38, Heft II, 1911.

größere Menge aktiven Chlors unmittelbar in Freiheit gesetzt, aber diese kommt in ihrer Wirkungsintensität auf organische Materie nicht den alkalischen Hypochloriten gleich, die wohl langsam, aber um so tiefergreifend eine Zerstörung verursachen, während das in saurer Lösung aus den Chlorpräparaten abgespaltene naszente Chlor erst eine Lockerung der organischen Substanz bewirken muß, die durch Alkali in den meisten Fällen leicht bewerkstelligt wird.

Daß diese Tatsachen auch für die Desinfektion von nicht zu unterschätzender Bedeutung sind, haben zahlreiche Versuche gezeigt, bei denen alkalisierte Hypochlorite, so unter anderem Antiformin, sich bisher am wirksamsten erwiesen.

Zusammenfassung.

Von den untersuchten Chlorpräparaten haben sich bezüglich des Aufschließungsvermögens gegenüber organischer Substanz die anorganischen Hypochlorite im allgemeinen geeigneter erwiesen als organische Chlorsubstitutionsprodukte. Es lassen sich die bei unseren Versuchen angewandten Präparate auf Grund ihres Zersetzungseffekts etwa wie folgt ordnen:

Antiformin > Hypochlorit > Caporit > Multisept
> Pantosept > Chloramin > Magnocid.

Beitrag zur Kenntnis des oxydativen Abbaues der Glucose.

Von

B. Bleyer und W. Braun.

(Aus dem chemischen Institut der Hochschule Weihenstephan bei München.)

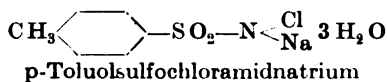
(Eingegangen am 2. September 1926).

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Oxydation der Glucose wurde schon mit den verschiedenartigsten anorganischen und organischen Oxydationsmitteln durchgeführt und die Oxydationsprodukte analysiert. Die Ergebnisse können dahin zusammengefaßt werden, daß die Oxydation nicht gleichsinnig verläuft, sondern zu mannigfaltigen Oxydationsprodukten führt und in hohem Maße von den Versuchsbedingungen abhängt, von welchen die wichtigsten Reaktionszeit und -temperatur, Alkalität der Lösung und Mengenverhältnis des Oxydationsmittels zum Zucker sind.

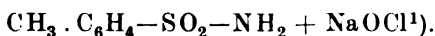
Eine Aufklärung der Glucoseoxydation ist jedoch nur dann zu erwarten, wenn von den wichtigsten Versuchsbedingungen mehrere, aber zum mindesten eine, in weiten Grenzen geändert werden darf, ohne daß sich zugleich auch die Reaktionsprodukte qualitativ und quantitativ ändern und wenn die Zahl der Reaktionsprodukte nicht allzu groß ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde als Oxydationsmittel durchweg Chloramin, das ist



verwendet, und zwar Chloramin — Heyden purissimum pro analysi.

In wässriger Lösung kann es aufgefaßt werden als Na-Hypochlorit, welches in Form einer Molekülverbindung an ein organisches Amin gebunden ist, also



¹⁾ Literaturangabe über Chloramin als maßanalytisches Oxydationsmittel, Chem.-Ztg. 1924, Nr. 139, S. 845.

Die Oxydation der Glucose mittels Chloramin wurde in der Weise verfolgt, daß verschiedene Reaktionsbedingungen, wie Alkalität der Lösung, Reaktionszeit, Mengenverhältnis von Chloramin zu Glucose, systematisch variiert wurden und unter den verschiedenen Versuchsbedingungen der Fortschritt der Oxydation gemessen wurde.

Als Maß für den Fortschritt der Oxydation diente die Anzahl Äquivalente Chloramin, welche pro Mol Glucose verbraucht worden waren. Die Analysen wurden sämtlich mikroanalytisch in der Weise ausgeführt, daß in einem gewöhnlichen Reagenzglas die Glucose mittels Chloramin oxydiert und das nicht verbrauchte Chloramin jodometrisch zurückeritriert wurde.

I. Orientierende Versuche bezüglich der Art des anwesenden Alkalis und der Reaktionstemperatur und Reaktionsdauer.

Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß Glucose in saurer und neutraler Lösung gegen Chloramin höchst beständig ist, in alkalischer Lösung hingegen weitgehend abgebaut wird. Es handelte sich nun zunächst darum, festzustellen, welches Alkali am geeignetsten ist. Die nachstehenden Versuche zeigen, daß von den beiden angewandten Alkalien NaOH und Na_2CO_3 keines einen grundsätzlichen Vor- oder Nachteil gegenüber dem anderen hat bzw. irgend eine spezifische Wirkung auf die Glucose ausübt. Die Reaktion hängt offenbar nur von der aktuellen Wasserstoffionenkonzentration ab.

Weiterhin zeigen die Versuche, daß die Oxydation der Glucose durch Chloramin um so weitgehender ist, je alkalischer die Lösung und je länger die Reaktionszeit ist. Als Maß für die Oxydation gelten in diesen wie in allen folgenden Versuchen die pro Mol Glucose verbrauchten Äquivalente Chloramin. Nach 10 Minuten Reaktionszeit verläuft die Reaktion nur mehr träge, so daß von einer Erhöhung der Reaktionsdauer über 10 Minuten hinaus keine wesentliche Verstärkung der Oxydation mehr zu erwarten ist, wohl aber durch eine weitere Steigerung der Alkalität der Lösung.

Als Reaktionstemperatur erwies sich die Temperatur des siedenden Wasserbades als sehr geeignet, vor allem, weil sie jederzeit gut reproduzierbar ist; sie wurde daher in allen folgenden Versuchen beibehalten und in den folgenden Tabellen mit „100°“ angegeben, was natürlich nur bedeuten soll: „praktisch 100°“.

Das Mengenverhältnis Chloramin zu Glucose wurde konstant: 10 Äquivalente Chloramin pro Mol Glucose angewandt.

Tabelle I bis X.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,
2,00 ccm n/10 Chloramin,
variable Mengen NaOH bzw. Na_2CO_3 ,
variable Kochzeit auf dem siedenden Wasserbad.

Nach vollendeter Reaktion Zusatz von
5 ccm 3proz. Essigsäure,
1 ccm KJ-Lösung, etwa n/l.
Titration mit n/10 Thiosulfatlösung.

Tabelle I.

Angewandt 5,0 ccm NaOH n/1000.

Kochzeit Min.	Verbrauchtes Thiosulfat ccm	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose
5	1,94	0,30
7 $\frac{1}{2}$	1,93	0,35
10	—	—
15	1,87	0,65
20	1,82	0,90

Tabelle II.

Angewandt	Kochzeit Min.	Verbrauchtes Thiosulfat ccm	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose
0,1 ccm n/10 NaOH . . .	2 $\frac{1}{2}$	1,77	1,15
	5	1,75	1,25
	10	1,69	1,55
	15	1,62	1,90
	20	1,52	2,40

Tabelle III.

2,0 ccm n/100 NaOH . . .	2 $\frac{1}{2}$	1,55	2,25
	5	1,48	2,60
	10	—	—
	15	1,35	3,25
	20	1,29	3,55

Tabelle IV.

3,0 ccm n/100 NaOH . . .	5	1,21	3,95
	7 $\frac{1}{2}$	1,10	4,50
	10	1,02	4,90
	15	0,93	5,40
	20	0,80	6,00

Tabelle V.

0,4 ccm n/10 NaOH . . .	7 $\frac{1}{2}$	0,92	5,4
	10	0,80	6,0
	15	0,7	6,5
	20	0,54	7,3

Tabelle VI.

Angewandt	Kochzeit	Verbrauchtes Thiosulfat	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose
	Min.	ccm	
0.5 ccm n 10 NaOH . . .	3	—	—
	5	1.04	4.8
	10	0.72	6.4
	15	0.50	7.0
	20	0.54	7.3

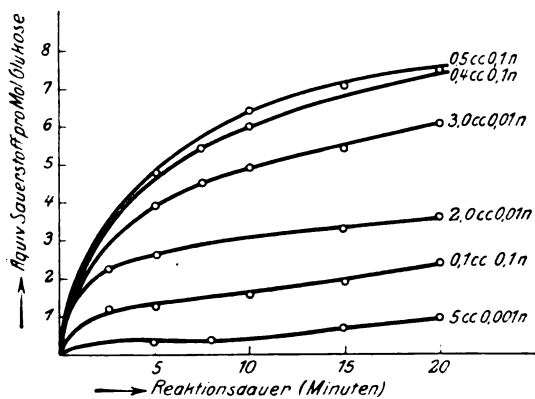


Abb. 1. NaOH.

Tabelle VII.

Angewandt	Kochzeit	Verbrauchtes Thiosulfat	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose
	Min.	ccm	
0.5 ccm n 500 Soda . . .	5	1.62	1.9
	7 ¹ / ₂	1.56	2.2
	10	1.50	2.5
	15	1.38	3.1
	20	1.28	3.6

Tabelle VIII.

1.0 ccm n/500 Soda . . .	5	1.44	2.8
	8	1.24	3.8
	10	—	—
	15	1.00	5.0
	20	0.81	5.9

Tabelle IX.

Angewandt	Kochzeit	Verbrauchtes Thiosulfat ccm	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose
	Min.		
0.2 ccm n/2 Soda	5	1,26	3,7
	7 $\frac{1}{2}$	1,04	4,8
	10	0,88	5,6
	15	0,60	7,0
	20	—	—

Tabelle X.

0.5 ccm n/2 Soda	2 $\frac{1}{2}$	1,40	3,0
	5	0,96	5,2
	10	0,60	7,0
	15	0,48	7,6
	20	0,38	8,1

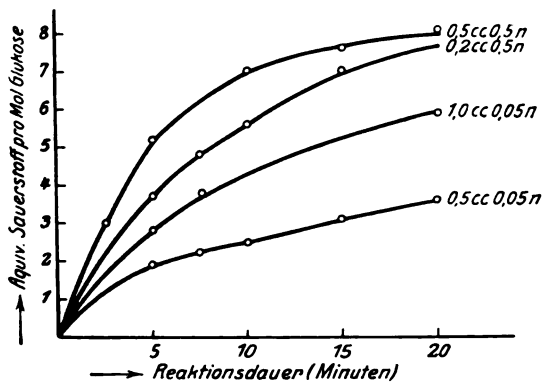


Abb. 2. Natriumcarbonat.

II.

Die bisherigen Versuche haben gegenüber den Ergebnissen früherer Bearbeiter nichts grundsätzlich Neues gebracht, insofern sich ergab, daß die Oxydation je nach der Alkalität der Lösung mehr oder weniger weit ging. Es war nun von Wichtigkeit festzustellen, ob sich durch entsprechende Steigerung der Alkalität der Lösung die Oxydation der Glucose beliebig weit treiben läßt, eventuell bis zum theoretischen Höchstwert von 24 Äquivalenten Sauerstoff pro Mol Glucose; das ist der Fall, wenn die Glucose quantitativ zu CO₂ oxydiert würde.

Die nachstehend aufgeführten Versuche ergeben die wichtige Tatsache, daß sich unter den angewandten Versuchsbedingungen (Reaktionstemperatur = Temperatur des siedenden Wasserbades, Mengenverhältnis Chloramin zu Glucose = 10 Äquivalente Chloramin pro Mol

Glucose), die Oxydation der Glucose auch durch beliebige Steigerung der Alkalität der Lösung nicht weiter treiben läßt, als daß 8 Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose verbraucht werden. Dieser Grenzwert von 8 Äquivalenten Sauerstoff pro Mol Glucose ist durch die Versuche charakteristisch und eindeutig festgelegt.

1. Reaktionszeit 5 Minuten.

Titerstellung des Chloramins ergab 0,102 n.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,
2,00 ccm 0,102 n Chloramin,
variable Mengen NaOH,
Reaktionszeit 5 Minuten,
Reaktionstemperatur 100° C.

Nach dem Kochen Zusatz von
5 bzw. 10 bis 15 ccm 3proz. Essigsäure.
1 ccm KJ-Lösung, etwa n/1,
Titration mit n/10 Thiosulfat.

Tabelle XI.

Angewandtes NaOH ccm	Verbrauchtes Thiosulfat ccm		Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose	
0,1	1,70	1,76	1,7	1,4
0,2	1,38	1,40	3,3	3,2
0,4	1,08	1,14	4,6	4,5
0,6	1,00	0,98	5,2	5,3
0,8	0,84	0,86	6,0	5,9
0,1	0,60	0,60	7,2	7,2
0,2	0,46	0,46	7,9	7,9
0,4	0,44	0,44	8,0	8,0
0,6	0,46	0,46	7,9	7,9
0,8	0,48	0,48	7,8	7,8
1,0	0,46	0,46	7,9	7,9
2,0	0,44	0,44	8,0	8,0
3,0	0,44	0,44	8,0	8,0
4,0	0,42	0,42	8,1	8,1
5,0	0,42	0,46	8,1	7,9

Mittel
8 Äquivalente
Sauerstoff
pro Mol Glucose

2. Reaktionszeit 10 Minuten.

Titerstellung des Chloramins ergab 0,101 n.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,
2,00 ccm 0,101 n Chloramin,
variable Mengen Alkali,
Reaktionszeit 10 Minuten,
Reaktionstemperatur 100° C.

Nach dem Kochen
ansäuern mit 3proz. Essigsäure,
1 ccm KJ-Lösung, etwa n/1,
Titerstellung mit n/10 Thiosulfat.

Tabelle XII.

Angewandtes NaOH ccm	Verbrauchtes Thiosulfat ccm		Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose	
0.1	1.55	1.55	2.35	2.35
0.2	1.24	1.20	3.9	4.1
0.4	0.76	0.77	6.3	6.25
0.6	0.62	0.58	7.0	7.2
0.8	0.52	0.52	7.5	7.5
0.1	0.44		7.9	
0.25	0.38		8.2	
0.50	0.40		8.1	
0.75	0.42		8.0	
1.0	0.44		7.9	
2.0	0.42		8.0	
3.0	0.42		8.0	
4.0	0.40		8.1	
5.0	0.44		7.9	
6.0	0.42		8.0	
			Mittel 8,0 Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose	

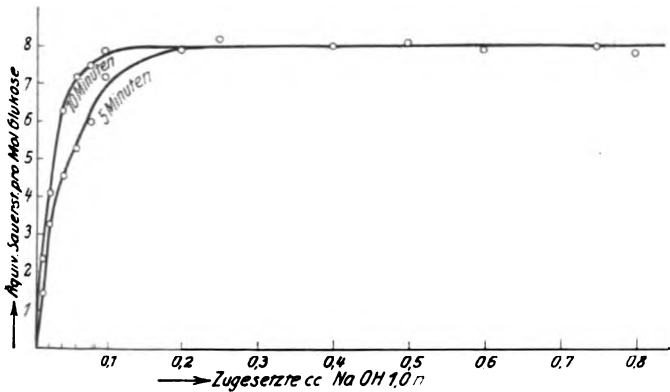


Abb. 3.

III.

In den bisherigen Versuchen war das Mengenverhältnis von Chloramin zu Glucose konstant 10 Äquivalente Chloramin auf 1 Mol. Glucose angewandt worden. Da es nun leicht möglich wäre, daß die Oxydation der Glucose um so weitgehender verläuft, je größer der Überschuß des angewandten Chloramins gegenüber der Glucose ist, bestand noch die Aufgabe, festzustellen, ob der konstante Oxydationswert 8 Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose, welcher in der vorhergehenden Versuchsreihe gefunden wurde, auch erhalten bleibt, wenn der Überschuß des angewandten Chloramins über die Glucose variiert wird.

Die nachstehenden Versuche ergaben tatsächlich, daß auch durch einen noch so großen Überschuß des Chloramins über die Glucose die

Oxydation nicht über den Wert 8 Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose hinaus getrieben werden kann. Damit ist erwiesen, daß auch bei weitgehender Variierung der Versuchsbedingungen die Oxydation der Glucose stets gleich verläuft, d. h. daß eine stöchiometrische Reaktion zwischen Glucose und Chloramin vorliegen muß.

Aufgabe einer weiteren Versuchsreihe war es, diese Reaktion weiter aufzuklären.

Angewandt: 2,00 ccm 0,099 n Chloramin; variable Mengen Glucose,
10 ccm 0,05 n NaOH,
Reaktionszeit 10 Minuten,
Reaktionstemperatur 100° C.

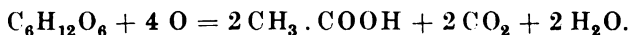
Nach dem Kochen ansäuern,
Zusatz von 1 ccm n/1 KJ-Lösung,
Titration mit 0,101 n Thiosulfat.

Tabelle XIII.

Angewandte Glucose m/100 ccm	Verbrauchtes Thiosulfat 0,101 n ccm	Angewandte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose (aufgerundet)	Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose (genau)
0.00	(1,97), 1,96, 1,96, 1,96 Mittel 1,96	—	—
0.60	(1,50), 1,50, 1,48, 1,50 Mittel 1,493	33,3	8,1
0.80	(1,32), 1,32, 1,34, 1,32 Mittel 1,327	25,0	8,0
1,00	(1,17), 1,17, 1,17, 1,18 Mittel 1,173	20,0	8,0
1,20	(1,02), 1,02, 1,01, 1,03 Mittel 1,02	16,7	7,9

IV.

Die Tatsache, daß 1 Mol Glucose bei der Oxydation mit Chloramin 8 Äquivalente Sauerstoff aufnimmt und daß die Oxydationsprodukte gegen weitere Oxydation offenbar sehr beständig sind, läßt die Annahme zu, daß der Abbau der Glucose quantitativ zu Essigsäure und CO₂ führt, gemäß der schematischen Gleichung



Wenn diese Annahme richtig ist, muß die Essigsäure und CO₂ quantitativ nachgewiesen werden können.

Da die Oxydation der Glucose in alkalischer Lösung erfolgt, werden die beiden entstandenen Säuren sofort vom Alkali gebunden und bewirken dadurch eine dementsprechende Abnahme des Alkalis. Die

Abnahme des vorgelegten Alkalis kann jedoch nur dann einwandfrei quantitativ gemessen werden, wenn die Menge des Alkalis gegenüber den entstehenden Säuren nicht allzu groß ist. Da, wie bereits nachgewiesen wurde, Reaktionszeit und Alkali in weiten Grenzen variiert werden können, ohne daß die Stöchiometrie der Reaktion beeinträchtigt wird, war es möglich, geeignete Versuchsbedingungen für die acidimetrischen Messungen zu schaffen. Die Messungen wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Aus 2,00 ccm m/100 Glucoselösung, = 0,0200 Millimol Glucose entstehen nach der Theorie

0,04 Milli-Äquivalente Essigsäure,
0,08 „ „ Kohlendioxyd,

vorgelegt werden 1,5 ccm n/10 NaOH
= 0,15 Milli-Äquivalente Alkali.

Das sind Werte, die einwandfrei gemessen werden können, denn die vorgelegte NaOH nimmt von 0,15 auf 0,03 ab.

Durch die nachstehend aufgeführten acidimetrischen Messungen, welche mikromaßanalytisch durchgeführt wurden, wurde die Theorie vollkommen bestätigt. Aus 1 Mol Glucose entstehen bei der Oxydation mit Chloramin 2 Mol Essigsäure und 2 Mol (= 4 Äquivalente) Kohlendioxyd.

Festlegung der Versuchsbedingungen für die acidimetrischen Messungen. Tabellen XIV und XV.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,
2,00 ccm n/10 Chloramin,
variable Menge Alkali,
Reaktionszeit 15 Minuten,
Reaktionstemperatur 100° C.

Tabelle XIV.

Titerstellung des Chloramins unter den Versuchsbedingungen des nachfolgenden Hauptversuchs (Tabelle XV).

Angewandtes n/10 NaOH ccm	Verbrauchtes n/10 Thiosulfat ccm	Titer des Chloramins
1,0	2,01	0,1005
1,5	2,00	0,1000
2,0	1,99	0,0995
2,5	1,99	0,0995
3,0	1,99	0,0995

Tabelle XV.

Hauptversuch.

Angewandtes n/10 NaOH ccm	Verbrauchtes n/10 Thiosulfat ccm		Verbrauchte Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose		
1,0	0,40	0,39	8,05	8,10	
1,5	0,39	0,40	8,05	8,0	} Mittel 8,0 Äquivalente Sauerstoff pro Mol Glucose]
2,0	0,42	0,40	7,85	7,95	
2,5	0,41	0,40	7,90	7,95	
3,0	0,40	0,40	7,95	7,95	

Die Reaktion verläuft also unter diesen Bedingungen quantitativ. Bei den acidimetrischen Messungen werden 1,5 ccm n/10 NaOH angewandt.

Acidimetrische Messungen.

Die acidimetrischen Messungen bestehen im wesentlichen aus zwei Teilen:

1. Messung des nach der Reaktion noch vorhandenen Gesamtalkalis (NaOH + Na₂CO₃).

Die Differenz gegenüber dem vorgelegten Alkali entspricht der entstandenen Essigsäure.

2. Bestimmung der nach der Reaktion noch vorhandenen NaOH allein. Die Differenz gegenüber dem im vorigen Versuch erhaltenen Gesamtalkali entspricht dem entstandenen Kohlendioxyd.

1. Bestimmung der entstandenen Essigsäure durch Messung der nach der Reaktion noch bestehenden Gesamtalkalität (NaOH + Na₂CO₃). Tabelle XVI.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,

2,00 ccm n/10 Chloramin,

1,5 ccm 0,0988 n NaOH = 1,482 ccm n/10 NaOH,

Reaktionszeit 15 Minuten,

Reaktionstemperatur 100° C.

Nach der Reaktion wird die Lösung mit 1,50 ccm n/10 H₂SO₄ über-
titriert, durch Kochen auf dem Wasserbad und Durchleiten von Wasserstoff
von der Kohlensäure befreit, abgekühlt und mit 0,0988 n NaOH zurück-
titriert (Phenolphthalein als Indikator).

Tabelle XVI.

Verbrauchte ccm 0,0988 n NaOH	}	(0,45)	} Mittel 0,435 ccm n/0988 NaOH
		0,44	
		0,44	
		0,43	
		0,43	

Gesamtalkalität: theoretisch 0,1482 - 0,0400 = 0,1082 Milli-Äquiv. Alkali,
gefunden 0,1500 - 0,0430 = 0,1070 " " "

Fehler 1,1 Proz.

Damit ist so gut wie sicher, daß aus 1 Mol Glucose 2 Äquivalente Essigsäure entstehen.

2. Bestimmung des entstandenen Kohlendioxyds durch Messung der nach der Reaktion verbleibenden NaOH. Tabelle XVII.

Angewandt: 2,00 ccm m/100 Glucose,

2,00 ccm n/10 Chloramin, 1,5 ccm 0,0988 n NaOH

= 1,482 ccm n/10 NaOH,

Reaktionszeit 15 Minuten,

Reaktionstemperatur 100° C.

Nach der Reaktion werden der Lösung 1 bis 2 ccm gesättigte NaCl-Lösung, sowie etwa 1 g festes BaCl₂ zugegeben, 30 Minuten gekocht, abgekühlt und mit n/10 H₂SO₄ sehr langsam und vorsichtig titriert (Phenolphthalein als Indikator).

Tabelle XVII.

Verbraucht ccm n/10 H ₂ SO ₄	$\left\{ \begin{array}{l} (0,30) \\ 0,30 \\ 0,30 \\ 0,29 \\ 0,27 \end{array} \right.$	Mittel 0,290 ccm n/10 H ₂ SO ₄
--	---	--

Entstandenes Kohlendioxyd

theoretisch: 0,080 Milli-Äquivalente CO₂,

gefunden: 0,1070 - 0,0290 = 0,078 „ „ CO₂.

Fehler 2,5 Proz. Der Fehler von 2,5 Proz. rührt vermutlich daher, daß ein Teil des ausgeschiedenen BaCO₃ durch die H₂SO₄ mit titriert wird.

(Der Wert 0,1070 wurde aus der vorigen Versuchsreihe entnommen (Tabelle XVI), wo er als die nach der Reaktion noch bestehende Gesamtalkalität gefunden worden war.)

Damit ist so gut wie sicher, daß aus 1 Mol Glucose 4 Äquivalente (= 2 Mol) Kohlendioxyd entstehen.

V. Zusammenfassung.

Durch die vorhergehenden Versuchsreihen wurden drei Tatsachen experimentell festgelegt.

1. 1 Mol Glucose verbraucht bei der Oxydation mit Chloramin 2 Äquivalente Sauerstoff.

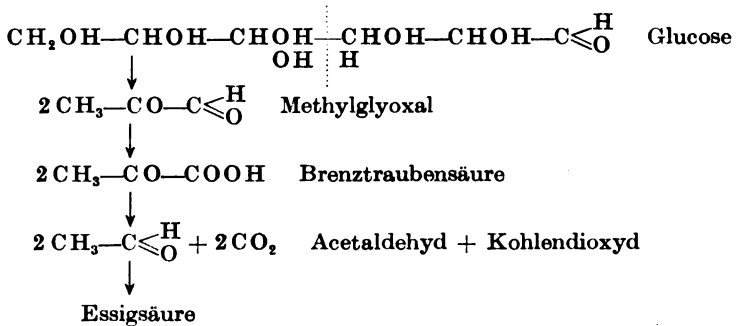
2. Dabei entstehen 2 Äquivalente einer Säure, deren Art zunächst nicht ohne weiteres klar ist.

3. Es entstehen ferner dabei 2 Mol Kohlendioxyd.

Diese drei Tatsachen zusammen lassen eine Deutung des Oxydationsvorganges zu, nämlich: daß die Glucose durch Chloramin in alkalischem Medium quantitativ zu Essigsäure und Kohlendioxyd oxydiert wird.

Den Oxydationsvorgang kann man sich folgendermaßen vorstellen: Die Glucose wird zunächst hydrolytisch in 2 Mol Methyl-

glyoxal gespalten, der Aldehyd zur Säure oxydiert, die Brenztraubensäure zerfällt in Acetaldehyd und Kohlendioxyd, der Acetaldehyd wird weiter zur Essigsäure oxydiert. Der Vorgang wird durch folgende Gleichung dargestellt:



Damit wäre der fermentative Abbau der Glucose mit anorganischen Mitteln reproduziert. (Chloramin kann als anorganisches Oxydationsmittel bezeichnet werden, da sein wirksamer Bestandteil NaOCl ist.)

Es ist jedoch zu bemerken, daß die Zwischenstufen der eben angeführten Oxydationsgleichung (vor allem die Brenztraubensäure) in keiner Weise bewiesen oder isoliert wurden. Bewiesen sind nur die Endprodukte der Oxydation: Essigsäure und Kohlendioxyd.

Natürlich ist es theoretisch möglich, die eben beschriebene Oxydation der Glucose zu einer quantitativen Bestimmungsmethode für Glucose zu verwenden. Dazu ist zu bemerken, daß dies zunächst einmal nur für reine Glucoselösungen in Frage käme. Doch auch hier würde sich bereits die, wenn auch geringe, Selbstzerstörung des Chloramins störend bemerkbar machen. Bei Lösungen, die außer Glucose auch noch andere organische Substanzen enthält, käme als weiterer schwer störender Umstand die Oxydationswirkung des Chloramins auf diese anderen organischen Stoffe dazu.

Nach der nämlichen Methodik wie in dieser Arbeit sollen weiterhin auch andere Zucker, vor allem Fructose, Saccharose, Maltose und Lactose bezüglich ihres oxydativen Abbaus durch Chloramin untersucht werden.

Wir verdanken dem Bayrischen Brauerbund die Ermöglichung dieser und der noch geplanten weiteren Versuche.

Elektrometrische Titrierung des Magensaftes als Methode der Bestimmung seines Pufferungsgrades.

Von
K. A. Ščukareff.

(Aus dem physikalisch-chemischen Laboratorium der Leningrader Universität.)

(Eingegangen am 3. November 1926).

Mit 1 Abbildung im Text.

Die vorliegende Arbeit ist in dem physikalisch-chemischen Laboratorium der Leningrader Universität ausgeführt. Sie bildet eine Fortsetzung der in demselben Laboratorium im Jahre 1924 von *I. I. Šhoukoff* und *S. A. Ščukareff*¹⁾ ausgeführten Untersuchungen. Die zu untersuchenden Magensäfte sind an Kranken aus der diagnostischen Klinik der Militär-medizinischen Akademie von *M. W. Janowsky* gewonnen. Den Magensaft der Hunde erhielt man von Hunden mit isoliertem Magen aus dem physiologischen Laboratorium derselben Akademie.

Der Magensaft wurde mit $n/10$ Lauge titriert unter allmählicher elektrometrischer Bestimmung von p_H nach der Methodik von *L. Michaelis*²⁾.

Der titrierte Magensaft tritt in das gebildete Wasserstoffhalbelement ein, welches zusammen mit dem Kalomelhalbelement das Element bildet, die elektromotorische Kraft desselben wurde nach *Poggendorfs* Kompensationsmethode im Vergleich mit dem normalen Element *Westons* bestimmt.

Die angeführten Untersucher führten die elektrometrische Titration der Salzsäure in der Lösung einer amphoteren Substanz, und zwar der Gelatine aus. Diese Arbeit gab unter anderem folgende Resultate. Die Kurvenreihe auf der Abb. 1 stellt die Veränderungen des p_H während der Titration von 10,0 ccm $n/10$ HCl im Beisein verschiedener Gelatinemengen dar. Die untere erste Kurve stellt die Titration der reinen $n/10$ Salzsäure ohne jede Beimischung vor. Auf ihr sieht man, wie die Kurve in dem Maße des Hinzufügens der Lauge allmählich ansteigt, der letzte Tropfen der Lauge, welcher den zehnten Kubikzentimeter abschließt, führt das p_H aus dem sauren Medium in das alkalische (von p_H 3 bis -9) über, wo die

¹⁾ *Šhoukoff* und *Ščukareff*, Journ. of physical Chemistry 1925.

²⁾ Diese Zeitschr. 79, 1, 1917.

Kurve wieder abschüssig, der Horizontalen nahe wird. Das Hinzufügen der amphoteren Substanz zur Säurelösung zieht, wie man aus den Kurven 2, 3, 4 und 5 ersieht (welche die progressiv zunehmende Menge $-\frac{1}{2}$, 1, 2, 3, 5 Proz. der Gelatine in der Lösung wiedergeben), eine Abweichung des Kurvenverlaufs von dem der reinen Säure nach sich, und diese Abweichung ist um so größer, je größer der Prozentsatz der aufgelösten Gelatine ist.

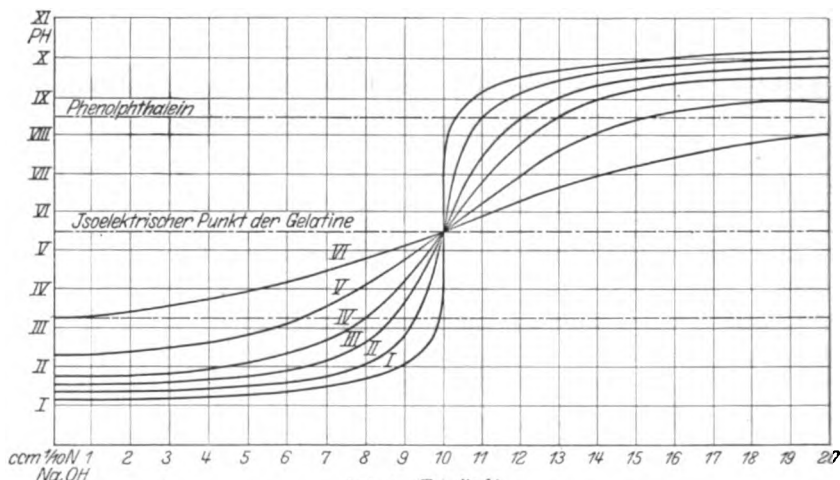


Abb. 1. (Tabelle I.)

Tabelle der elektrometr. Titration von 10,0 ccm n/10 HCl im Beisein verschiedener Gelatinemengen.

- I. Titrationskurve der reinen n/10 HCl in der Menge von 10,0.
- II. Dasselbe + $\frac{1}{2}$ Proz. Gelatine.
- III. Dasselbe + 1 Proz. Gelatine.
- IV. Dasselbe + 2 Proz. Gelatine.
- V. Dasselbe + 3 Proz. Gelatine.
- VI. Dasselbe + 5 Proz. Gelatine.

Diese Abweichungen der Titrationskurven der Pufferlösungen von Lösungen der reinen Säure erklären sich durch die Eigenschaften des Puffers selbst, der amphoteren Substanz, welche gleichzeitig eine vielbasische Säure und eine Base ist. Im sauren Medium wirken sie wie Basen, in den alkalischen wie Säuren.

Die Zunahme der Puffermenge in der Lösung verstärkt seine neutralisierende Wirkung, was die oben angeführte Abweichung der Kurven erzeugt. Alle Kurven der Tabelle I kreuzen sich in einem Punkte, welcher nach der Ordinate $p_H = 5,6$ und nach der Abszisse = 10,0 ccm n/10 NaOH entspricht. Dieser Punkt ist der isoelektrische Punkt der Gelatine; in dem Augenblick, in welchem die gesamte HCl gebunden wird, stellt sich in der Lösung eine H-Ionenkonzentration ein, die der amphoteren Substanz selbst eigen ist. Diese Konzentration hängt nicht von der Menge des Amphoters ab, da in ihm die Gruppen H und OH in einer bestimmten Wechselbeziehung im Gleichgewicht sind und die Zunahme des Gehalts der amphoteren Substanz in der Lösung gleichzeitig im gleichen Verhältnis die Menge beider vergrößert.

Es leuchtet ein, daß die Titration solcher Pufferlösungen der Salzsäure, um ihre Menge festzustellen, nur dann zum Ziele führen wird, wenn man für das Ende der Titration den Augenblick des Eintritts des p_H annimmt, der dem isoelektrischen Punkte des Puffers entspricht und elektrometrisch

bestimmt werden kann. Man kann auch einen Indikator benutzen, aber einen solchen, der seine Färbung bei demselben p_H wechselt. Es ist leicht, sich zu überzeugen, daß die üblich angewendeten Indikatoren bei der Titration der Salzsäure mit der Gelatine nicht richtig das Ende der Titration anzeigen, sondern einen mehr oder minder großen Fehler geben werden.

Methylorange (ändert seine Färbung beim $p_H = 3,1$ bis $4,4$) und Kongo (Umschlag der Färbung beim $p_H = 4,0$ bis $5,0$) werden kleinere Größen geben. Phenolphthalein (Färbungsumschlag beim $p_H = 8,3$ bis $10,0$) gibt Größen, welche die wirklichen übertreffen. Lackmus und p-Nitrophenol, welche ihre Färbung beim $p_H = 5,0$ bis $6,0$ wechseln, werden die der Wirklichkeit am nächsten liegenden Größen geben. Es ist einleuchtend, daß diese Fehler um so kleiner sein werden, je geringer der Gehalt des Puffers in der Lösung ist, und endlich beim Ausschluß des Puffers werden alle Indikatoren die wirkliche Menge der reinen Säure anzeigen.

Ich habe 50 Magensäfte der elektrometrischen Titration unterworfen. Von ihnen sind 8 Kranken im nüchternen Zustand entnommen, 30 bei Kranken, teilweise bei Gesunden, nach dem *Ewalds*chen Frühstück gewonnen, 10 aus nach *Pawlow* isolierten Hundemagen nach Fütterung mit Fleisch oder Brot und 2 vom ösophagotomierten Hunde nach vermeintlicher Fütterung mit Fleisch.

Bei Menschen entnahm man den Saft mittels der dicken Sonde; nach dem Probefrühstück nach 40 Minuten. Ich versuchte stets, die gleiche Menge des Saftes zu nehmen — 25,0 ccm. In einigen Fällen (Hundesaft) mußte man sich auf 15,0 bis 10,0 ccm beschränken.

Meine Aufgabe war, bei der Anstellung der Untersuchung Stützpunkte für die Beurteilung der summarischen Menge des Puffers im Magensaft nach dem Verlauf der Titrationskurve zu finden, nach dem Grade und dem Charakter ihrer Abweichung von dem Verlauf der Titrationskurve der reinen Säure.

Die erste von mir aufgeworfene Frage war, ob bei der Summe der Puffer, welche zum Bestand des Magensaftes gehören, ein bestimmter isoelektrischer Punkt vorliegt, den man bei der Bestimmung des Schlusses der Titration der gesamten Salzsäure in Betracht hätte ziehen können, wie den isoelektrischen Punkt $p_H = 5,6$ im Falle der Gelatine. Für diese Annahme sprachen die Erwägungen, daß die Magensäfte, die eine komplizierte Zusammensetzung haben, sich durch die quantitative Wechselbeziehung ihrer Komponenten unterscheiden können, in gleichen Bedingungen genommen, einander qualitativ ähnlich sind. Für den isoelektrischen Punkt aber ist nur die qualitative Zusammensetzung wichtig. Zugunsten dieser Hypothese spricht auch der Umstand, daß die isoelektrischen Punkte der Mehrzahl der Eiweißsubstanzen und ihrer Derivate mit seltenen Ausnahmen einander nahe sind.

Aus den zitierten Versuchen mit Gelatine ist bekannt, daß während der Titration das dem isoelektrischen Punkte entsprechende p_H des Puffers

sich gerade in dem Augenblick einstellt, in dem der letzte Tropfen der Säure neutralisiert ist. Die elektromotorische Kraft des von uns gebildeten Elements (Platin-Wasserstoffelektrode und das Kalomelhalbelement) wächst in dem Maße der Neutralisierung des untersuchten Saftes an. Ein jeder zugegossene Tropfen der Lauge erzeugt eine Steigerung des Potentials in Form eines Sprunges. Es ist leicht, sich davon zu überzeugen, daß beim Zugießen der Lauge in gleich großen Portionen die Sprünge des Potentials auf jede Portion anwachsen, und der maximale Sprung entspricht der Portion, welche den letzten Teil der Säure bindet. Theoretisch erklärt sich das dadurch, daß die Potentialsprünge dem p_H direkt proportional sind und der Übergang des p_H von 1,0 auf 2,0 den gleichen Sprung erzeugen wird wie der Übergang des p_H von 5,0 auf 6,0. Für das erste Beispiel braucht man 10000mal mehr Alkali als für das zweite. Es versteht sich, daß bei der Neutralisation der Lösung durch Zugießen gleichmäßiger Laugeportionen die anwachsenden Sprünge des Potentials hervorgerufen werden, und der maximale Sprung wird der Bindung des letzten Säurerestes entsprechen.

Bei der elektrometrischen Titration ist es bei jeder Bestimmung des p_H einfach, den zustandegekommenen Sprung des Potentials zu berechnen, der maximale Sprung, welcher den Schluß der Titration der Salzsäure bestimmt, läßt sich leicht wahrnehmen. Wie aus dem Vorstehenden einleuchtet, stellt sich nach diesem maximalen Sprung in der Lösung das

Tabelle II.

Bestimmung des isoelektrischen Punktes durch den maximalen Sprung des p_H .

Nr.	Maximaler Sprung des p_H	Genauigkeit	Ausgangs- p_H
Säfte nach dem Probefrühstück.			
23	4.94—6.04	0.5	1.57
29	4.98—6.11	0.5	1.36
30	5.17—6.13	0.5	2.71
31	5.03—6.21	0.5	1.40
34	5.30—6.01	0.1	1.66
Säfte nüchtern entnommen.			
27	5.32—6.21	0.5	1.59
36	5.76—6.15	0.1	1.41
37	5.17—6.11	0.3	1.34
33	5.32—6.21	0.5	2.77
Hundemagensäfte.			
I	5.60—7.15	0.1	1.07
II	4.06—6.61	0.2	1.16
IV	5.33—6.11	0.05	1.07
VII	3.94—6.08	0.3	1.13
III	5.31—6.06	0.1	1.21
IX	4.47—6.11	0.2	1.37
VI	3.51—6.12	0.5	1.09
X	4.16—6.61	0.2	1.17
VIII	4.47—5.95	0.2	1.12
XI	4.04—6.08	0.2	1.13
XII	4.01—6.24	0.2	1.13

Durchschnittliche Größe = 6.22.

dem isoelektrischen Punkt des Puffers entsprechende p_H ein. Bei diesen Berechnungen kann man statt des Potentialsprungs den Sprung der Größe p_H benutzen, zwischen welcher und dem Potential eine direkte Proportionalität vorliegt. In Tabelle II sind die maximalen Sprünge des p_H in meinen Versuchen angeführt. Für die Bestimmung des isoelektrischen Punktes ist die zweite große Größe wichtig, d. h. jenes p_H , das sich nach dem maximalen Sprunge einstellt.

In dieser Tabelle sind die Resultate der Titration verschiedener Säfte angeführt, welche durch kleine Portionen der Lauge von 0,5 bis 0,05 cem titriert wurden (20 Versuche).

In die Augen springt die Gleichförmigkeit der Größe p_H nach dem maximalen Sprunge. Das arithmetische Mittel beträgt 6,22.

Ich bin der Meinung, daß der isoelektrische Punkt etwas unter dieser Größe liegt, was man durch die Mikrotitration hätte bestimmen können. Mir stand dazu keine entsprechende Bürette zur Verfügung.

In den übrigen Versuchen titrierte ich durch Zugießen 1,0 cem Lauge (da ich nicht den isoelektrischen Punkt, sondern nur den Charakter der Titrationskurve zu bestimmen beabsichtigte), vgl. Tabelle III.

Auch die für diese Säfte berechneten maximalen Sprünge zeigen einen größeren Ausschlag der Sprünge selbst, und die Größe des mich interessierenden p_H erwies sich gleich 6,65, was man auch erwarten mußte, da

Tabelle III.

Dasselbe wie in Tabelle II bei der Titration mit Laugeportionen von 1,0.

Nr.	Maximaler Sprung des p_H	Genauigkeit	Anfangs- p_H
Säfte nach dem Probefrühstück.			
1	4.62—6.40	1.0	2.60
3	5.70—8.03	1.0	1.45
4	5.60—6.75	1.0	1.86
5	4.84—5.96	1.0	2.06
7	4.23—7.02	1.0	1.97
8	4.48—6.08	1.0	1.99
9	4.47—6.07	1.0	2.41
10	3.78—6.80	1.0	1.69
12	4.67—6.82	1.0	2.52
14	5.60—6.82	1.0	2.20
15	4.96—6.08	1.0	3.02
17	4.62—6.09	1.0	2.41
18	5.19—6.41	1.0	2.62
19	5.14—6.70	1.0	1.87
20	5.05—6.95	1.0	5.05
21	6.43—9.46	1.0	4.34
25	5.26—6.92	1.0	5.26
26	5.66—6.83	1.0	2.38
28	4.16—5.86	1.0	4.16
32	5.02—6.80	1.0	1.78
Magensäfte nüchtern entnommen			
11	5.87—8.79	1.0	1.59
22	3.58—6.17	1.0	1.54
35	5.30—5.55	1.0	1.98

Im Durchschnitt 6.65.

in diesen Fällen ich oft den isoelektrischen Punkt übersprang. In allen Fällen außer zwei (Nr. 21 und 35) ist die durch die vorhergehende Gruppe bestimmte Größe 6,22 entweder dem p_H des maximalen Sprunges sehr nahe oder sie steht bei großen Sprüngen zwischen den den Sprung bestimmenden Größen. Die widersprechenden Resultate in den Versuchen 21 und 35 sind wohl durch einen technischen Fehler erzeugt.

Somit halte ich mich für berechtigt, für die Summe der amphoterer Substanzen des Magensafts p_H 6,20 für den durchschnittlichen isoelektrischen Punkt anzunehmen.

Es muß vermerkt werden, daß *Michaelis* dafür $p_H - 6,50$ zu halten vorgeschlagen hat, und zwar aus theoretischen Erwägungen: dieser Punkt erscheint als der isoelektrische Punkt für die meisten Peptone, und gerade diese Substanzen bilden nach *Michaelis'* Erachten den Hauptbestandteil des Puffers des Magensafts nach dem Probefrühstück.

Ich muß den Vorbehalt äußern: Ich bin nicht der Ansicht, daß für alle Säfte dieser Punkt p_H 6,20 als der streng isoelektrische Punkt sich erweist. In sehr komplizierten, aber einander ähnlichen Flüssigkeiten bilden diese Punkte einen mehr oder minder engen isoelektrischen Abschnitt. Einen solchen haben wir eben in unseren Fällen, und $p_H - 6,20$ erweist sich in diesem Abschnitt als der mittlere Punkt.

Wenn wir die Magensäfte bis zum Eintritt des $p_H - 6,20$ titrieren (oder was dasselbe ist, bis zum maximalen Sprung des Potentials), so können wir nach der Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter der Lauge über die Gesamtmenge der Salzsäure urteilen. Man muß einwenden, daß in diese Zahl stets auch eine gewisse Menge der Lauge mit einbegriffen ist, die auf die Neutralisation der sauren Phosphorsalze verbraucht wird. Aber *Michaelis* hat auf experimentellem Wege bewiesen, daß darauf nicht mehr als 0,5° Acidität verbraucht wird.

Die organischen Säuren brauchen in sauren Säften nicht in Betracht gezogen zu werden, da sie nur in Form geringfügiger Spuren vorhanden sein können. In wenig sauren Säften muß man stets mit der Möglichkeit ihres Vorhandenseins rechnen. Durch elektrometrische Titration kann man ihr Vorhandensein nach den kennzeichnenden Veränderungen der Titrationskurve feststellen.

Die Kurve der elektrometrischen Titration des Magensafts gibt folgende Merkmale: 1. Die Wasserstoffionenkonzentration aus ihrem Logarithmus p_H berechnet; 2. die Menge der gesamten Salzsäure durch Titration mit $n/10$ Lauge bis $p_H = 6,20$ bestimmt und 3. kann man ihr die Charakteristik des Grades seiner Pufferung entnehmen.

In der Tabelle IV sind die Zahlengrößen der Salzsäuremenge angegeben, welche durch Titration bis $p_H - 6,20$ berechnet sind, von weniger sauren zu mehr sauren angeordnet (Kolumne 1). In der nächsten Kolumne ist für jeden Saft sein p_H (vor dem Zugießen der Lauge) angegeben und in der dritten Kolumne die aus dem p_H berechnete Menge der freien dissoziierten Salzsäure.

Es springt in die Augen, daß die Menge der freien Säure nicht streng parallel dem Anwachsen der gesamten Säure zunimmt. Viele Säfte unterscheiden sich bei gleicher Menge der Gesamtsäure wesentlich durch die Größe p_H : Nr. 7, vergleiche mit Nr. 15 und 30, Nr. 35 und 8 mit Nr. 33 und 18, Nr. 22 mit Nr. 18 und 15, Nr. 11 mit Nr. 19, Nr. 37 mit Nr. 23 usw.

Tabelle IV.

Vergleichende Tabelle der Pufferung der Magensäfte.

Nr.	Gesamt-HCl	p _H	Freie HCl	Verhältnis*)	Differenz zwischen der Gesamt-HCl und der Gesamt-acidität	Maximaler Sprung des p _H
21	4	4.34	0.046	0.012	—	—
28	8	4.16	0.069	0.008	—	—
27	8	3.08	0.83	0.103	—	—
1	16	2.60	2.5	0.156	8.0	1.78
7	20	1.97	11.0	0.550	2.0	2.75
15	20	3.02	0.96	0.050	12.0	1.12
30	20	2.71	1.9	0.095	12.0	0.96
14	24	2.20	6.3	0.262	12.0	1.32
12	24	2.52	3.0	0.125	8.0	1.41
35	26	1.98	11.0	0.420	5.0	1.96
8	28	1.99	10.5	0.375	8.0	1.60
33	28.3	2.72	1.9	0.068	14.0	0.89
18	32	2.62	2.4	0.075	12.0	0.97
22	32	1.66	22.0	0.687	1.0	2.68
5	36	2.06	8.7	0.242	14.0	1.12
32	36	1.78	17.0	0.470	4.0	1.89
34	37	1.66	22.0	0.590	4.0	2.06
10	40	1.69	20.5	0.512	4.0	3.02
26	40	2.38	4.2	0.105	8.0	0.97
36	45	1.41	39.0	0.860	4.0	2.68
4	48	1.86	14.0	0.292	10.0	1.15
19	48	1.87	13.5	0.281	6.0	1.56
11	48	1.59	25.5	0.531	0.5	2.92
23	56	1.57	27.0	0.473	6.0	1.64
31	56	1.40	40.0	0.714	4.0	2.26
37	57	1.34	46.0	0.800	3.5	2.81
3	68	1.45	35.5	0.522	1.0	2.33
29	72	1.36	44.0	0.611	3.0	1.83

*) Verhältnis der Größe der freien HCl zu der gesamten HCl.

Diese Erscheinung kann nur durch das Vorhandensein verschiedener Mengen des Puffers erklärt werden. Bei den Versuchen mit der Gelatine vergrößert sich das Ausgangs-p_H der Lösung stets mit der Vergrößerung der Puffermenge (vgl. Tabelle I).

In der Abnahme der Konzentration der Wasserstoffionen äußert sich die neutralisierende Wirkung des Puffers, welche mit der Zunahme seiner Menge sich steigert. Auf der Tabelle IV ist in der Spalte 4 für jeden Saft das Verhalten der Größe seiner freien Salzsäure zur Größe der Gesamtsalzsäure berechnet. Das Verhältnis gibt an, welcher Teil der Säure frei, dissoziiert ist. Aus der Tabelle ersieht man, daß in den Fällen, in welchen bei mit anderen Säften gleicher Acidität der Saft ein verhältnismäßig niedriges p_H hat, d. h. an H-Ionen reich und an Puffer arm ist, so ist das Verhältnis groß, 0,5 und größer. In den umgekehrten Fällen ist es klein, unter 0,5 bis 0,008 in unseren Fällen.

Aus den Kurven der elektrometrischen Titration kann man auch andere Merkmale der größeren oder geringeren Pufferung des Saftes finden, diese Zeichen gehen parallel mit dem berechneten Verhältnis der freien und der gesamten Salzsäure zusammen. Ich habe schon gesagt,

daß die verschiedenen bei der Titration der Säuren angewendeten Indikatoren verschiedene Ergebnisse im Beisein der Puffer geben, und daß diese Ergebnisse um so weiter von der wirklichen Menge der Säure sind, je mehr Puffer in der Lösung enthalten ist. Als die der Menge des Puffers proportionale Größe nahm ich die Anzahl der Kubikzentimeter der $n/10$ Lauge, welche bei der Titration des Magensafts auf die Steigerung des p_H von 6,20 auf 8,5 verbraucht werden, an, d. h. praktisch von dem isoelektrischen Punkte bis zum p_H , das dem Färbungsumschlag des Phenolphthaleins entspricht, anders gesagt, die Differenz der klinischen Gesamtsäureacidität und der gesamten Salzsäure in der Lösung. Diese Differenz ist, was verständlich ist, wenn man an die Tabelle I zurückdenkt, groß bei gepufferten Säften und klein bei verhältnismäßig vom Puffer freien Säften. In der Tabelle IV ist diese Größe in Kubikzentimetern der Lauge in der fünften Kolonne angeführt. Man sieht, daß diese Größe verhältnismäßig groß ist (8,0 bis 14,0); bei gepufferten Säften mit dem Verhältnis in der Kolonne 4 unter 0,5. Bei Säften mit einem kleinen Puffer mit dem Verhältnis 0,5 und höher, ist die Größe in der fünften Kolonne klein 0,5 bis 5,0. Einige Säfte geben mittlere Zahlen.

Als noch eine für den Grad der Pufferung bezeichnende Größe erweist sich die Größe des maximalen Sprunges des Potentials während der Titration, welche auf eine und dieselbe der Lauge beispielsweise auf 1 cem berechnet ist. Das Verhältnis der Größen dieser Sprünge zum Puffer ist aus Tabelle I ersichtlich. Man sieht deutlich, daß der maximale Sprung bei reiner Säure umgekehrt proportional der Zunahme des Puffers abnimmt. Bei großen Puffer ist der Sprung minimal. Die berechneten maximalen Sprünge des p_H für jeden Saft sind in der Tabelle IV in der sechsten Kolonne angeführt.

Wenn man sie liest, so sieht man, daß gepufferte Säfte (mit dem Verhältnis in der vierten Kolonne unter 0,5 und mit der Größe in der fünften Kolonne über 5,0) kleine Sprünge des p_H um 1,0 zeigen.

Wenig gepufferte Säfte (mit dem Verhältnis in der vierten Kolonne 0,5 und höher und mit der Größe in der fünften Kolonne von 0,5 bis 5,0) geben große Sprünge von 2,0 bis 3,0.

Diese drei Größen in den Kolonnen 4, 5 und 6 verändern sich parallel und jede von ihnen kann für die Charakteristik der Größe des Puffers angenommen werden.

Da wir das Thema unserer Arbeit durch methodische Fragen beschränkt haben, d. h. mit der Klarstellung der Prinzipien der Bewertung der Pufferung des Magensafts, so bespreche ich hier nicht die Frage über physiologische Bedeutung dieser Pufferung, d. h. hauptsächlich der Frage über das gegenseitige Verhältnis zwischen der Pufferung und der Verdauungskraft des Saftes. Das muß Gegenstand einer neuen Arbeit sein.

Nichtsdestoweniger kann ich nicht umhin, darauf hinzuweisen, daß die vorstehend dargestellte Methodik, an reinen Magensäften angewandt (an Hundesäften, die aus nach *Paulow* isolierten Magen gewonnen sind), erlaubt, Annahmen aufzustellen, die von Bedeutung sind. In der Tabelle V sind die Resultate der Titration dieser Säfte angeführt, für jeden von ihnen sind angegeben: 1. Die gesamte Salzsäure durch Titration bis zum $p_H = 6,20$ bestimmt; 2. das p_H des Saftes vor seiner Titration; 3. die dem p_H entsprechende Menge der freien Säure. Diese Größe ist in der Tabelle durch zwei Zahlen ausgedrückt, die obere, die wirkliche Menge der dissoziierten Säure, und die untere, die Menge der freien Säure. Bei der Konzentration dieser Säfte um $n/10$ werden etwa 90 Proz. der freien Säure dissoziiert.

Tabelle V.

Tabelle der Hundemagensäfte.

Nr.		Gesamte HCl	Freie HCl	p _H	Verhältnis
I	Fleischsaft des „Frant“	121	85 95	1,07	0,7/0,78
II		114	69/77	1,16	0,6/0,67
IV		131	85/95	1,07	0,65/0,72
V		—	85 95	1,07	—
III		87	61 68	1,21	0,7 0,78
IX	Brottsaft des „Frant“	70	43 47	1,37	0,61 0,67
VII	Fleischsaft des „Sneshok“	145	69 77	1,13	0,47/0,53
VI		136	81 90	1,09	0,6 0,66
X		146	67/74	1,17	0,46 0,50
XII		151	75 84	1,13	0,5 0,55
VIII		145	76 84	1,12	0,52 0,58
XI	Magensäfte des „Milton“ nach der Scheinfütterung	141	75 84	1,13	0,53 0,59

weshalb man für die Bestimmung ihrer Menge die aus p_H berechnete Größe (dissoziierte Säure) mit 10/9 multiplizieren muß. Bei größeren Verdünnungen steigert sich die Dissoziation und man braucht diese Korrektion nicht.
 4. Das Verhältnis der freien Salzsäure zur gesamten Säure nach dem früher angenommenen Prinzip. Hier haben wir auch zwei Zahlen entsprechend den beiden Größen in der vorhergehenden Kolumne.

Die ersten sechs Bestimmungen (Nr. 1, 2, 4, 5, 3 und 9) gehören ein und demselben Hunde „Frant“ an, wobei die ersten vier Säfte Fleischmagensäfte und der dritte und neunte Brotmagensäfte sind. Es lenkt die Aufmerksamkeit auf sich, daß die Brotsäfte an Säure ärmer sind als Fleischsäfte. Die Konzentration der H-Ionen ist in den Brotsäften kleiner als bei Fleischsäften, aber streng proportional der Abnahme der Säuremenge. Das Verhältnis, welches der Puffer ausdrückt (0,6 bis 0,7) hat sich nicht verändert.

Die vier nächsten Bestimmungen (Nr. 7, 6, 10 und 12) gehören einem anderen Hunde, dem „Sneshok“. Von diesen Säften ist einer (Nr. 7) ein Fleischsaft, die anderen Brotsäfte. Mit der ersten Gruppe verglichen, äußern diese Säfte folgende Eigenschaften: Die gesamte Menge der Säure ist größer, die H-Ionenkonzentration schwächer, die den Puffer kennzeichnenden Verhältnisse sind kleiner (0,46 bis 0,6), mit den Versuchen mit dem Magensaft vom „Frant“ verglichen.

Die Vergleichung dieser zwei Versuchsgruppen läßt den Gedanken über die relative Konstanz der Puffer bei den Individuen aufkommen: Das eine gibt mehr oder minder konstant gepufferte Säfte, das andere vom Puffer relativ freie Säfte.

Der zweimal einem gaströsophagotomierten Hunde bei der Scheinfütterung entnommene Magensaft erwies sich in beiden Fällen fast identisch, sowohl hinsichtlich der Säuremenge als auch der H-Ionenkonzentration und der Puffermenge.

Wenn wir die bei der Untersuchung der reinen Säfte erhaltenen Ergebnisse betrachten, so können wir uns ein Urteil über die Konstanz des Puffers in ihnen, über den Grad der Pufferung, die für den vorliegenden Magen charakteristisch ist, bilden. Diese Schlüsse darf man natürlich nicht hinsichtlich der Pufferung der Magensäfte ziehen, welche nach dem Probe-

frühstück auf der Höhe des Verdauungsprozesses gewonnen sind. In dem Maße der Peptonisation der Eiweißstoffe wächst der Puffer an, so daß in verschiedenen Phasen der Magenverdauung die Pufferung verschieden ist. Man muß jedoch annehmen, daß auch bei diesen Säften der äußerste Grad der Freiheit vom Puffer und der Verpufferung seine individuelle Ursache haben muß.

Schlussfolgerungen.

1. Die isoelektrischen Punkte der Magensäfte — der reinen Hundesäfte, der beim Menschen im nüchternen Zustande gewonnenen und der nach dem Probefrühstück — liegen in einem Gebiet, dessen mittlerer Punkt etwas unter $p_H - 6,20$ liegt.

2. Die Menge der gesamten Salzsäure kann man durch Titration des Magensaftes mit $n/10$ Lauge bis zum $p_H - 6,20$ bestimmen.

3. Folgende Größen charakterisieren den Grad der Pufferung der Magensäfte: 1. Das Verhältnis der freien Salzsäure aus dem p_H berechnet zur gesamten Salzsäure des Saftes. Die Größe des Verhältnisses über 0,5 spricht für die geringe Pufferung und umgekehrt. 2. Die Zahl der Kubikzentimeter $n/10$ Lauge, welche bei der Titration auf die Steigerung des p_H von 6,20 auf 8,5 verbraucht wird (vom isoelektrischen Punkte bis zum Punkt des Färbungsumschlags des Phenolphthaleins). Bei gepufferten Säften ist diese Größe von 5,0 bis 14,0. Bei vom Puffer freien beträgt sie 0,5 bis 5,0. 3. Die Größe des maximalen Sprunges des p_H auf 1,0 $n/10$ Lauge berechnet. Für gepufferte Magensäfte ist 1,0 nahe, für wenig gepufferte schwankt sie zwischen 2,0 bis 3,0. Diese drei Größen sind immer einander parallel.

4. Die Untersuchung der reinen Magensäfte aus isolierten Magen gibt uns die Möglichkeit, die individuelle Konstanz der Pufferung reiner Magensäfte anzunehmen.

Bestimmung kleiner Salzsäuremengen im Magensaft mittels seiner elektrometrischen Analyse.

Von

K. A. Ščukareff.

Aus der propädeutischen medizinischen Klinik an der Militär-medizinischen Akademie zu Leningrad.)

(Eingegangen am 3. September 1926.)

Die vorliegende Arbeit ist im Laboratorium der propädeutischen medizinischen Klinik von Prof. *M. I. Arinkin* ausgeführt und bildet ihrem Wesen nach ein Fragment der Untersuchung über die Wirkung des Adrenalins auf die Magensaftsekretion.

Die Unabhängigkeit der vorliegenden Frage von dem Hauptthema und ihre theoretische Wichtigkeit — der Vorschlag einer neuen qualitativen Probe auf das Vorhandensein minimaler Salzsäuremengen im Mageninhalt — erlaubt mir, sie in einer besonderen Mitteilung darzustellen.

Alle üblichen qualitativen Proben auf Salzsäure im Magensaft, die in den Kliniken angewendet werden (die *Günzburgs*che Probe, die Probe von *Boas*, mit Methylviolett, mit Tropäolin und Dimethylamidoazobenzol), konstatieren theoretisch das Vorhandensein der Salzsäure nicht als solcher, sondern nur diesen oder jenen Grad der H-Ionenkonzentration.

Ihr Wert als qualitative Indikatoren des Vorhandenseins der Salzsäure im Magen gründet sich darauf, daß allein diese (in ihrem mit dem Eiweiß nicht verknüpften Teile) fast völlig dissoziierende Mineralsäure im Magensaft zu einem beträchtlichen Grade der H-Ionenkonzentration führen kann, die für den positiven Ausfall der vorstehend erwähnten Proben notwendig ist.

Daraus folgt, daß die elektrometrische Analyse der H-Ionenkonzentration im Magensaft und die erwähnten qualitativen Proben miteinander das gemein haben, daß sie Größen einer Ordnung, die Wasserstoffionenkonzentration bestimmen, aber auch den Unterschied, daß die qualitativen Proben nur bestimmte Grade der Konzentration¹⁾ — höhere oder niedrigere — bestimmen, während die elektrometrische Methode genau den Konzentrationsgrad bestimmt.

¹⁾ Tropäolin p_H 1,5; Methylviolett p_H — 3; Kongo p_H 3 bis 4; Dimethylamidoazobenzol p_H — 3,2; *Günzburg* p_H 2 bis 3.

Die quantitative Bestimmung des Salzsäuregehalts im Mageninhalt durch die üblichen Titrationsmethoden gibt bei der Anwendung der angeführten Reaktionen oder Indikatoren bekanntlich sehr ungenaue Angaben in Abhängigkeit von dem Pufferungsgrad des Magensafts.

Nach *Christiansen* gibt Kongo im Vergleich mit den elektrometrischen Angaben einen Fehler von 20 Aciditätsgraden, Dimethylamidoazobenzol um 12° und die *Günzburgs*che Probe um 3°, wenn man die Salzsäure bestimmt, die nicht zur Bildung der Peptonhydrochloride verbraucht ist.

Die elektrometrische Titration nach *Michaelis* bestimmt die Menge der gesamten Salzsäure sehr nahe der Wirklichkeit im Falle saurer Säfte, wo man nicht das Vorhandensein irgendwie bedeutender Mengen organischer Säuren erwarten kann. Die sauren Phosphate verbrauchen nach *Michaelis*¹⁾ für die Bindung nicht mehr als 0,5 Aciditätsgrade.

Die elektrometrische Titrierung, welche bis zum p_H , entsprechend dem isoelektrischen Punkte der Summe der Puffersubstanzen des Magensafts, ausgeführt wird, erlaubt die Acidität zu bestimmen, welche diesen Puffersubstanzen selbst eigen ist; dem Mucin, den Nahrungsalbumosen, den Peptonen usw., was bei der Bestimmung der Gesamtacidität durch Titration mit Phenolphthalein als Indikator nicht berücksichtigt werden kann.

Die elektrometrische Methode²⁾ kann für Beobachtungen über minimale Sekretion der Salzsäure bei prägnant hypaciden Zuständen angewendet werden.

Zu diesen Säften gehören jene, die negative Resultate bei qualitativen Proben auf freie Salzsäure geben und deren Gesamtacidität gewöhnlich unter 20 ist. In diesen Säften ist somit die H-Ionenkonzentration gering, $p_H - 3$ und mehr. In diese Acidität ist die der Substanzen des Probefrühstücks, die Acidität des nüchternen Mageninhalts, der organischen Säuren, wenn sie vorliegen, und der mit den Eiweißderivaten verknüpften Salzsäure, wenn ihre Sekretion überhaupt vor sich geht, einbegriffen.

Qualitative Proben auf kleine Mengen der gebundenen Salzsäure sind nicht vorhanden, und wenn man nicht zu komplizierten chemischen Methoden (*Lütke-Martius*, *Sjöqvist*) Zuflucht nimmt, so können wir darüber, ob überhaupt eine Salzsäuresekretion vorliegt oder wir eine wirkliche Achlorhydrie vor uns haben, nur nach der Größe der Gesamtacidität und nach den Resultaten der qualitativen Proben auf organische Säuren urteilen.

Gerade in diesen Fällen kann man auch die elektrometrische Methode anwenden, um festzustellen, ob überhaupt eine Salzsäuresekretion und in welchem Grade sie vorliegt.

Die Versuche, welche nachstehend angeführt sind, stellten wir wie folgt an.

¹⁾ *L. Michaelis*, diese Zeitschr. 79, 1, 1917.

²⁾ *K. Ščukareff*, ebendasselbst 180, 117, 1927.

Der Mageninhalt wurde mit dünner Sonde gewonnen; nach ihrer Einführung wurde der Mageninhalt nach Möglichkeit restlos ausgepumpt, mitunter zweimal mit einiger Unterbrechung. Dann trinkt der Kranke, ohne die Sonde herauszunehmen, 200,0 ccm 1proz. Liebigbouillon, worauf der Mageninhalt alle 10 bis 15 Minuten im Laufe 1 bis 1½ Stunden ausgehebert wird.

Man untersuchte den Mageninhalt im nüchternen Zustande, nach 1proz. Liebigbouillon und alle nach dem Probefrühstück gewonnenen Portionen. Alle diese Proben wurden vorerst elektrometrisch auf die Wasserstoffionenkonzentration untersucht, die mit der Größe p_H ausgedrückt wurde.

Darauf untersuchte man alle Portionen und das Probefrühstück auf die Gesamtacidität, freie Salzsäure (mit Dimethylamidoazobenzol, dem Ginzburgschen Reagens und mit Tropäolin), auf Milchsäure, Galle, Blut und Schleim. Die Fermentuntersuchung wurde nicht ausgeführt.

Die angeführten vier Untersuchungen stellen typische Beispiele kleiner Grade der Salzsäuresekretion von Null bis zum Auftreten ihrer Menge, die für den positiven Ausfall der qualitativen Proben ausreicht.

Fall I.

Pat. Sch. (Achyilia gastrica), am 7. April.

	Menge	Gesamtacidität	Freie HCl	Schleim	Blut	Galle	Milchsäure	p_H
Nüchtern .	55,0	3	—	÷	—	÷	Spuren	8,14
1 proz. Liebigbouillon . .	—	5	—	—	—	—	—	5,07
Nach 15' .	10,0	5	—	wenig	—	Spuren	—	5,10
" 30 .	10,0	4	—	÷	—	"	—	6,42
" 40 .	10,0	3	—	÷	—	"	—	6,80
" 50 .	10,0	3	—	÷	—	"	—	7,20
" 60 .	10,0	3	—	÷	—	vorhanden	—	8,01

Nüchtern im Magen alkalische Reaktion (p_H über 7), welche beinahe an die Rötung des Phenolphthaleins grenzt. Die Liebig'sche Bouillon, verhältnismäßig sauer, entspricht n/100 000 Säure.

In den nach dem Probefrühstück ausgeheberten Portionen ist die aktuelle Acidität niedriger als die des Probefrühstücks (p_H höher), kehrt allmählich zur Ausgangsacidität des Mageninhalts vor der Einführung der Bouillon zurück. Gar keine Anzeichen der Salzsäuresekretion.

Fall II.

Pat. S. (Gastritis chronica), am 24. März.

	Menge	Gesamtacidität	Freie HCl	Schleim	Blut	Galle	Milchsäure	p_H
Nüchtern .	40,0	3	—	viel	—	—	Spuren	7,98
1 proz. Liebigbouillon . .	—	6	—	—	—	—	—	5,18
Nach 15' .	10,0	8	—	wenig	—	—	—	4,76
" 30 .	10,0	15	—	vorhanden	—	—	—	3,58
" 45 .	10,0	15	—	"	—	—	—	3,58
" 1h .	10,0	11	—	"	—	—	—	3,84
" 1 20' .	10,0	8	—	"	—	—	—	5,70

Im nüchternen Zustande im Magen alkalische Reaktion. Es wird relativ saure Bouillon, welche $n/100000$ Säure entspricht, eingeführt. In den nach dem Probefrühstück entnommenen Portionen ist die aktuelle Acidität höher (p_H niedriger) als im Probefrühstück. Die aktuelle Acidität erreicht nach $\frac{1}{2}$ Stunde $p_H = 3,58$. Bei dieser Wasserstoffionenkonzentration fallen alle qualitativen Reaktionen auf Salzsäure negativ aus.

Trotzdem kann die Zunahme der aktuellen Acidität im Laufe einer halben Stunde beinahe um 100mal ($p_H - 5,18$ bis $3,58$) nur durch Salzsäuresekretion erklärt werden (vgl. auch die Zunahme der Gesamtaacidität von 6 auf 15). Die sauren Phosphate können nicht eine solche Konzentration der aktuellen Acidität geben, im allgemeinen entsprechen sie, wie oben angeführt war, nur 0,5 Aciditätsgraden.

Die organischen Säuren, welche sich im Magen als Resultat lange dauernder Stauung und Gärung befinden, können sich im Laufe einer halben Stunde in beträchtlicher Menge zweifellos nicht entwickeln, um bei ihrer geringen Dissoziationsfähigkeit die oben erwähnte Veränderung der aktuellen Acidität zu erzeugen.

Fall III.

Pat. S. (Gastritis chronica), am 2. April.

	Menge	Gesamtacidität	Freie HCl	Schleim	Blut	Galle	Milchsäure	p_H
Nüchtern .	40.0	4	—	vorhanden	—	—	Spuren	7,81
Dasselbe 15' n. Injektion von 1,0 Adrenalin	12,0	4	—	"	—	—	"	7,62
1 proz. Liebig- bouillon . .	—	7	—	—	—	—	—	5,25
Nach 15' .	10.0	15	—	—	—	—	—	3,60
" 30 .	10.0	26	Sp. *)	wenig	—	—	—	2,65
" 45 .	10.0	19	—	"	—	—	—	3,53
" 60 .	10.0	11	—	"	—	—	—	4,52

*) Dimethylamidoazobenzol färbt orange. Der Umschlag der roten Farbe in die orange wird bei p_H 2,60 und der Orangefärbung in die zitronengelbe bei p_H 3,20 beobachtet.

Im nüchternen Zustande sind schleimige Massen alkalischer Reaktion ausgehebert. Die Injektion des Adrenalins hat an sich die Reaktion des Mageninhalts nicht verändert.

Nach dem Probefrühstück beobachtet man eine ausgeprägte Salzsäuresekretion. Die aktuelle Acidität nimmt bis zu einer Grenze zu, welche derjenigen nahe kommt, die einen positiven Ausfall der qualitativen Reaktionen gibt.

Fall IV.

Pat. Sch. (Anaemia gravis, Subaciditas), am 26. März.

	Menge	Gesamtacidität	Freie HCl	Schleim	Blut	Galle	Milchsäure	p_H
Nüchtern .	15.0	2	—	vorhanden	—	—	—	8,19
" n. 20'	14.0	2	—	"	—	—	—	7,81
1 proz. Liebig- bouillon . .	—	8	—	—	—	—	—	5,19
Nach 30' .	25.0	34	13	—	—	—	—	1,72
" 45 .	15.0	32	12	—	—	—	—	1,84

Im nüchternen Zustande ist der Mageninhalt alkalisch. Nach dem Probefrühstück ausgeprägte Salzsäuresekretion mit Entwicklung aktueller Acidität, bis zu einem Grade, der dem positiven Ausfall qualitativer Reaktionen entspricht.

Der Sinn und die Bedeutung der Methodik sind aus der Analyse der vorstehenden Tabellen einleuchtend.

Die wahrnehmbare Steigerung der aktuellen Acidität in kurzer Zeit nach dem Probefrühstück muß als qualitative Reaktion auf das Vorhandensein der Salzsäuresekretion betrachtet werden.

In den sub- und sogenannten anaciden Gebieten erscheint der Grad der Zunahme der aktuellen Acidität ein Maßstab dieser Sekretion anstatt der undeutlichen Vermerke „Spuren“ und der ungefähren Berechnungen des Sekretionsbestands nach der Gesamtacidität.

Die Methodik kann ihre Anwendung in der differentialen Diagnostik der sub- und anaciden Zustände finden und muß eine notwendige Prüfung der Diagnose der völligen Achylie liefern. Im Zusammenhang mit der Ausführung von *M. I. Arinkin*, den Untersuchungen über den safttreibenden Effekt der subkutanen Adrenalininjektionen bei nervösen anaciden Zuständen, kann die dargestellte Methodik vorgeschlagen werden (und wird auch angewendet) als Methode, welche die feinsten Veränderungen der Sekretion des Magensafts bei dieser therapeutischen Methode an den Tag bringt.

Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. I.

Von
Ludwig Pincussen.

Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoffkomponenten durch Adrenalin und Pilocarpin.

Von
Alfred Walter¹⁾.

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses
am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 3. November 1926.)

Die Angaben über das Verhältnis der stickstoffhaltigen Körper, insbesondere der Endprodukte des Eiweißstoffwechsels im Harn sind verhältnismäßig wenig zahlreich. Wir kennen eine Reihe von Angaben über das Verhältnis beim Menschen, insbesondere von *Folin*, sowie bei einer Reihe von Tieren (Katze, Pferd, Rind u. a.), während beispielsweise über diese Dinge beim Kaninchen sich in der älteren Literatur keine bündigen Angaben vorfinden. Es scheint [Literatur bei *Pincussen* (1)], daß speziell der Prozentsatz des Gesamtstickstoffs, welcher auf den Harnstoff entfällt, in ziemlich weiten Grenzen schwanken kann. Es kommt hier vor allem die Ernährung in Frage, indem bei einer stickstoffreichen Kost nach den Untersuchungen von *Folin* (2) beim Menschen der Harnstoffstickstoff ungefähr 87 Proz. des Gesamtstickstoffs ausmacht, während die Quote bei nahezu N-frei ernährten Individuen ungefähr 62 Proz. betrug. Zugleich fand sich eine Erhöhung der Ammoniakwerte, welche jedoch bei weitem nicht das Defizit deckt; auch die erhöhte Kreatinmenge genügt noch nicht, um die Differenz zu erklären. Ähnliche Dinge spielen eine Rolle bei der Säure-

¹⁾ Die Resultate dieser Untersuchungen sind in einer Dissertation (Berlin 1925) verwertet.

vergiftung; *Eppinger* (3) hat darauf hingewiesen, daß hier die Ernährung ausschlaggebend ist. Nach neuen Versuchen von *Serio* (4) aus dem Institut von *Fürth* steigt bei Kaninchen ebenfalls bei stickstoffreicher Ernährung der Harnstoffquotient, ohne daß das Ammoniak sich verändert, während bei Ammoniakzunahme der Harnstoffquotient fiel. In pathologischen Fällen scheinen sich die Zahlen völlig zu verschieben; von *Mörner* (5) wird als niedrigster Wert des Harnstoffstickstoffs 4,4 Proz. angegeben, bei Kindern mit orthostatischer Albuminurie betrug nach Verschwinden des Eiweißes die Harnstoffkonzentration nur 37 Proz. des Gesamtstickstoffs.

Es scheint, daß die Menge des Stickstoffs in der Nahrung nicht alles für dieses Verhältnis bedeutet. Versuche, die von *Pincussen* (6) in Davos angestellt worden sind, hatten ergeben, daß bei mit sensibilisierenden Farbstoffen behandelten und dem Lichte ausgesetzten Kaninchen die Harnstoffausscheidung abnimmt, während andererseits das Ammoniak mindestens in gewissen Grenzen vermehrt war. Wie diese Erscheinung zu deuten war, war nicht ersichtlich, man mußte wohl daran denken, daß eine Störung in der Harnstoffsynthese vorlag. Neue Versuche scheinen mit Sicherheit zu ergeben, daß die Regulation des Stoffwechsels in weitem Maße vom Nervensystem abhängig ist. Es interessierte daher, die Frage von diesem Gesichtspunkt aus zu betrachten und zu prüfen, inwieweit gewisse Pharmaka, die eine elektive Wirkung auf das Nervensystem ausüben, eine Veränderung in dem Verhältnis des ausgeschiedenen Harnstoffs zum Gesamtstickstoff hervorrufen. In diesem Sinne wurde die Wirkung der Antagonisten Adrenalin und Pilocarpin untersucht.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß Kaninchen mit einer gleichbleibenden Nahrung von 300 g Rüben bzw. 300 g Kartoffelschalen mit etwas Kleiezusatz gefüttert wurden, Nahrungen, die also in ihren ganzen Eigenschaften nicht stark voneinander abweichen, wenn auch die Rüben relativ etwas mehr Ca enthalten. Die Ausführung der Versuche erfolgte in der üblichen Weise, die Analyse der Ausscheidungsprodukte nach den im hiesigen Institut üblichen Verfahren. Die Darreichung von Adrenalin bzw. Pilocarpin erfolgte in den Versuchszeiten täglich subkutan; es wurden injiziert 0,5 ccm einer Suprareninlösung 1:1000 Höchst bzw. 0,5 ccm einer 1proz. Lösung von Pilocarpinum hydrochloricum.

Aus den in den Tabellen I und II niedergelegten Ergebnissen sei zunächst die Tatsache erwähnt, daß das Kaninchen I während der ersten Zeit überhaupt kein Ammoniak ausschied, ein Befund, der meines Wissens in der Literatur bisher nicht festgelegt ist. Im übrigen zeigt sich bei dem Versuch I eine sehr deutliche Abhängigkeit der Harnstoffquote von der Behandlung. Während beim Tier I in der Vorperiode die Menge des Harnstoffstickstoffs im Mittel 68 Proz. des Gesamtstickstoffs betrug, nimmt dieser Wert auf Injektion von Adrenalin ganz erheblich

Tabelle I.

Tag	In 100 ccm			Harnstoff-N Proz. des Gesamt-N	Behandlung
	Gesamt-N mg	Harnstoff-N mg	NH ₂ -N mg		
4. XII.	170	108	0	66	
5. XII.	196	142	0	71	
7. XII.	196	112	0	57	
10. XII.	280	224	0	80	Adrenalin
11. XII.	154	140	0	90,9	-
12. XII.	378	224	0	59,2	
15. XII.	210	112	0	53,3	
16. XII.	225	140	0	55	Pilocarpin
17. XII.	308	210	1,1	68	-
18. XII.	210	112	2,1	53,3	-
20. XII.	140	56	1,4	40	-
22. XII.	168	108	2,1	63,2	-
23. XII.	126	28	1,4	22,2	-
3. I.	112	84	—	75	
6. I.	282	224	2,8	80	
7. I.	392	266	1	67,8	
8. I.	380	204	4	53,7	

Tabelle II.

Tag	In 100 ccm			Harnstoff-N Proz. des Gesamt-N	Behandlung
	Gesamt-N mg	Harnstoff-N mg	NH ₂ -N mg		
19. I.	252	192	—	76,9	
20. I.	672	476	5,6	70,7	
21. I.	224	196	—	87,5	Adrenalin
22. I.	308	252	1,4	81	-
23. I.	420	336	—	80	-
24. I.	196	168	2,8	85	-
26. I.	336	224	1,4	66,6	
27. I.	504	113	2,8	22,2	Pilocarpin
28. I.	226	84	5,6	25	-
29. I.	364	140	—	38,4	-
30. I.	336	140	—	41,6	-
31. I.	308	140	2,8	45,4	-
1. II.	168	112	2,8	66,6	

zu, wir kommen bis zu über 90 Proz. des Gesamtstickstoffs. In einer Zwischenperiode wieder ein Fallen der Harnstoffquote unter das anfangs ohne Behandlung beobachtete Niveau, was möglicherweise als Reaktion auf die erhöhte Harnstoffsynthese zu deuten ist. Pilocarpininjektion ist von verhältnismäßig geringem Einfluß; der Harnstoffquotient bleibt ungefähr so hoch er war, vielleicht war auch die Zwischenzeit zu kurz, um einen eventuellen Einfluß kenntlich werden zu lassen. In einer weiteren Zwischenperiode ohne Behandlung wieder ein Heraufgehen, auf Pilocarpin in diesem Falle eine starke Abnahme

der Harnstoffquote, endlich ohne Behandlung wieder ungefähr Rückkehr zu den bei Beginn des Versuchs beobachteten Zahlen. Der Versuch am zweiten Tiere gibt ganz ähnliche Resultate: ein starkes Heraufgehen auf Adrenalininjektion, ein Fallen des Quotienten ohne Behandlung und hier ein sehr deutliches weiteres Fallen auf Pilocarpin, das in der Nachperiode ohne Behandlung wieder einem höheren Werte Platz macht. Nach diesen Ergebnissen scheint kein Zweifel zu sein, daß Adrenalin die relative Harnstoffausscheidung steigert, während Pilocarpin sie mehr oder weniger herabdrückt. Es sei hierzu noch bemerkt, daß es sich wirklich um Harnstoffwerte handelt, da die angewandte Ureasemethode andere Komponenten nicht in meßbarer Weise, im Gegensatz z. B. zum Hypobromitverfahren, mitbestimmt. Eine andere Frage ist die, was aus dem Stickstoff wird, der weniger als im Normalversuch als Harnstoff ausgeschieden wird. Die Versuche geben auf diese Frage keine Auskunft. Die Menge des zu gleicher Zeit bestimmten Ammoniak variirt nur in verhältnismäßig geringen Grenzen und durchaus nicht so gleichsinnig, daß man auf eine wesentliche Rolle des Ammoniak schließen könnte. Es werden hierfür noch weitere Versuche erforderlich sein.

Schwierigkeiten begegnet ferner die Frage, wie man sich diese verschiedene Beeinflussung der Harnstoffausscheidung vorstellen soll. Adrenalin wirkt überall dort erregend, wo durch sympathische Reize eine Erregung entsteht, und hemmt dort, wo durch sympathische Reize eine Hemmung verursacht wird. Daß der Sympathicus zu dem Stoffwechsel in einer Beziehung steht, ist zweifellos; die Leber wird sowohl von sympathischen wie parasymphathischen Fasern innerviert. Wenn wir annehmen wollen, daß die Leber bei der Harnstoffsynthese die wichtigste Rolle spielt — daß sie allein in Frage kommt, entspricht wohl nicht den Tatsachen —, so müßten wir annehmen, daß durch sympathische Reizung die Harnstoffsynthese in der Leber gesteigert wird, während durch die entgegengesetzte Beeinflussung — das Pilocarpin wirkt im wesentlichen auf die parasymphathischen Neurone — eine Hemmung dieser Bildung erfolgt. Es handelt sich vor der Hand nur um eine Hypothese, für welche erst weitere Versuche die Berechtigung erbringen müssen.

Literatur.

- 1) *Pincussen*, Handb. d. Biochem. Bd. 5 (1924). — 2) *O. Folin*, Amer. Journ. Phys. **18**, 45, 1905. — 3) *H. Eppinger*, Zeitschr. f. exper. Pathol. **3**, 530, 1906. — 4) *F. Serio*, diese Zeitschr. **142**, 440, 1923. — 5) *K. A. H. Mörner*, Skand. Arch. Physiol. **14**, 297, 1903. — 6) *L. Pincussen*, diese Zeitschr. **150**, 36, 1924.

Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. II.

Von
Ludwig Pincussen.

Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoff- komponenten durch Kalium und Calcium.

Von
Eduardo Coelho¹⁾ (Lissabon).

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses
am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 3. November 1926).

In der vorhergehenden Abhandlung ist gezeigt worden, daß die Menge des Harnstoffstickstoffs im Verhältnis zum Gesamtstickstoff des Harns erheblich verändert wird, wenn man die als Versuchstiere dienenden Kaninchen mit Adrenalin und Pilocarpin behandelt. Es schien danach, daß die Reizung des sympathischen Systems eine Erhöhung der Harnstoffquote bewirkt, während das an den Endapparaten der parasympathischen Neurone angreifende Pilocarpin eine relative Verminderung der Harnstoffausscheidung herbeiführte. Nach den besonders von der *Krausschen* Schule propagierten Anschauungen, daß das Calcium dem Sympathicus, das Kalium dem Vagus bzw. Parasympathicus entspricht, mußte es interessieren, ob man für die genannte Wirkung das Adrenalin durch Calcium, das Pilocarpin durch Kalium ersetzen könnte. Es sei schon jetzt vorausgeschickt, daß eine solche Parallelität sich aus den zu schildernden Versuchen nur zum Teil ergab.

Die Anlage der Versuche erfolgte in derselben Weise, wie sie in der vorigen Abhandlung vorgenommen wurde.

¹⁾ Aus äußeren Gründen kommt diese bereits vor 1½ Jahren abgeschlossene Arbeit erst jetzt zur Veröffentlichung.

Als Versuchstiere dienten ebenfalls Kaninchen. Während aber früher die Nahrung der Tiere in allen Versuchen ungefähr die gleiche war, wurde dieses Mal außer Rüben bei anderen Versuchstieren die Fütterung mit Kartoffeln und Hafer durchgeführt. Es bestehen zwischen diesen beiden Ernährungen durchgreifende Differenzen, indem beim Hafer die sauren Valenzen, beim Kartoffel- und Rübenfutter die alkalischen überwiegen und außerdem der Hafer relativ am reichsten an Calcium ist, während bei Kartoffeln das Kalium weitaus überwiegt; Rüben stehen in der Mitte.

Die Gaben von Calcium bzw. Kalium wurden intravenös zugeführt, indem an den entsprechenden Tagen, bald nach der Abnahme des Harns des Vortages, den Tieren 1 ccm einer 10proz. Lösung von Calciumchlorid oder eine 1proz. Lösung von Kaliumchlorid in die Ohrvene injiziert wurde. Diese Behandlung wurde mit Ausnahme eines Falles, bei welchem das Kaninchen während der Injektion plötzlich verendete, stets gut vertragen. Die auf diese Weise zugeführten Kaliummengen spielen natürlich gegenüber der absoluten Menge der gleichen mit der Nahrung eingenommenen Kationen keine ausschlaggebende Rolle, so daß hier wohl die Art der Zufuhr und die dadurch gesetzte augenblickliche Wirkung für den Erfolg verantwortlich gemacht werden muß. Dagegen ist die in 1 ccm 10proz. CaCl_2 -Lösung zugeführte Ca-Menge auch im Verhältnis zum Ca der Nahrung recht erheblich. Wie diese Wirkung im einzelnen zu erklären ist, entzieht sich vorläufig noch unserer Kenntnis, und zwar nicht nur für die hier zu besprechenden Versuche.

In den nachfolgenden Protokollen ist nur die tägliche Gesamtmenge des Gesamtstickstoffs und Harnstoffs im Harn sowie ihr Verhältnis aufgezeichnet. Die Analysen sind an dem 2 bzw. 3 Tage gesammelten Harn, in welchem eine Ammoniakbildung aus Harnstoff durch geringen Säurezusatz verhindert war, angestellt; die Zahlen der Tabellen beziehen sich jedoch auf die täglich ausgeschiedenen Mengen. Auf eine Angabe der Harnmenge wurde verzichtet, um so mehr, als sich ja die untersuchte Harnmenge stets aus dem Harn selbst und dem zum Nachspülen benutzten Wasser zusammensetzte.

Zunächst einige Versuche mit Kaninchen, die mit Kartoffeln gefüttert waren; tägliche Menge 200 g, die fast regelmäßig aufgefressen wurden.

Kaninchen 23 (Kartoffeln).

Tage	Tägliche Ausscheidung		Harnstoff Proz.	Behandlung
	Gesamt-N mg	Harnstoff-N mg		
1. bis 2.	250	130	52	Calciuminjektion
3. - 4.	240	125	53	
5. - 6.	240	125	53	
7. - 9.	240	160	67	
10. - 12.	360	210	58	
13. - 14.	255	170	67	
15. - 16.	240	120	50	
17. - 19.	250	130	52	

Wie stets, ist auch hier die Ca- bzw. K-Zufuhr für die Periode eingezeichnet, an welcher sie wirksam wurde. Das zweite Kaninchen, 2100 g schwer, erhielt täglich 350 g rohe Kartoffeln.

Kaninchen 24 (Kartoffeln).

Tage	Tägliche Ausscheidung		Harnstoff Proz.	Behandlung
	Gesamt-N mg	Harnstoff-N mg		
1. bis 3.	450	300	66	Calciuminjektion
4. " 6.	455	295	65	
7. " 8.	455	295	65	
9. " 11.	390	305	78	
13. " 14.	370	305	82.5	
15. " 16.	405	315	78	Kaliuminjektion
17. " 18.	380	290	76	
19. " 20.	400	295	74	
21. " 23.	420	310	74	

Es ist also nach diesen Ergebnissen sicher, daß bei den mit Kartoffeln ernährten Kaninchen, bei welchen im übrigen die Harnstoffmenge verhältnismäßig niedrig liegt, durch eine Calciuminjektion eine kurze Erhöhung der relativen Harnstoffmenge erzielt wird. Kalium dagegen verhält sich nach dem Versuch an Kaninchen 24 ziemlich indifferent. Beim verhältnismäßig calciumarm ernährten Tiere macht also die intravenöse Calciumzufuhr eine Erhöhung der Harnstoffquote. Worauf diese Veränderung zurückzuführen ist, erscheint vorläufig nicht ganz klar; ob sich hierbei die höhere, augenblicklich im Kreislauf befindliche Calciummenge auf diese Weise bemerkbar macht — beim mit calciumreicher Nahrung ernährten Tiere sehen wir überhaupt eine höhere Harnstoffquote —, oder ob es sich um eine Schockwirkung handelt, bleibe vorläufig dahingestellt. Einige nicht veröffentlichte Versuche aus dem hiesigen Institut sprechen im Sinne der ersten Auffassung, während aus der folgenden Arbeit dieser Serie hervorzugehen scheint, daß auch Schockwirkungen von wesentlichem Einfluß sein können. Bemerkenswert ist bei diesen Versuchen ferner, daß bei der kaliumreichen Kartoffelnahrung die intravenöse Kaliumzufuhr keine deutliche Änderung hervorzubringen vermag.

Weitere Versuchsreihen wurden an Kaninchen angestellt, welche mit Hafer gefüttert waren. Im Hafer überwiegt, wie schon erwähnt, das Kalium bei weitem nicht in der Weise, wie bei der Kartoffel: ist die Relation K : Ca bei der Kartoffel im Durchschnitt 1 : 20, so beträgt sie beim Hafer 1 : 4. Es war dementsprechend kaum zu erwarten, daß die Ausschläge auf Calciumgaben so stark werden würden, wie bei den kalkarm gefütterten Tieren. Das zeigt sich sehr deutlich in den nachfolgenden Tabellen.

Kaninchen 8 (Haferernährung).

Tage	Tägliche Ausscheidung		Harnstoff Proz.	Behandlung
	Gesamt-N mg	Harnstoff-N mg		
1. bis 2.	480	360	75	
3. - 5.	470	350	74	
6. - 8.	350	270	77	Calciuminjektion
9. - 10.	430	305	71	Kaliuminjektion
11. - 12.	360	290	81	"
13. - 15.	480	405	84	"

Kaninchen 37 (Haferernährung).

1. bis 2.	362	250	69	
3. - 4.	360	243	68	
5. - 7.	343	347	73	Calciuminjektion
8. - 10.	345	232	67,5	
11. - 12.	392	280	71	
13. - 14.	310	220	71	
15. - 18.	390	300	77	
19. - 21.	340	240	71	
22. - 23.	360	280	77,5	
24. - 26.	330	340	73	"
27. - 29.	390	290	74	
30. - 31.	390	300	77	Kaliuminjektion
32. - 34.	280	185	66	
35. - 37.	380	300	79	

Die Injektion von Calcium gibt also eine verhältnismäßig geringe Verschiebung, in einzelnen Fällen eine kleine Zunahme, in anderen eine kleine Abnahme. Calcium wirkt also bei der kalkreichen Haferernährung außerordentlich wenig auf die Harnstoffquote ein. Nicht durchsichtig ist das Verhalten des Kaliums. Man müßte analog eigentlich eine Abnahme erwarten; sie findet sich aber nur in einem Falle, während im übrigen sogar geringe Zunahmen, wenn auch etwas protrahiert ablaufend, zu verzeichnen sind. Wir werden in diesem Falle wohl die zweite Hypothese, die Schockwirkung, zu Hilfe nehmen müssen.

Es möge noch ein letzter Versuch erwähnt werden, bei welchem das Kaninchen mit Rüben gefüttert wurde. Rüben sind relativ calciumreicher als Kartoffeln, jedoch calciumärmer als der in den Vorversuchen angewendete Hafer. In diesem Versuche, dessen Deutung nach den bisher genannten Grundlinien besonders schwierig erscheint, ergab sich unter Calciumgabe eine Abnahme der Harnstoffmenge. Ob hier besondere Verhältnisse obwalteten, oder ob es sich um eine regelmäßige Erscheinung handelt, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Als Resultat scheint sich also zu ergeben, daß beim kalkarm genährten Tiere Calciumgaben in der Tat in ähnlicher Weise wirken, wie es in der vorhergehenden Abhandlung von *Waller* für das Adrenalin gezeigt worden ist. Was die Wirkungsweise des Calciums angeht, so

läßt sich eine Entscheidung, ob die Calciumvermehrung oder die plötzliche Injektion wirksam ist, vorläufig nicht treffen. Bei dem Einfluß der Kaliuminjektion dürfte man dagegen sehr wahrscheinlich es mit einer Schockwirkung zu tun haben. Während im allgemeinen bei kalisalzreicher Nahrung die Quote des Harnstoffs verhältnismäßig gering ist, wie ja auch die Zahlen der Vorperiode bei den Kartoffel-Kaninchen zeigen, fällt beim Hafer-Kaninchen die relative Harnstoffmenge auf Kaliumzugabe nicht, ja sie steigt unter Umständen noch über das an sich hohe Verhältnis hinaus. Daraus folgt, daß die Kaliumwirkung durchaus keine Ähnlichkeit mit dem Einfluß des Physostigmins hat, welcher nach den Ausführungen von *Walter* in der vorhergehenden Arbeit in einer deutlichen Senkung der Harnstoffquote besteht. Das bestätigt uns die Anschauung, daß es sich hier um eine mehr oder weniger unspezifische Wirkung handelt.

Harnsaures Natrium als Kolloidelektrolyt.

Von

H. Freundlich und L. Farmer Loeb.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem, und der I. Medizinischen Universitätsklinik, Charité, Berlin.)

(Eingegangen am 3. November 1926.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

I.

Die Tatsache, daß der Gehalt biologischer Flüssigkeiten, insbesondere des Bluserums an Natriumurat bisweilen sehr viel höher ist als nach den Löslichkeitsbedingungen des Natriumurats zu erwarten wäre, hat dazu geführt, nach Ursachen für diese hohe Löslichkeit im Serum zu suchen. Es war dabei das Nächstliegende, sich mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften reiner Uratsalze zu beschäftigen. Bei diesen Untersuchungen ist das Erstaunliche eingetreten, daß die verschiedenen Untersucher zu diametral entgegengesetzten Anschauungen gelangten. Die eine Gruppe vertritt die Ansicht, daß es sich bei den Uraten um echt gelöste Salze in „übersättigter Lösung“ handelt, die andere Gruppe, daß sich ein „kolloides Stadium“ bei den Uraten nachweisen läßt. Es hat sich zwischen den Vertretern der verschiedenen, man kann fast sagen „feindlichen“ Anschauungen eine überaus lebhafte Polemik entwickelt.

II.

Der Hauptvertreter der Ansicht, es lasse sich bei den Uraten ein „kolloides Stadium“ nachweisen, ist *Schade* (1); zu der gleichen Anschauung waren auch *Bechhold* und *Ziegler* (2) gelangt. *Schade* begründet seine Meinung damit, daß die Urate unter geeigneten Herstellungsbedingungen Gallerten bilden, daß sie bei Innehalten gewisser Versuchsbedingungen koagalisieren und das Tyndallphänomen zeigen, daß bei der Ultrafiltration Urat vom Ultrafilter zurückgehalten wird, daß bisweilen eine Erhöhung der Viskosität auftritt. Er zieht ferner das mikroskopische Verhalten der Urate zur Stütze seiner Auffassung heran. Auf der anderen Seite glauben *Lichtwitz* (3), *Gudzent* (4), der als erster ausgedehnte physikalisch-chemische Untersuchungen an Uraten anstellte, und vor allem *Kohler* (5), daß die Urate

zwar zur Bildung „übersättigter Lösungen“ neigen, daß diese Lösungen aber den Gesetzen der klassischen physikalischen Chemie gehorchen. *Kohler* stützt seine Auffassung in der Hauptsache auf Leitfähigkeitsmessungen, auf Versuche mit der Kompensationsdialyse und auf Versuche über die Ausfällung der Urate aus ihren Lösungen. In neuerer Zeit haben *Keeser* und *Zocher* (6) Untersuchungen über das optische Verhalten von Uratgallerten ausgeführt, deren Ergebnisse sie vermuten ließen, daß die „gallertbildenden Urate“ den Kolloidelektrolyten zuzurechnen seien.

III.

Wir gelangten auf Grund unserer Untersuchungen an Natriumuratlösungen und unter Berücksichtigung der bisherigen Ergebnisse anderer Untersucher zu der Ansicht, daß sich die Urate in wässriger Lösung tatsächlich wie Kolloidelektrolyte verhalten.

Es sei uns gestattet, an dieser Stelle kurz zu rekapitulieren, was *Mc Bain* (7), dem die Erforschung dieser Körperklasse zu verdanken ist, unter Kolloidelektrolyte versteht. Als ihr Urbild können die Seifen in wässriger Lösung gelten. Ein Teil der Seife ist echt gelöst, also auch in Fettsäureanionen und Alkalikationen dissoziiert. Zum Teil sind die Anionen aber zu großen komplexen Polyionen zusammengetreten, die infolge ihrer Größe kolloides Verhalten zeigen. Der von ihnen ausgeübte osmotische Druck ist entsprechend kleiner, während sie einen erheblichen Beitrag zur Leitfähigkeit liefern können, weil ihre Beweglichkeit verhältnismäßig groß ist. Man findet daher einen gewissen Widerspruch zwischen der Leitfähigkeit und dem osmotischen Druck dieser Lösungen. Es ist natürlich auch nicht dissoziiertes Kolloid vorhanden. *Mc Bain* konnte in der Tat zeigen, daß in den Lösungen *nebeneinander* Alkaliionen, Kolloidionen, neutrales Kolloid, undissoziiertes Salz (Seife) und Fettsäureionen vorhanden sind, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Wie oft in kolloiden Gebilden stellen sich die Gleichgewichte vielfach langsamer ein, und es lassen sich ausgesprochene Nachwirkungen beobachten. Auf Grund ihrer experimentellen Daten gelang es *Mc Bain* und seinen Mitarbeitern, den prozentualen Gehalt der einzelnen Anteile in den Lösungen zu berechnen. Je verdünnter die Seifenlösungen waren, desto größer war der ionendisperse Anteil. In sehr konzentrierten Lösungen zeigen Seifen weitgehend das Verhalten von Kolloiden — sie bilden z. B. Gele —, in sehr verdünnten haben sie vorwiegend die Eigenschaften von Elektrolyten. Die Untersuchungen von *Mc Bain* sind von sehr großer theoretischer und praktischer Bedeutung, da sie uns das Verständnis für das Verhalten sehr vieler Stoffe, wie z. B. von Alkali- und Säureproteinen, von Farbstoffen, Indikatoren usw. ermöglicht. Bisher ist experimentell die Zugehörigkeit zu den Kolloidelektrolyten bei den Seifen (*Mc Bain* und Mitarbeiter, l. c.), dann auch beim Salvarsan [*Stuart Hunter* und *Patrick* (8)] und beim merkurisulfosalicylsäuren Natrium [*Frl. Berkman* und *Zocher* (9)] gezeigt worden.

IV.

Eigene Versuche.

Bei kritischer Betrachtung der bisherigen Untersuchungen über Urate drängte sich die Vermutung auf, es handle sich bei ihnen um Kolloidelektrolyte. Es wäre unter dieser Voraussetzung das Nächstliegende ge-

wesen, ebenso wie *Mc Bain* das Verhalten von Leitfähigkeit und osmotischem Druck zu untersuchen. *Mc Bain* bestimmte den osmotischen Druck seiner Seifenlösungen mit Hilfe einer Taupunktmethode. Unter einer Konzentration von 0,2 Mol lassen sich mit dieser Methode zuverlässige Werte nicht feststellen. Um für die Zwecke unserer Untersuchung einwandfreie Lösungen zu erhalten, kann man nur von Natriumuratsalz ausgehen. Es lassen sich aber mit diesem schwer Lösungen in einer Konzentration über 0,015 Mol herstellen. Bei Anwendung der Kryoskopie zur Bestimmung des osmotischen Druckes wären bei diesen Lösungen Gefrierpunktsniedrigungen von höchstens 0,001 bis 0,003° zu erzielen. Selbst bei Anwendung thermoelektrischer Temperaturmessung wären bei dieser Größenordnung einwandfreie Messungen nicht zu erwarten. Auch die Methode der Siedepunkterhöhung schien uns für unsere Zwecke nicht geeignet, da eine Zersetzung der Urate bei hohen Temperaturen nicht mit Sicherheit auszuschließen ist. Es schien am aussichtsvollsten, nach Anomalien der Leitfähigkeit zu suchen, wie sie *Stuart Hunter* und *Patrick* in Salvarsanlösungen gefunden haben. Deren Auftreten beruht etwa darauf, daß bei gewissen Gehalten der anwesenden Stoffe, insbesondere auch der H⁺- und OH⁻-Ionen, Kolloidionen in größerer Konzentration entstehen; diese bedingen eine höhere Leitfähigkeit unter Umständen, bei denen sie für einen normalen Elektrolyten abnehmen sollte. Bei dem eben erwähnten Versuch in Salvarsanlösungen fand sich z. B., daß, wenn man einen zugesetzten Überschuß an NaOH durch HCl neutralisierte, keine Abnahme der Leitfähigkeit eintrat, sondern eine weitere Zunahme, eben wegen des Auftretens von Kolloidionen.

Wir stellten das Natriumurat nach den Angaben von *Gudzent* und *Köhler* her unter Verwendung reiner Chemikalien der Firma Merck. Etwa 1 Liter Leitfähigkeitswasser wird auf 50° erwärmt und darin 1 Mol NaOH gelöst. Dann wird 1 Mol Harnsäure, in Wasser aufgeschwemmt, unter Umschwenken der Lösung nach und nach zugesetzt und die nicht gelöste Harnsäure schnell durch Abnutschen entfernt. Das beim Erkalten ausfallende Urat wird nach 24 Stunden filtriert und bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Zur Entfernung des Wassers wird erst mit Alkohol, dann mit Äther gewaschen und das Urat im Trockenschrank bei 45° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Leitfähigkeit wurde nach der Methode von *Kohlrausch* gemessen, der Uratgehalt der Lösungen als Stickstoff mit der Mikrokjeldahlmethode bestimmt.

Es war bei diesen Versuchen sehr wichtig, stets unter vergleichbaren Bedingungen zu arbeiten. Wir geben deshalb bei jeder Versuchsreihe die Herstellungsart der Uratlösungen an. Ferner bemerken wir, daß wir immer nur ein oder zwei Versuchsprotokolle aus einer großen Anzahl gleicher Versuche anführen.

4. Einfluß der Alkalisierung und darauffolgenden Zugabe von Säure auf Na-Uratlösungen.

Wir untersuchten, den oben erwähnten Versuchen an Salvarsanlösungen entsprechend, den Einfluß steigender Mengen Natronlauge und darauffolgender Zugabe steigender Salzsäuremengen auf die Leitfähigkeit von Na-Uratlösungen. Es wurden zu je 90 ccm Uratlösung n/10 NaOH zugefügt, zu den in Frage kommenden Proben darauf steigende Mengen

n HCl zugegeben und die einzelnen Proben mit H_2O auf 101 ccm aufgefüllt. (H_2O bedeutet in unseren Versuchen Leitfähigkeitswasser.)

Tabelle I.

Na-Uratlösung, hergestellt durch Auflösung von Na-Urat im Wasserbad bei 26°. Rückstand abfiltriert. Filtrat trübe. $\frac{1}{4}$ Stunde nach Beendigung der Filtration Zugabe von NaOH. 19 Stunden nach Zugabe der NaOH Zugabe von HCl. Leitfähigkeitsbestimmung der alkalisierten Lösung etwa 20 Stunden nach Herstellung, der HCl-haltigen etwa 3 Stunden später.

0,0045 mol. Na-Uratlösung. Leitfähigkeit bei 26°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	n HCl ccm	z. 10 ⁵
1	0,0	11,0		0,0	33,74
2	1,0	10,0		0,0	43,03
3	3,0	8,0		0,0	66,94
4	5,0	6,0		0,0	97,77
5	7,0	4,0	90,0	0,0	125,70
6	7,0	3,9		0,1	117,90
7	7,0	3,7		0,3	114,50
8	7,0	3,5		0,5	112,30
9	7,0	3,3		0,7	115,40
10	—	—		+ 0,0007 Mol NaCl	94,36!

0,0043 mol. Na-Uratlösung. Leitfähigkeit bei 26°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	n HCl ccm	z. 10 ⁵
1	0,0	11,0		0,0	34,33
2	1,0	10,0		0,0	43,10
3	3,0	8,0		0,0	66,74
4	5,0	6,0		0,0	—
5	7,0	4,0	90	0,0	127,00
6	7,0	3,9		0,1	119,70
7	7,0	3,7		0,3	114,50
8	7,0	3,5		0,5	113,60
9	7,0	3,3		0,7	117,20
10	—	—		+ 0,0007 Mol NaCl	95,13!

Die graphische Darstellung dieser Tabelle findet sich in Abb. 1. Wie aus der Kurve (Abb. 1) hervorgeht, nimmt bei Zugabe von NaOH die Leitfähigkeit zuerst langsamer zu als bei höheren NaOH-Konzentrationen. Besonders auffällig aber ist das Verhalten der Leitfähigkeit nach Zugabe der HCl. Die Leitfähigkeit nimmt dabei zuerst ab, erreicht langsam ein Minimum und steigt dann wieder an. Der Gesamtanfall ist nur gering. Sehr auffallend war ferner das optische Verhalten dieser Lösungen. Die Ausgangslösung war opaleszierend trübe, nach Zugabe von NaOH wurden die Lösungen zuerst stärker trübe, bei steigenden NaOH-Mengen aber wieder klarer, um schließlich wasserklar zu werden. Nach Zugabe der Säure blieben sämtliche Lösungen wasserklar.

Bekanntlich ist die Bildung des Dinatriumurats an alkalische Reaktion geknüpft. Es könnte sich also bei der Alkalisierung um Bildung des sekundären Salzes handeln. Daß dies aber nicht der Fall ist, geht aus dem Verhalten der Leitfähigkeit nach HCl-Zugabe deutlich hervor. Bei der allmählichen Neutralisation müßte sich das ursprüngliche Gleichgewicht wieder einstellen, die Leitfähigkeit also entsprechend wieder abnehmen. Die Leitfähigkeit nimmt aber nur ganz wenig ab und zeigt im Endpunkt der Kurve sogar einen kleinen Anstieg. Nach unserer Meinung ist dies Verhalten nur dahin zu deuten, daß unter den Bedingungen des Versuchs harnsäurehaltige Kolloidionen entstehen, die zum Teil die Zunahme der Leitfähigkeit verursachen. Die anfängliche Abnahme beruht auf der teilweisen Neutralisation der OH⁻-Ionen. Daß aber der gesamte Kurvenverlauf nicht allein auf die Änderung der OH⁻-Ionenkonzentration zurückzuführen ist, geht besonders deutlich auch daraus hervor, daß durch bloße Zugabe von NaCl zu einer Uratlösung nicht dieselbe Leitfähigkeitsveränderung auftritt wie durch Alkalisierung und nachträgliches Neutralisieren. Um dieses Verhalten deutlicher zu erkennen, fügten wir zu einer Uratlösung so viel NaCl hinzu (0,0007 Mol), wie bei der Neutralisation von 7 ccm $\frac{1}{10}$ NaOH und 0,7 ccm n HCl entsteht. Wie aus den Tabellen und der Kurve ersichtlich ist, wich die so gefundene Leitfähigkeit merklich von der ab, die nach Alkalisierung und Neutralisierung erhalten wurde.

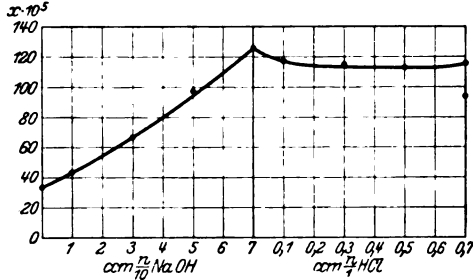


Abb. 1.

Auch das optische Verhalten spricht für unsere Auffassung. Entstände durch das Alkalisieren sekundäres Urat, auf dessen Bildung die Trübung dann beruhte, so müßte bei der nachträglichen allmählichen Neutralisation die Trübung wieder auftreten. Die klaren Lösungen bleiben aber klar. Auch hier, wie bei der Leitfähigkeit, kein umkehrbares Verhalten.

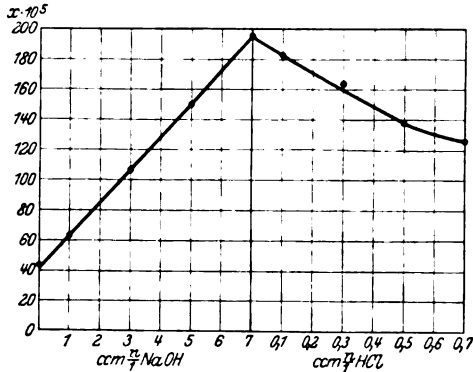


Abb. 2.

Wir halten es für wahrscheinlich, daß, wie oben erwähnt, bei dem Zusatz von Alkali unter nachfolgender Neutralisation Kolloidionen von größerer Beweglichkeit entstehen und sich erhalten; weniger wahrscheinlich ist es uns, daß bei dieser Behandlungsweise aus von vornherein vorhandenen Kolloidionen eine größere Anzahl kleinerer Elektrizitätsträger entsteht.

Wir haben zum Vergleich genau dieselben Versuche mit einem echt gelösten Elektrolyten, dem NaCl, ausgeführt (s. Tabelle II, Abb. 2).

Tabelle II. 0,004 mol NaCl-Lösung. Leitfähigkeit bei 26°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	NaCl ccm	n HCl ccm	$\kappa \cdot 10^5$
1	0,0	11,0		0,0	43,99
2	1,0	10,0		0,0	62,34
3	3,0	8,0		0,0	106,20
4	5,0	6,0		0,0	149,80
5	7,0	4,0	90	0,0	194,80
6	7,0	3,9		0,1	182,90
7	7,0	3,7		0,3	164,30
8	7,0	3,5		0,5	138,00
9	7,0	3,3		0,7	126,30
10	—	—		+ 0,0007 Mol NaCl	126,701

Wir erhalten hier einen geradlinigen Anstieg und, vor allem auch, Abstieg der Leitfähigkeitskurven. Wie nicht anders zu erwarten war, fallen hier, im Gegensatz zum Urat, die Punkte 9 und 10 der Tabelle zusammen, d. h., man erhält dieselbe Leitfähigkeit nach Alkalisierung und darauffolgendem Neutralisieren, wie durch Zusatz der entsprechenden NaCl-Menge. Bei Betrachtung der Kurven fällt ferner auf, daß die durch die gleichen Mengen NaOH hervorgerufene Gesamtzunahme der Leitfähigkeit beim NaCl mehr als das 4,7fache des Anfangswertes beträgt, während die beim Urat auftretende Zunahme nur etwa das 3,7fache ausmacht.

b) Der Verlauf der p_H -Kurven beim Alkalisieren und darauf folgender Säurezugabe.

Vergleicht man die p_H -Kurven der Uratlösungen mit denen der NaCl-Lösungen (Tabellen III und IV, Abb. 3), so fällt sofort der viel flachere Verlauf der Kurve beim Urat auf, als ein Zeichen dafür, daß ein Teil der zugefügten OH-Ionen vom Urat gebunden sind.

Tabelle III.

Na-Uratlösung, hergestellt durch Auflösen von Na-Urat im Wasserbad bei 26°. Rückstand abfiltriert. Filtrat trübe. Kurze Zeit nach Beendigung der Filtration Zugabe von NaOH. Etwa 20 Stunden nach Zugabe der NaOH Zugabe von HCl. 20 Stunden nach der Alkalisierung elektrometrische Bestimmung der H-Ionenkonzentration; 3 Stunden später Bestimmung des p_H der HCl-haltigen Lösungen.

0,0045 mol Na-Uratlösung. Temperatur 25°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	n HCl ccm	p_H
1	0,0	11,0		0,0	6,71
2	1,0	10,0		0,0	7,47
3	3,0	8,0		0,0	8,41
4	5,0	6,0		0,0	9,14
5	7,0	4,0	90	0,0	9,99
6	7,0	3,9		0,1	9,81
7	7,0	3,7		0,3	9,50
8	7,0	3,5		0,5	7,76
9	7,0	3,3		0,7	6,76

0,0043 mol Na-Uratlösung. Temperatur 25°.

Nr.	n 10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	n HCl ccm	p _H
1	0,0	11,0		0,0	6,91
2	1,0	10,0		0,0	7,75
3	3,0	8,0		0,0	9,57
4	5,0	6,0		0,0	—
5	7,0	4,0	90	0,0	10,34
6	7,0	3,9		0,1	10,03
7	7,0	3,7		0,3	9,50
8	7,0	3,5		0,5	8,57
9	7,0	3,3		0,7	7,06

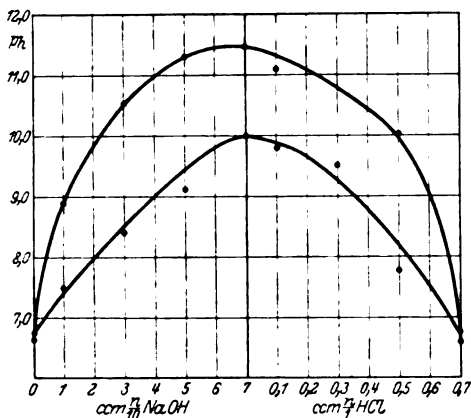


Abb. 3.

Tabelle IV.

0,004 mol NaCl-Lösung (p_H elektrometrisch gemessen). Temperatur 25°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	NaCl ccm	n HCl ccm	p _H
1	0,0	11,0		0,0	6,65
2	1,0	10,0		0,0	8,89
3	3,0	8,0		0,0	10,56
4	5,0	6,0		0,0	11,31
5	7,0	4,0	90	0,0	11,47
6	7,0	3,9		0,1	11,18
7	7,0	3,7		0,3	11,11
8	7,0	3,5		0,5	10,06
9	7,0	3,3		0,7	6,61

Besonders beachtenswert ist der Verlauf der p_H-Kurve beim Urat im Gebiet der allmählichen Neutralisation, wenn man sie mit der entsprechenden Leitfähigkeitskurve vergleicht. Man erkennt, daß eine allmähliche Neutralisation der alkalisierten Uratlösungen eintritt und daß im Endpunkt der Kurve die Lösung neutral ist. Die Leitfähigkeit der Uratlösungen

nimmt aber nicht entsprechend dem Verschwinden der freien OH⁻-Ionen wieder ab. Ein Teil der zugefügten OH⁻-Ionen wird von den Uratmicellen gebunden — dies geht aus dem geringeren Anstieg der Leitfähigkeits- und p_H -Kurven gegenüber der NaCl-Kurve hervor — und ruft, wie wir unter a) zeigen konnten, die nicht glatt umkehrbare Bildung von Kolloidionen hervor. Der Verlauf der p_H -Kurve ist eine deutliche Bestätigung hierfür.

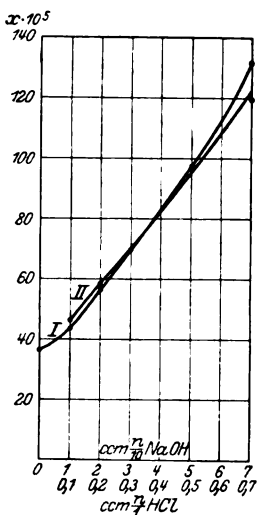


Abb. 4.

c) Weitere Versuche über den Einfluß von Alkali auf Uratlösungen.

Wie aus den weiter oben geschilderten Versuchen hervorgeht, ruft Zugabe von NaOH zu Natriumuratlösungen eine nicht glatt umkehrbare Veränderung hervor. Um diese Veränderung weiter zu untersuchen, fügten wir, wie in den ersten Versuchen, steigende NaOH-Mengen zu Na-Uratlösungen, ließen die Lösungen dann etwa 20 bis 24 Stunden stehen und bestimmten ihre Leitfähigkeit. Zu weiteren in derselben Weise alkalisierten Lösungen fügten wir 20 bis 24 Stunden nach der Alkalizugabe so viel HCl hinzu, daß die Lösungen neutralisiert wurden, ließen sie weitere 20 bis 24 Stunden stehen und bestimmten dann die Leitfähigkeit dieser Lösungen. Wie aus Tabelle V und Abb. 4 hervorgeht, ist die Leitfähigkeit beider Reihen fast dieselbe (Kurve 1, alkalisierte Lösungen, Kurve 2, alkalisierte und durch HCl wieder neutralisierte Lösungen), d. h. die durch

Tabelle V.

Na-Uratlösung, hergestellt durch Auflösen von Na-Urat im Wasserbad bei 25°. Rückstand abfiltriert. Filtrat sehr trübe, milchig. Etwa ¼ Stunde nach Beendigung der Filtration Zugabe von NaOH. 20 Stunden nach Zugabe der NaOH Zugabe von HCl. Leitfähigkeitsbestimmung der alkalisierten Lösungen nach etwa 21 Stunden, der HCl-haltigen etwa 24 Stunden später bei 26°.

0,00438 mol. Na-Uratlösung.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	$\kappa \cdot 10^5$
1	0,0	10,0		36,17
2	1,0	9,0		43,79
3	2,0	8,0	90	56,86
4	3,0	7,0		69,81
5	5,0	5,0		97,72
6	7,0	3,0		131,70
2a	Zu 50 ccm Lösung	2 0,05 ccm	n HCl	46,10
3a	„ 50 „	„ 3 0,10 „	„	58,17
4a	„ 50 „	„ 4 0,15 „	„	69,52
5a	„ 50 „	„ 5 0,25 „	„	97,03
6a	„ 50 „	„ 6 0,35 „	„	119,60

Tabelle VI.

0,004 mol. NaCl-Lösung. Leitfähigkeit bei 26°.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	NaCl ccm	$\kappa \cdot 10^5$
1	0,0	10,0		44,03
2	1,0	9,0		63,04
3	3,0	7,0	90	102,80
4	5,0	5,0		148,60
5	7,0	3,0		193,60
2a	Zu 50 ccm Lösung 2 0,05 ccm n HCl			55,73
3a	50	3	0,15	80,39
4a	50	4	0,25	103,30
5a	50	5	0,35	127,10

die Natronlauge hervorgerufene Veränderung ist durch die Säure nicht wieder rückgängig gemacht worden. Auch hier kann es sich nicht um eine Sekundärsalzbildung handeln, denn in diesem Falle hätte sich durch das Neutralisieren das ursprüngliche Gleichgewicht wieder herstellen müssen. In dieser Versuchsreihe zeigte sich gleichfalls das schon beschriebene optische Verhalten der alkalisierten und neutralisierten Uratlösungen: Steigende NaOH-Mengen rufen zuerst eine stärkere Trübung, dann eine allmähliche Aufhellung und in höheren Konzentrationen eine vollständige Aufhellung der ursprünglich trüben Lösungen hervor. Beim nachträglichen Neutralisieren durch HCl bleiben die Lösungen wasserklar.

Wir haben dann wieder dieselbe Versuchsanordnung mit NaCl-Lösungen durchgeführt (Tabelle VI, Abb. 5).

Wie aus der Abbildung deutlich ersichtlich ist, liegen die Werte für die Leitfähigkeit der neutralisierten Lösungen bedeutend tiefer als die der alkalischen Lösungen, entsprechend dem Wiederverschwinden der OH⁻-Ionen. Wir erblicken in den eben beschriebenen Versuchen eine weitere Stütze für die Auffassung, daß das Na-Urat in wässriger Lösung nicht durchaus echt gelöst ist.

d) Die Leitfähigkeit alkalisierter Natriumuratlösungen.

Wie wir schon unter a) erwähnten, zeigt der Verlauf der Leitfähigkeitskurven alkalisierter Na-Uratlösungen im Gegensatz zu denen alkalisierter NaCl-Lösungen keinen geradlinigen, sondern einen deutlich gebogenen Verlauf (Tabelle VII, Abb. 6).

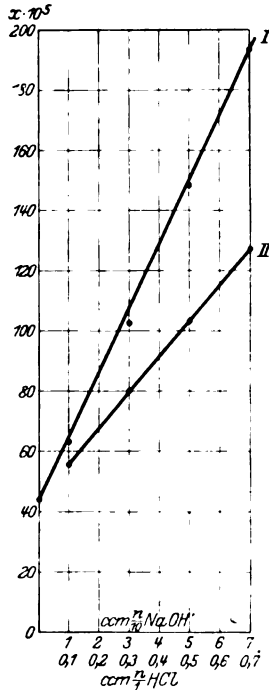


Abb. 5.

Tabelle VII.

Na-Uratlösung, hergestellt im Wasserbad bei 25°. Rückstand abfiltriert. Filtrat trübe, opak, schlierenbildend. Leitfähigkeitsbestimmung nach 24 Stunden bei 26,1°.

0,00588 mol. Na-Uratlösung.

Nr.	n/10 NaOH ccm	H ₂ O ccm	Urat ccm	z · 10 ⁵	Aussehen der Lösung	
					sofort	nach 24 Stunden
1	0,0	10,0		37,50	trübe	schlierenbildend
2	1,0	9,0		44,84	„	Trübung stärker als 1
3	2,0	8,0	90	55,60	„	Trübung zugenommen
4	3,0	7,0		68,23	weniger trübe	„ „
5	4,0	6,0		80,15	noch weniger trübe	weniger trübe als 4
6	5,0	5,0		96,18	ganz schwach trübe	Lösung opalesziert

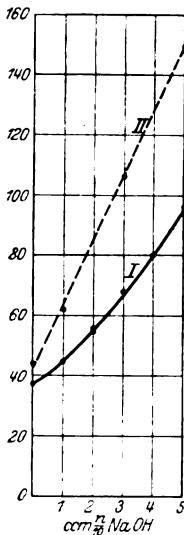


Abb. 6.

Das heißt, es nimmt die Leitfähigkeit nicht gleichmäßig zu, und zwar ist der Anstieg der Leitfähigkeit zuerst geringer. Auch in diesen Versuchen zeigte sich das schon mehrfach beschriebene optische Verhalten der Uratlösungen nach Zugabe von Lauge.

e) Einfluß des Erhitzens.

Eine nicht glatt umkehrbare Veränderung der Leitfähigkeit ließ sich nicht nur durch Einwirken von Alkali erreichen, sondern auch auf einem anderen Wege, nämlich durch Erhitzen. Wir erwärmten Proben einer bei 26° hergestellten Na-Uratlösung je 30 Minuten auf 40, 50 und 60°, ließen die Lösungen sich wieder abkühlen und bestimmten ihre Leitfähigkeit nach 1½ und 2½ Stunden. Wie aus Tabelle VIII und Abb. 7 hervorgeht, bedingt diese Behandlung eine Zunahme der Leitfähigkeit. Auffallend ist, daß die Leitfähigkeit einer auf 60° erhitzten Lösung nicht größer war als die einer auf 50° erhitzten. Beim Erhitzen trat auch eine optische Veränderung ein. Die ursprüngliche Lösung sah bei 26° milchig aus, die auf 40° erhitzte zeigte nur noch eine geringe Trübung, während die auf 50 und 60° erwärmten Lösungen wasserklar waren. Die auf 26° wieder abgekühlten Lösungen blieben wasserklar bzw. trübe. Die durch das Erhitzen hervorgerufene Veränderung war, wie aus dem Verhalten der Leitfähigkeit und dem optischen Verhalten hervorgeht, irreversibel.

Die nach dem Erhitzen größere Leitfähigkeit hätte vielleicht durch hydrolytische Spaltung und dadurch vermehrte OH-Ionenbildung hervorgerufen sein können. Es wurde deshalb die H-Ionenkonzentration vor

Tabelle VIII.

Na-Uratlösung, hergestellt im Wasserbad bei 25° durch Auflösen von Na-Urat. Rückstand abfiltriert. Filtrat sehr trübe, milchig. Zweite Probe 30 Minuten auf 40 ± 1° erhitzt, dritte Probe 30 Minuten auf 50 ± 1° erhitzt, vierte Probe 30 Minuten auf 60 ± 1°. Alle Lösungen wieder abkühlen lassen (Nr. 1 1½ Stunden, Nr. 2 2½ Stunden).

Leitfähigkeit bei 26,2°.

Nr.	Konzentration mol.	Lösung erhitzt auf °C	$\kappa \cdot 10^5$	Aussehen der Lösung
1	0,0077	26,2	44,12	milchig trübe, opak wasserklar
		40	56,49	
		50	60,09	
		60	60,09	
2	0,00804	26,1	43,22	„ sehr trübe trübe, opak wasserklar „
		40	55,60	
		50	59,09	
		60	59,32	

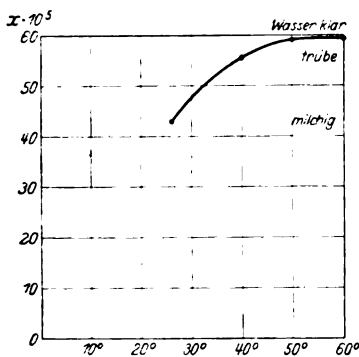


Abb. 7.

und nach dem Erhitzen auf 60° gemessen. Wie aus Tabelle IX hervorgeht, kann die ganz geringfügige Zunahme der OH⁻-Ionen für die vergrößerte Leitfähigkeit nicht verantwortlich gemacht werden.

Tabelle IX.

Na-Uratlösung, hergestellt durch Auflösen von Na-Urat im Wasserbad bei 26°. Rückstand abfiltriert. Filtrat sehr trübe, milchig. Nach etwa 20 Stunden Bestimmung der Leitfähigkeit (26°) und der H⁺-Ionenkonzentration. Dann ein Teil der Lösung 30 Minuten auf 60° erhitzt und wieder abgekühlt. Leitfähigkeit und p_H wieder gemessen.

0,00578 mol. Na-Uratlösung.

	$\kappa \cdot 10^5$	p _H	Aussehen der Lösung
1. Probe (ursprüngliche Lösung)	37,09	6,96	milchig wasserklar (man sieht vereinzelte Fäden herumschwimmen).
2. Probe (30 Min. auf 60°C erhitzt, 2½ Stdn. wieder abkühlen lassen)	45,58	6,99	

0,00717 mol. Na-Uratlösung.

	$\alpha \cdot 10^5$	p_H	Aussehen der Lösung
1. Probe (ursprüngliche Lösung) . .	40,28	7,02	milchig
2. Probe (30 Minuten auf 60°C erhitzt, wieder abkühlen lassen).	56,62	7,05	wasserklar

Es kann sich unserer Meinung wiederum nur um eine Veränderung der Konzentration der Kolloidionen handeln. Welcher Art sie eigentlich ist, läßt sich kaum entscheiden, ehe man weiß, wie sich das osmotische Verhalten parallel mit der Leitfähigkeit ändert. Denn die Leitfähigkeitszunahme allein kann sowohl daher rühren, daß sich Elektrizitätsträger höherer Beweglichkeit bilden, wie die Kolloidionen, oder daß sich die Zahl der Elektrizitätsträger vermehrt. Im ersterwähnten Falle des Alkalizusatzes wurde die erste Annahme bevorzugt, weil sich die Lösung zunächst trübt; hier beim Erhitzen, wo nur ein Aufklären beobachtet wird, ist vielleicht wahrscheinlicher, daß Kolloidionen in kleinere Ionen aufgeteilt werden, und daß dieses die Leitfähigkeitszunahme zur Folge hat.

f) Die Leitfähigkeit reiner Na-Uratlösungen.

Kohler (l. c.) zieht zur Stütze für seine Auffassung der Urate als echt gelöste Salze seine Untersuchungen über deren Leitfähigkeit heran. Aus der Leitfähigkeit verschieden konzentrierter Lösungen berechnet er den „Dissoziationsgrad“ des Natriumurats. Wie aus den *Mc Bainschen* Untersuchungen hervorgeht, kann man nicht in jedem Falle aus der Leitfähigkeit auf die Dissoziation Rückschlüsse ziehen. Abgesehen hiervon, fällt aber bei Betrachtung der *Kohlerschen* Zahlen für die molekulare Leitfähigkeit auf, daß diese Kurve von der für ionendisperse Salze abweicht. Und zwar nimmt die molekulare Leitfähigkeit gerade im Gebiet der stärksten Verdünnung nur wenig ab, die Kurve zeigt sogar in einem gewissen Bereich geradlinigen Verlauf.

Wir haben deshalb unter Innehaltung der größten Vorsichtsmaßregeln die Leitfähigkeit reiner Na-Uratlösungen gemessen. Die Urate wurden, wie bereits erwähnt, aus reinsten Chemikalien von *Merck* hergestellt, der Stickstoffgehalt jeder Verdünnung wurde nach der Mikrojeldahlmethode bestimmt. Trotz aller Sorgfalt gelang es uns nicht, Kurven für die molekulare Leitfähigkeit zu erhalten, die den zu fordernden gleichmäßigen Verlauf zeigen. Wir erblicken in dieser Tatsache einen weiteren Beweis dafür, daß es sich bei den Lösungen des Na-Urats nicht um echte Lösungen handelt. Die Lösungen enthalten kolloiddisperse Anteile, die für den unregelmäßigen Verlauf der Kurven verantwortlich zu machen sind.

V.

Deutung unserer Versuche.

Betrachtet man nochmals zusammenfassend die Ergebnisse unserer Versuche, so lassen sich das optische Verhalten und das Verhalten der Leitfähigkeit der alkalisierten und nachträglich teilweise bzw. völlig neutralisierten Lösungen, der Einfluß des Erhitzens, das Verhalten der Leitfähigkeit reiner Natriumuratlösungen und der Verlauf

der p_H -Kurven wohl nur erklären, wenn man annimmt, daß in diesen Lösungen Kolloidteilchen enthalten sind. Wir haben dabei in einem Konzentrationsbereich gearbeitet (die Lösungen waren durchschnittlich 0,005 mol., in einigen Versuchen bis etwa 0,008 mol), in dem die Lösungen als nicht sehr konzentriert zu betrachten sind. Auf der anderen Seite zeigten unsere Lösungen nicht das Verhalten typischer Kolloide, so sind z. B. die Werte für die Leitfähigkeit reiner Uratlösungen sehr hoch. Unter Berücksichtigung aller dieser Erscheinungen sind wir der Ansicht, daß das Na-Urat ein Kolloidelektrolyt ist.

VI.

Kritik und Deutung der Versuche früherer Untersucher.

a) Kohlers Versuche.

1. *Kohler* (l. c.) schließt aus dem Verhalten der Leitfähigkeit seiner Uratlösungen auf eine weitgehende Dissoziation. Die beobachtete hohe Leitfähigkeit und die Dissoziation in stark verdünnten Lösungen kann bei Berücksichtigung des Verhaltens der Kolloidelektrolyte (z. B. Seifen) nicht als beweisend für das Vorhandensein einer echten Lösung betrachtet werden.

2. Als weiterer Beweis dafür, daß die Urate echte Lösungen geben, führt *Kohler* das Verhalten bei der Kompensationsdialyse an. Auch diese Versuche können anders gedeutet werden. In der Lösung eines Kolloidelektrolyten befinden sich nebeneinander neutrale Kolloidteilchen, Kolloidionen, Moleküle, Ionen. Die Ionen diffundieren durch die Membran hindurch, dadurch wird die Innenflüssigkeit verdünnter, es zerfallen einige größere Komplexe, neue Ionen diffundieren, und der Vorgang wiederholt sich, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. *Zocher* und *Frl. Berkman* haben am merkurisulfosalicylsauren Natrium gezeigt, daß ein Kolloidelektrolyt bei Erneuerung der Außenflüssigkeit vollständig durch eine Membran diffundieren kann.

3. Aus dem Ausfallen des Natriumurats aus übersättigten Lösungen wird auf echtes Gelöstsein geschlossen. Dabei erschien allerdings auch *Kohler* „die ungeheuer kleine Auskristallisationsgeschwindigkeit“ „sehr auffällig.“ Er schreibt: „Sie ist im Vergleich mit anderen bekannten Stoffen so unwahrscheinlich klein, daß ich ursprünglich an die von *Marc* beschriebene Abbremsung dieses Vorgangs durch Kolloidspuren in der Lösung dachte. Ich konnte diese Annahme aber nicht bestätigen.“ Seine ursprüngliche Annahme ist aber sicherlich die richtige. Nur handelt es sich nicht um die Anwesenheit eines fremden Kolloids, sondern die Lösungen enthalten, wie wir oben auseinandersetzen, kolloides Na-Urat und Uratmizellen. Das Na-Urat ist in diesem Falle sein eigenes Schutzkolloid.

4. *Kohlers* Versuche über das Verhalten von Kolloiden gegenüber Uratlösungen entsprechen nicht unseren heutigen Kenntnissen. Zu erwähnen wäre nur, daß die von ihm benutzten Stoffe, die wirklich Kolloide sind (Gelatine, Albumin), eine deutliche Schutzkolloidwirkung erkennen lassen.

Wir glauben hiermit gezeigt zu haben, daß keiner der von *Kohler* angeführten Versuche dafür beweisend ist, daß das Natriumurat echt gelöst ist.

Zugutehalten muß man allerdings *Kohler*, daß zur Zeit seiner Untersuchungen die Kenntnis der *Mc Bainschen* Arbeiten noch nicht allgemein war. Wenn man nur das Verhalten der klassischen Kolloide und die Erscheinungen der klassischen physikalischen Chemie berücksichtigt, so ist sein damaliger Standpunkt verständlich.

b) *Schades* Versuche.

Auf Grund eingehender Versuche über das optische Verhalten, über die Viskosität und über das Verhalten bei der Ultrafiltration „übersättigter“ Uratlösungen schließt *Schade*, daß man eine „Kolloidphase“ in der Lösung und eine „Kolloidbildung“ annehmen müsse. Aus Leitfähigkeitsmessungen und aus Messungen der Gefrierpunktsniedrigungen kommt er zu dem Schluß, daß „ein und dieselbe Übersättigung in dem einen Falle in echter Lösung, im anderen Falle in weitgehender kolloider Umwandlung anzutreffen ist“. Ferner schreibt er: „Der Prozeß der Umwandlung zwischen Ionen und Kolloid ist völlig reversibel, so daß im strengen Sinne des Wortes ein Gleichgewicht zwischen Kolloid und Ionen gegeben ist.“ Ferner: „Je mehr bei einer Übersättigung die U(-rat)-Substanz in die Form des Kolloids hinübergedrängt wird ...“, und „bei niedrigen Übersättigungsgraden wird ... die Menge des kolloiden Anteils an der Lösung geringer sein ...“.

Mit diesen Worten sind aber die Kolloidelektrolyte gekennzeichnet. Es fehlt nur der Hinweis auf die *Mc Bainschen* Untersuchungen über die Seifen und auf die Möglichkeit, gerade aus Eigentümlichkeiten der Leitfähigkeit die besondere Natur dieser Lösungen ableiten zu können. Wir glauben durch unsere Versuche gezeigt zu haben, daß wirklich eine deutliche Ähnlichkeit zwischen den Uratlösungen und den Lösungen anderer Kolloidelektrolyte besteht, und daß man allen Grund hat, anzunehmen, in Na-Uratlösungen seien nebeneinander Na-Ionen, Urationen, undissoziiertes, nichtkolloides Na-Urat, neutrales Uratkolloid und Kolloidionen des Urats enthalten. Das Verhältnis der einzelnen Anteile in der Lösung hängt von der Konzentration der Lösung ab, und zwar in dem Sinne, daß der kolloide Anteil in höherer Konzentration größer, in niedrigerer Konzentration geringer ist. Der ionendisperse Anteil verhält sich umgekehrt.

Zusammenfassung.

1. Es wurde gezeigt, daß bei Zugabe von Lauge zu Natriumuratlösungen, ebenso wie beim Salvarsan, Anomalien der Leitfähigkeit auftreten.

2. Nachträgliche Neutralisierung der alkalisierten Uratlösungen ist nicht imstande, die Veränderungen wieder rückgängig zu machen.

3. Vergleicht man den Verlauf der p_H -Kurven alkalisierter und nachträglich neutralisierter Na-Uratlösungen mit dem Verlauf der p_H -Kurven ebenso behandelter NaCl-Lösungen, so fällt der wesentlich flachere Verlauf dieser Kurven beim Urat auf.

4. Nach Erhitzen (und Wiederabkühlen) ist die Leitfähigkeit von Uratlösungen wesentlich erhöht. Trübe Uratlösungen werden dabei klar und bleiben klar. Eine hydrolytische Spaltung des Na-Urats findet dabei nicht statt.

5. Die Kurven der molaren Leitfähigkeit reiner Na-Uratlösungen zeigen nicht den von einem echten Elektrolyten zu fordernden gleichmäßigen Verlauf.

6. Auf Grund dieser experimentellen Ergebnisse und theoretischer Überlegungen wird geschlossen, daß das Na-Urat ein Kolloidelektrolyt ist.

Die Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft unterstützte uns bei der Ausführung dieser Arbeit durch die leihweise Überlassung von Apparaten. Wir sprechen ihr hierfür unseren besten Dank aus.

Literatur.

1) *Schade* und *Boden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 347, 1913; *Schade*, Verh. XXXI. Kongr. f. inn. Med. 1914; Zeitschr. f. klin. Med. **93**, 1, 1922. — 2) *Bechhold* und *Ziegler*, diese Zeitschr. **20**, 183, 1909; **24**, 146, 1910; **64**, 471, 1914. — 3) *Lichtwitz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 144, 1910; **84**, 416, 1913. — 4) *Gudzent*, ebendasselbst **60**, 25, 1909; **56**, 150, 1908; **60**, 38, 1909; **89**, 253, 1914; **63**, 455, 1909; diese Zeitschr. **23**, 275, 1910. — 5) *Kohler*, Zeitschr. f. klin. Med. **78**, 1, 1913; Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **17**, 473, 1919. — 6) *Keeser* und *Zocher*, Kolloidchem. Beih. **17**, 189, 1923. — 7) *Mc Bain* und *Frl. Taylor*, Ber. d. deutschen chem. Ges. **43**, 321, 1910; Zeitschr. f. physik. Chem. **76**, 179, 1911; *Mc Bain* und *C.G. Salmon*, Journ. Amer. Chem. Soc. **42**, 426, 1920. — 8) *Stuart Hunter* und *Patrick*, Journ. of Laboratory and Clinical Med. **10**, Nr. 5/6, 1925. — 9) *Fr'. Berkman* und *Zocher*, Kolloidchem. Beih. **23**, 292, 1926 (*Ambrohn-Festschrift.*)

Fütterungsversuch an Milchziegen mit Glykokoll als Eiweißersatz.

Von

Johannes Williger.

(Aus dem agrikulturchemischen und bakteriologischen Institut der
Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau.)

(Eingegangen am 4. November 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1922 wurde am agrikulturchemischen Institut Breslau in einem Versuch von *Ungerer*, welcher in dieser Zeitschr. 147, H. 3/4, 257, 1924 veröffentlicht worden ist, neben Harnstoff in einer Ersatzperiode Glykokoll an sechs Ziegen verfüttert. Es sollte festgestellt werden, wieweit dieses Amid imstande sei, bei reichlichem Produktionsfutter Eiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit zu ersetzen. Um den Stärkewert der Ration auf gleicher Höhe zu halten, waren 200 g Zucker als Zugabe zum Glykokoll gereicht worden. Das Glykokoll vermochte nicht, das Eiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit zu ersetzen. Es trat aber eine Vermehrung der Fettprocente in der Milch um das 1,4- bis 1,9fache gegenüber der Anfangsperiode ein, so daß in einem Falle bei Ziege 2 ein Fettgehalt von 8,2 Proz. aufgezeichnet werden konnte. Wenn auch die Brunstzeit gerade in diese Periode fiel, so sah sich *Ungerer* dennoch gezwungen, eine Steigerung der Fettprocente bei starker Abnahme der Milchmenge und der Trockensubstanz dem Glykokoll zuzuschreiben, da diese Erscheinung bald nach Verfütterung des Amids einsetzte und sich über 3 Wochen erstreckte, ja eine Nachwirkung besonders bei Ziege 2 deutlich wahrzunehmen war. Sonst tritt bei Brunst eine Steigerung der Fettprocente der Literatur nach oft gar nicht ein oder auftretende Schwankungen erstrecken sich nur über einige Tage.

Eine Steigerung des Fettgehalts der Milch konnte übrigens bei Brunst in einem Falle bei Ziege 2 in dieser Untersuchung für einige Tage festgestellt werden.

Die hier vorliegende Arbeit, im Sommer 1924 ausgeführt, stellt eine weitere Prüfung des oben erwähnten Vorwurfs dar, nur mit etwas

anderer Fragestellung. Bei der Aufstellung des Versuchsplans war der Grundgedanke leitend, daß mit großer Wahrscheinlichkeit dem Glykokoll eine Reizwirkung auf den Stoffwechsel und die Milchdrüse zugeschrieben werden müsse. Eine Reizwirkung wird jetzt öfters und wohl mit großem Recht bei der Tierernährung erwogen und zum Teil in den Vordergrund gestellt. Denn auch ein Gift, welches, in größerer Menge gegeben, die Gesundheit schädigt, ja selbst zum Tode führt, wie z. B. Arsenik und andere, kann auch recht erwünschte Reizwirkungen ausüben; und die Ergebnisse von Harnstofffütterungen erinnern oft an ähnliche Verhältnisse.

*Scheunert*¹⁾ schreibt dem Harnstoff eine stimulierende Tätigkeit dem Stoffwechsel, der Drüsentätigkeit und den Oxydationen gegenüber zu, denn die Respirationsversuche zeigten bei Harnstoffzulage eine Vermehrung des O₂-Verbrauchs. Blutuntersuchungen ergaben eine starke Steigerung des Reststickstoffs und Harnstoff-N im Blute. „Es trat also eine Überschwemmung des Blutes mit diesem Stoffe ein, den der Körper möglichst schnell unter starkem Energieverbrauch wieder ausschied.“

Scheunert lehnt die Bakterieneiweißtheorie ab. Nicht so *Morgen* und seine Mitarbeiter, sie erklären durch dieselbe die günstige Wirkung des Ammonacetats und behalten sie auch für den Harnstoff bei, stellen aber auf Grund ihrer letzten Arbeit²⁾ und ihrer früheren Versuche³⁾ für letzteren eine einseitige Reizwirkung auf die Milchdrüse in den Vordergrund, welche zu einer Fetterhöhung führt, ohne die übrigen Milchbestandteile zu vermehren. Sehr nahe liegt es, beim Studium ihrer Arbeit auch für Ammonacetat einen vielleicht vielseitigeren Reiz — *Paasch* spricht auf Grund seiner an unserem Institut ausgeführten Arbeit⁴⁾ von einem besonderen Reiz auf die Milchdrüse — anzunehmen, da dasselbe noch eine Steigerung der Milchmenge bei gleicher Qualität hervorruft, während eine Eiweißzulage dies nicht vermag.

Weil uns in dieser Arbeit, wie schon oben erwähnt, besonders an der Erforschung einer Wirkung des Glykokolls auf den Stoffwechsel und vor allem auf die Milchdrüse gelegen war, wählten wir nur eine Anfangs- und eine Schlußgrundfutterperiode, um einen schroffen Wechsel in der Fütterung durch eingeschaltete Grundfutterperioden (sogenannte Zwischengrundfutterperioden) während des Versuchs zu vermeiden, was allein schon eine starke Störung im tierischen Organismus hervorrufen kann. Auch sahen wir davon ab, nur verdauliches Eiweiß durch Glykokoll zu ersetzen, weil wir sonst mehrere Futtermittel in den Ersatzperioden hätten fortlassen müssen, und so wenigstens noch 50 g Trockenhefe in der Ration behalten konnten, was wichtig erschien, da nach einigen Forschern jedem Futtermittel eine eigene Reizwirkung innewohnen soll. Es lag auch nicht im Sinne dieser Arbeit, die einzelnen

¹⁾ Diese Zeitschr. 188, 137, 1922.

²⁾ Landw. Versuchszt. 58, 1, 1925.

³⁾ Ebendasselbst 99, 1 und 259.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 160, Heft 4/6, 1925.

Perioden sehr lang auszudehnen, weil dies sogar die Auslösung eines Reizes verhindern kann, und auch ein Reiz, wenn er genügend stark ist, bald in Erscheinung treten muß, da vor allem die Milchdrüse so empfindlich reagiert. Eine Verlängerung der Perioden würde nur dann zweckmäßig gewesen sein, wenn ein einmal aufgetretener Reiz in seiner Stärke und Dauer verfolgt werden sollte, sobald er sich aus den täglich vorgenommenen Analysen ergab.

Versuchsordnung.

Dieser Versuch wurde im Stalle des agrikulturchemischen Instituts Breslau mit sechs Ziegen ausgeführt. Es sind mit einer Ausnahme dieselben Tiere, mit denen *Ungerer* vor 2 Jahren arbeitete. Von vier Ziegen wurden in Zwangsställen, die nach dem Muster der landwirtschaftlichen Versuchstation Leipzig-Möckern gebaut sind, Harn und Kot mittels Siebvorrichtung getrennt gewonnen, um den Nährstoffumsatz bestimmen zu können. Der Harn wurde in Glasflaschen, welche mit verdünnter Salzsäure beschickt waren, mit dem Spülwasser zusammen aufgefangen, gut gemischt, gemessen und von jeder Ziege täglich in Parallelbestimmungen auf Stickstoff nach *Kjeldahl* untersucht. Der gesamte Kot jeder Ziege wurde täglich gewogen, mit den Händen gut zerrieben, gemischt und davon der 40. Teil bei 70° C 48 Stunden lang unter Zusatz von 2,5proz. Oxalsäurelösung getrocknet, am Ende der Perioden fein gemahlen und analysiert. Die Milch wurde täglich (die Morgen- und Abendmilch getrennt) auf den Fettgehalt nach der Methode *Gerber* und auf den Trockensubstanzgehalt (im Glycerin-Wasser-trockenschrank bei 102° C 4 Stunden lang) untersucht. Aliquote Teile der einzelnen Gemelke wurden unter Zusatz von Chloroform die Periode über aufbewahrt und dann auf Stickstoff untersucht. Das Futter war in genügender Menge gleicher Beschaffenheit gut gemischt vorrätig, wovon das Heu über mehrere Perioden, die anderen Futtermittel täglich zugewogen wurden. Das Glykokoll wurde, aufgelöst über das Heu gegossen, in den vorher gesäuberten Tränkeeimer gegeben, so daß Reste desselben mit der Tränke aufgenommen werden mußten. 15 g Chlornatrium und 5 g Dicalciumphosphat wurden in allen Perioden gleichmäßig je Kopf und Tag verabreicht. Es sei an dieser Stelle vorausgeschickt, daß Reste von Tränke oder Heu nicht übrigblieben, außer etwas Moos, welches die Ziegen von letzterem zurückließen. Auch die Haare, welche alle Tage gesammelt worden waren, lohnten eine Analyse nicht, zudem konnten Unterschiede in den einzelnen Perioden nicht festgestellt werden. Das mit Glykokoll begossene Heu — die Ration wurde früh und abends je zur Hälfte gereicht, 31,5 g Glykokoll in 150 ccm Wasser aufgelöst darüber gegossen — nahmen die Ziegen, doch stets immer wieder zuerst mit einigem Widerwillen, an.

Wie die folgende Versuchsübersicht zeigt, reihen sich, umschlossen von zwei Grundfutterperioden, aneinander: eine Ersatzperiode, in welcher 150 g Trockenhefe durch 63 g Glykokoll und 170 g Roggenmehl (zum Ausgleich des Stärkewerts) ersetzt wurde. In der folgenden, also der zweiten Ersatzperiode wurden statt 170 g Roggenmehl 340 g gereicht, da angenommen wird, daß die Pansen- und Darmbakterien nur bei einer genügenden Menge von Kohlehydraten Eiweiß bilden können und auch zu einer Bildung von Amidozucker (nach *Lüthje*) Kohlehydrate ausreichend vorhanden sein sollen. Auch bestand die Absicht, eine etwa mögliche Steigerung eines

dieser Eiweißbildungsprozesse durch Erhöhung der Kohlehydratgabe festzustellen. In der nun folgenden vierten Periode, der Zulageperiode, wurden dem Grundfutter 63 g Glykokoll und 170 g Roggenmehl zugelegt, um das Glykokoll auf seine volle Leistungsfähigkeit hin zu prüfen. Das zugelegte Roggenmehl sollte den Fütterungswechsel abschwächen und einen Vergleich mit der anschließenden fünften Periode ermöglichen. In dieser wurden neben dem Grundfutter nur 170 g Roggenmehl gereicht, um die Größe einer möglichen Stickstoffretention oder einer eventuell auftretenden Nachwirkung des Glykokolls bestimmen zu können. Es dauerten:

- I. Grundfutterperiode vom 21. bis 29. Juli = 8 Tage
- II. 1. Ersatzperiode Ersatz von 150 g Trockenhefe durch 63 g Glykokoll und 170 g Roggenmehl, vom 29. Juli bis 17. August = 19 ..
- III. 2. Ersatzperiode, weitere Zulage von 170 g Roggenmehl hierzu, vom 17. bis 25. August . = 7 ..
- IV. Zulageperiode, Grundfutter, also ohne Abzug, mit Zulage von 63 g Glykokoll und 170 g Roggenmehl, vom 25. August bis 10. September . . = 16 ..
- V. Grundfutterperiode + Roggenmehl, Grundfutter ohne Abzug mit 170 g Roggenmehl, vom 10. bis 21. September = 11 ..
- VI. Grundfutterperiode, vom 21. bis 29. September = 8 ..

Die erste Grundfutterperiode erstreckte sich in Wirklichkeit über mehrere Wochen. Krankheitshalber konnte indessen der erste Versuchsleiter nicht allen notwendigen Analysen nachkommen; und ich halte es für gewissenhafter, den Versuch erst hier beginnen zu lassen, nachdem ich mich gut eingearbeitet hatte. Dieser soeben erwähnte Übelstand zog einen zweiten nach sich. Die Heumenge war auf so lange Zeit nicht berechnet gewesen, die letzte Grundfutterperiode mußte daher leider stark verkürzt werden. Aus demselben Grunde wurden Ziege 5 und 6 vorzeitig aus dem Versuche ausgeschaltet und noch zu einem kleinen Tastversuch herangezogen, jedoch ohne Berücksichtigung der Stoffwechselprodukte. Es hatte sich nämlich während des Versuchs gezeigt, daß Glykokoll und Roggenmehl sowohl Milch- als auch Fettmenge und die übrigen Milchbestandteile erheblich über die Erträge der Anfangsperiode hinaus steigerten.

Um in dem Tastversuch festzustellen, welcher Anteil an dieser Steigerung der Milchmenge und ihrer Bestandteile dem Glykokoll zugeschrieben werden muß und ob dies die Fähigkeit, eine Verdauungsdepression aufzuheben, besitzt, wurde in der nun folgenden Zeit die Ration nochmals um 170 g Roggenmehl gesteigert, so daß also neben der Futtermischung der ersten Ersatzperiode noch 340 g oder im ganzen 170 + 340 = 510 g Roggenmehl zur Verfütterung gelangten. In der dann folgenden Periode wurde in der Futtermischung nur das Glykokoll fortgelassen. In den ersten drei Perioden war also der Fütterungsversuch bei allen sechs Ziegen ein gleicher, von der vierten Periode ab ist der Gang der Perioden für die Ziegen 5 und 6 folgender:

- IV. Weitere Ersatzperiode (Ersatz von 150 g Trockenhefe durch 63 g Glykokoll + 170 g Roggenmehl) und 340 g Roggenmehlzulage vom 25. August bis 3. September = 9 Tage

V. Obige Ration nur ohne Glykokoll vom 3. bis

13. September. = 10 „

VI. Grundfutterperiode vom 13. bis 22. September = 9 „

Die Übergangstage sind in den Tabellen im Anhang durch Striche von den zur Berechnung herangezogenen Tagen der Perioden getrennt worden.

Versuchsausführung.

In den *Grundfutterperioden* wurden je Ziege und Tag 200 g Trockenhefe, 200 g Weizenkleie, 150 g Leinkuchen als warme Tränke (6 Liter Wasser wurden täglich zugemessen), zur Hälfte des Morgens, zur Hälfte des Abends, vor der Heugabe gereicht.

1000 g Heu wurden früh und abends zu gleichen Teilen gegeben.

Prozentische Zusammensetzung der Futtermittel nach eigener Analyse:

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Trockenhefe	90.88	82.78	7.82	48.87	31.96	16.91	1.8	0.12	31.99	8.10
Weizenkleie	86.00	79.72	2.13	13.34	6.30	7.04	2.5	9.87	54.01	6.28
Leinkuchen	88.63	82.73	4.57	28.58	26.93	1.65	7.0	7.76	39.39	5.90
Roggenmehl	83.67	82.93	1.02	6.38	5.84	0.54	1.4	0.12	75.03	0.74
Heu	91.95	85.13	1.53	9.59	9.18	0.41	3.5	25.63	46.41	6.82

Die Ziegen erhielten mithin in beiden Grundfutterperioden an Nährstoffen in Grammen:

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
200 g Trockenhefe	181.76	169.20	15.64	97.75	63.92	33.82	3.60	0.24	67.61	12.56
200 g Weizenkleie	172.00	159.44	4.27	26.69	12.60	14.09	5.00	19.74	108.01	12.56
150 g Leinkuchen	132.95	120.80	6.86	42.88	40.40	2.48	10.50	11.65	55.77	12.11
1000 g Heu	919.50	851.30	15.35	95.94	91.80	4.14	35.00	256.29	446.07	68.20
20 g Salze	20.00	—	—	—	—	—	—	—	—	20.00
	1426.21	1300.74	42.12	263.26	208.72	54.53	54.10	287.92	695.46	125.47

Die Verdaulichkeit der Nährstoffe wurde an der Hand der *Kellnerschen* Verdauungskoeffizienten angenommen. So ergeben sich in 100 Teilen der einzelnen Futtermittel:

	Verdaulich. Eiweiß	Verdaulich. Fett	Verdauliche stickstoffr. Extraktstoffe	Verdauliche Rohfaser	Wertigkeit des Futter- mittels	Errechneter Stärkewert
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Trockenhefe	27.6	1.2	31.9	—	100	60.3
Weizenkleie	3.5	1.8	38.3	2.6	79	37.7
Leinkuchen	22.9	6.4	30.7	2.5	97	65.6
Heu	5.0	1.8	29.7	15.1	67	38.2

Fütterungsversuch an Milchziegen mit Glykokoll als Eiweißersatz. 161

Mithin enthielten die Grundfütterrationen an verdaulichem Eiweiß 146,5 g und an Stärkewert 676,4 g oder etwa 3,80 kg und 17,59 kg je 1000 kg Lebendgewicht.

In der folgenden *Ersatzperiode* wurden 150 g Trockenhefe durch 63 g Glykokoll mit 18,63 Proz. = 11,74 g Stickstoff und absichtlich etwas mehr, nämlich 170 g Roggenmehl zum Ausgleich des Stärkewertes ersetzt.

Futterzusammensetzung der 1. Ersatzperiode (Periode II).

	Trocken- substanz	Organische Substanz	GesamtN	Rohprotein	Reineiweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
30 g Trockenhefe	45,44	42,30	3,91	24,44	15,98	8,46	0,90	0,05	16,91	3,14
30 g Weizenkleie	172,00	159,44	4,27	26,69	12,60	14,09	5,00	19,74	108,01	12,56
150 g Leinkuchen	132,95	120,80	6,86	42,88	40,40	2,48	10,50	11,65	55,77	12,15
1400 g Heu	919,50	851,30	15,35	95,94	91,80	4,14	35,00	256,29	464,07	68,20
170 g Roggenmehl	142,24	140,98	1,73	10,81	9,93	0,88	2,38	0,19	127,60	1,26
63 g Glykokoll . .	63,00	63,00	11,74	73,38	—	73,38	—	—	—	—
20 g Salze	20,00	—	—	—	—	—	—	—	—	20,00
	1495,13	1377,82	43,86	274,14	170,71	103,43	53,78	287,92	772,36	117,31

2. Ersatzperiode mit einer weiteren Roggenmehlzulage von 170 g (Periode III).

170 g Roggenmehl	1637,37	1518,80	45,60	285,02	180,64	104,38	56,16	288,12	899,88	118,57
------------------	---------	---------	-------	--------	--------	--------	-------	--------	--------	--------

Zulageperiode (Periode IV).

30 g Trockenhefe	181,76	169,20	15,64	97,75	63,92	33,82	3,60	0,24	67,61	12,56
30 g Weizenkleie	172,00	159,44	4,27	26,69	12,60	14,09	5,00	19,74	108,01	12,56
150 g Leinkuchen	132,95	120,80	6,86	42,88	40,40	2,48	10,50	11,65	55,77	12,15
1400 g Heu	919,50	851,30	15,35	95,94	91,80	4,14	35,00	256,29	464,07	68,20
170 g Roggenmehl	142,24	140,98	1,73	10,81	9,93	0,88	2,38	0,19	127,60	1,26
63 g Glykokoll . .	63,00	63,00	11,74	73,38	—	73,38	—	—	—	—
20 g Salze	20,00	—	—	—	—	—	—	—	—	20,00
	1631,45	1504,72	55,59	347,45	218,65	128,79	56,48	288,11	823,06	126,73

Grundfütterperiode mit einer Roggenmehlzulage von 170 g (Periode V).

30 g Trockenhefe	181,76	169,20	15,64	97,75	63,92	33,82	3,60	0,24	67,61	12,56
30 g Weizenkleie	172,00	159,44	4,27	26,69	12,60	14,09	5,00	19,74	108,01	12,56
150 g Lemmehl . .	132,95	120,80	6,86	42,88	40,40	2,48	10,50	11,65	55,77	12,15
1400 g Heu	919,50	851,30	15,35	95,94	91,80	4,14	35,00	256,29	464,07	68,20
170 g Roggenmehl	142,24	140,98	1,73	10,81	9,93	0,88	2,38	0,19	127,60	1,26
20 g Salze	20,00	—	—	—	—	—	—	—	—	20,00
	1568,45	1441,72	43,86	274,07	218,65	55,41	56,48	288,11	823,06	126,73

Wirkung auf den Stoffwechsel.

In allen Perioden war der gesundheitliche Zustand und die Freßlust der Ziegen sehr gut, letztere war am regsten in der zweiten Periode; am ruhigsten waren die Tiere in der vierten und fünften Periode. Dieses gleichmäßige Verhalten geht aus nachstehender Berechnung der Verdauungskoeffizienten recht gut hervor.

An frischem Kot lieferten die Ziegen im Mittel der einzelnen Perioden:

	Ziege 1 g	Ziege 2 g	Ziege 3 g	Ziege 4 g	Periode
Grundfutterperiode	1033,8	1017,7	1351,8	1122,4	I
1. Ersatzperiode	939,9	990,0	1064,6	1126,7	II
2. Ersatzperiode	1110,3	979,4	1124,0	1255,6	III
Zulageperiode	1189,8	1110,7	1431,3	1197,6	IV
Grundfutterperiode mit Mehlzulage	1266,1	1076,4	1513,0	1079,3	V
Grundfutterperiode	1223,8	1000,6	1368,0	1049,4	VI

Der prozentuale Gehalt des Kotes an Trockensubstanz:

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
Periode I	43,9	46,9	36,0	38,6
" II	46,8	48,2	42,5	40,9
" III	44,1	49,5	42,7	39,0
" IV	40,7	45,9	36,2	40,4
" V	37,4	46,0	34,4	41,3
" VI	36,8	49,1	36,5	40,0

In den Ersatzperioden ist eine Steigerung des prozentualen Trockensubstanzgehalts des Kotes bei allen Tieren deutlich wahrzunehmen, worauf *Ungerer* in seiner Arbeit bereits hinwies; jedoch mag diese Steigerung durch die Eiweißzulage wieder aufgehoben worden sein. Dieser Ansicht scheinen die hohen Zahlen für den prozentischen Trockensubstanzgehalt des Kotes in der sechsten Periode bei Ziege 2 und 4 zu widersprechen. Es sollte nur an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß eine Zunahme des prozentischen Trockensubstanzgehalts des Kotes nicht durchaus allein dem verfütterten Amid zugeschrieben werden muß (es wäre hier an die Folgeerscheinung von Diurese oder überhaupt einer stärkeren Konzentration des Blutes an Salzen zu denken), sondern daß man mit größter Wahrscheinlichkeit wohl neben der Konzentration des Blutes die Menge des Nahrungseiweißes als bestimmenden Faktor für die Höhe des prozentischen Trockensubstanzgehalts des Kotes ansehen muß, es würde dies auf seine Eigenschaft als Kolloid und damit auf seine Wasserbindung zurückzuführen sein.

Auf absolute Trockensubstanz umgerechnet, ergeben sich mithin folgende Kotmengen in Grammen:

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
Periode I	453,9	477,5	468,8	433,7
" II	440,5	477,8	452,4	461,2
" III	489,8	485,7	480,3	489,7
" IV	484,3	510,2	519,4	484,2
" V	474,0	495,3	521,2	446,2
" VI	451,2	491,9	500,3	451,5

Von einer Berechnung der Stoffwechselprodukte sahen wir ab, da eine Vermehrung derselben durch Glykokoll nach *Ungerer* nicht stattfand und auch die Reineiweiß- und Amidmengen des Kotes in den einzelnen

Perioden wesentliche Unterschiede, welche für eine Vermehrung sprechen würden, nicht zeigten, wie aus nachstehenden Tabellen leicht hervorgeht.

Die prozentuale Zusammensetzung des Kotes an den einzelnen Nährstoffen bezogen auf absolute Trockensubstanz findet sich nachstehend.

	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reineiweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extraktstoffe	Asche
Periode I.									
Ziege 1 . . .	87,16	2,11	13,19	11,77	1,42	3,24	25,75	44,99	12,84
- 2 . . .	87,51	2,04	12,76	11,25	1,51	3,86	26,89	44,00	12,49
- 3 . . .	84,81	2,15	13,43	11,93	1,50	3,44	25,48	42,44	15,19
- 4 . . .	88,77	2,07	12,94	11,52	1,42	3,32	26,98	36,60	11,23
Periode II.									
Ziege 1 . . .	87,74	1,95	12,21	11,13	1,08	2,62	26,34	46,56	12,26
- 2 . . .	88,14	2,13	13,32	11,68	1,64	3,10	25,88	45,84	11,86
- 3 . . .	86,69	1,95	12,21	11,31	0,90	2,94	24,91	46,64	13,31
- 4 . . .	89,28	1,98	12,34	11,39	0,95	2,59	27,44	46,90	10,72
Periode III.									
Ziege 1 . . .	88,11	2,10	13,18	12,04	1,14	2,80	24,76	47,36	11,89
- 2 . . .	88,04	2,08	12,98	11,54	1,44	2,71	25,15	47,19	11,96
- 3 . . .	86,40	2,05	12,82	11,61	1,21	2,94	24,05	46,60	13,60
- 4 . . .	89,15	2,14	13,36	11,61	1,75	2,71	25,87	47,21	10,85
Periode IV.									
Ziege 1 . . .	86,44	2,08	12,97	12,24	0,73	3,34	23,66	46,48	13,56
- 2 . . .	87,81	2,13	13,31	12,00	1,31	3,83	24,79	45,88	12,19
- 3 . . .	86,03	1,99	12,48	11,78	0,70	3,86	23,44	46,26	13,97
- 4 . . .	88,92	2,08	13,00	12,32	0,68	3,23	24,81	47,89	11,08
Periode V.									
Ziege 1 . . .	86,34	1,96	12,22	11,33	0,84	3,08	22,64	47,88	13,96
- 2 . . .	87,46	2,05	12,78	11,39	1,39	4,51	24,41	45,76	12,54
- 3 . . .	85,97	2,10	13,13	11,49	1,64	3,07	23,38	46,39	14,03
- 4 . . .	88,12	2,07	12,91	11,61	1,30	3,17	25,17	46,87	11,88
Periode VI.									
Ziege 1 . . .	85,39	1,94	12,11	10,62	1,49	3,38	24,11	45,80	14,61
- 2 . . .	87,53	1,90	11,88	11,12	0,76	3,88	25,05	46,72	12,47
- 3 . . .	85,58	1,97	12,30	10,79	1,51	3,39	23,57	43,14	14,42
- 4 . . .	87,94	1,93	12,07	11,01	1,06	3,58	24,96	44,07	12,06

Aus den vorangehenden Tabellen läßt sich der Nährstoffgehalt des Kotes berechnen. Die Differenz zwischen Nährstoffaufnahme im Futter und Ausscheidung im Kote ist die verdaute Menge an einzelnen Nährstoffen, wenn man die Stoffwechselprodukte nicht berücksichtigt, welche zu der verdauten Nährstoffmenge hinzugezählt werden müßten. Die verdaute Menge bezogen auf 100 Teile der Ration ergibt die Verdauung der Nährstoffe in den einzelnen Perioden.

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode I.

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . . .	1426.21	1300.74	42.12	263.26	208.72	54.53	54.10	287.92	695.46	125.47
Ziege 1.										
Im Kot . . .	453.98	395.71	9.58	59.88	53.42	6.46	14.69	116.88	204.26	58.27
Verdaut . . .	972.23	905.03	32.54	203.38	155.30	48.07	39.41	171.04	491.20	67.20
Verdauungskoeffiz.	67.72	69.58	77.26	77.26	74.40	88.15	72.85	59.40	70.63	44.75
Ziege 2.										
Im Kot . . .	477.56	417.90	9.75	60.94	53.71	7.23	18.44	128.41	210.11	59.66
Verdaut . . .	948.65	882.84	32.37	202.32	155.01	47.30	35.66	159.51	485.35	65.81
Verdauungskoeffiz.	66.04	67.87	76.85	76.85	74.27	86.74	65.91	55.40	69.79	43.43
Ziege 3.										
Im Kot . . .	468.86	397.63	10.08	63.00	55.93	7.07	16.17	119.47	198.99	71.23
Verdaut . . .	957.35	903.11	32.04	200.26	152.79	47.46	37.93	168.45	496.47	54.24
Verdauungskoeffiz.	66.66	69.43	76.07	76.17	73.20	87.03	70.11	58.50	71.39	32.46
Ziege 4.										
Im Kot . . .	433.79	385.09	8.98	56.13	49.99	6.14	14.41	117.05	158.77	48.70
Verdaut . . .	992.42	915.65	33.14	207.13	158.73	48.39	39.69	170.87	536.69	76.77
Verdauungskoeffiz.	69.15	70.39	78.68	78.68	76.05	88.74	73.36	59.35	77.17	53.83

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode II (1. Ersatzperiode).

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . . .	1495.13	1377.82	43.86	274.14	170.71	103.43	53.78	287.92	772.36	117.33
Ziege 1.										
Im Kot . . .	440.57	386.57	8.61	53.81	49.02	4.79	11.56	116.06	205.14	54.00
Verdaut . . .	1054.56	991.25	35.25	220.33	121.69	98.64	42.22	171.86	567.22	63.33
Verdauungskoeffiz.	70.13	71.94	80.37	80.37	71.28	95.37	78.50	59.69	73.44	44.50
Ziege 2.										
Im Kot . . .	477.82	421.16	10.18	63.63	55.81	7.82	14.84	123.64	219.05	56.60
Verdaut . . .	1017.31	956.66	33.68	210.51	114.90	95.61	38.94	164.28	553.31	60.60
Verdauungskoeffiz.	67.60	69.43	76.79	76.79	67.30	92.44	72.40	57.06	71.64	41.70
Ziege 3.										
Im Kot . . .	452.48	392.26	8.84	55.25	51.17	4.08	13.28	112.71	211.02	60.20
Verdaut . . .	1042.65	985.56	35.02	218.89	119.54	99.35	40.50	175.21	561.34	57.00
Verdauungskoeffiz.	69.33	71.53	79.84	79.84	70.00	96.05	75.30	60.85	72.68	38.10
Ziege 4.										
Im Kot . . .	461.29	411.83	9.11	56.94	52.57	4.37	11.96	126.59	216.34	49.40
Verdaut . . .	1033.84	965.99	34.75	217.20	118.14	99.06	41.82	161.33	556.02	67.80
Verdauungskoeffiz.	68.73	70.11	79.23	79.23	69.20	95.77	77.76	56.03	71.99	49.10

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode III (2. Ersatzperiode).

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . .	1637,37	1518,80	45,60	285,02	180,64	104,38	56,16	288,12	899,88	118,57
Ziege 1.										
Im Kot . . .	489,80	431,56	10,33	64,56	58,99	5,57	13,74	121,29	231,97	58,24
Verdaut . . .	1147,57	1087,24	35,27	220,46	121,65	98,81	42,42	166,83	667,91	60,33
Verdaungskoeffiz.	69,72	71,59	77,35	77,35	67,35	94,66	75,53	57,90	74,22	40,92
Ziege 2.										
Im Kot . . .	485,71	427,62	10,09	63,06	56,06	7,00	13,18	122,15	229,23	58,09
Verdaut . . .	1151,66	1091,18	35,51	221,96	124,58	97,38	42,98	165,97	670,65	60,48
Verdaungskoeffiz.	69,97	71,84	77,87	77,87	68,97	93,29	76,53	57,60	74,53	41,07
Ziege 3.										
Im Kot . . .	480,30	414,98	9,85	61,56	55,75	5,81	14,11	115,49	223,82	65,32
Verdaut . . .	1157,07	1103,82	35,75	223,46	124,89	98,57	42,05	172,63	676,06	53,25
Verdaungskoeffiz.	70,30	72,68	78,39	78,39	69,14	94,43	74,88	59,92	75,13	33,73
Ziege 4.										
Im Kot . . .	489,75	436,61	10,47	65,44	56,87	8,57	13,28	126,68	231,21	53,14
Verdaut . . .	1147,62	1082,19	35,13	219,58	123,77	95,81	42,88	161,44	668,67	65,43
Verdaungskoeffiz.	69,72	71,25	77,04	77,04	68,52	91,79	76,35	56,03	74,30	46,09

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode IV (Zulageperiode).

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Rohprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . .	1631,45	1504,72	55,59	347,45	218,65	128,79	56,48	288,11	823,06	126,73
Ziege 1.										
Im Kot . . .	484,36	418,67	10,05	62,81	59,29	3,52	16,17	114,57	225,12	65,69
Verdaut . . .	1147,09	1086,05	45,54	284,64	159,36	125,27	40,31	173,54	597,94	61,04
Verdaungskoeffiz.	69,94	72,18	81,92	81,92	72,88	97,27	71,37	60,23	72,65	38,45
Ziege 2.										
Im Kot . . .	510,24	448,06	10,87	67,94	61,22	6,72	19,55	126,48	234,09	62,18
Verdaut . . .	1121,21	1056,66	44,72	279,51	157,43	122,07	36,93	161,63	588,97	64,55
Verdaungskoeffiz.	68,34	70,22	80,45	80,45	72,00	94,78	65,39	56,10	71,56	41,74
Ziege 3.										
Im Kot . . .	519,40	446,86	10,37	64,81	61,19	3,62	20,04	121,73	240,28	72,54
Verdaut . . .	1112,05	1057,86	45,22	282,64	157,46	125,17	36,44	166,38	582,78	54,19
Verdaungskoeffiz.	67,77	70,30	81,35	81,35	72,01	97,19	64,52	57,75	70,80	32,03
Ziege 4.										
Im Kot . . .	484,29	430,64	10,07	62,94	59,67	3,27	15,63	120,14	231,93	53,65
Verdaut . . .	1147,16	1074,08	45,52	284,51	158,98	125,52	40,85	167,97	591,13	73,08
Verdaungskoeffiz.	69,95	71,38	81,89	81,89	72,70	97,46	72,33	58,30	71,82	49,73

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode V.
(Grundfutterperiode mit einer Roggenmehlzulage von 170 g.)

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Roheprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . . .	1568,45	1441,72	43,85	274,07	218,65	55,41	56,48	288,11	823,06	126,73
Ziege 1.										
Im Kot . . .	474,09	409,34	9,27	57,94	53,94	4,00	14,58	109,83	226,99	64,75
Verdaut . . .	1094,36	1032,38	34,58	216,13	164,71	51,41	41,90	178,28	596,07	61,98
Verdauungskoeffiz.	69,38	71,60	78,86	78,86	75,33	92,78	74,19	61,88	72,42	39,33
Ziege 2.										
Im Kot . . .	495,38	433,26	10,13	63,31	56,41	6,90	22,34	120,92	226,69	62,12
Verdaut . . .	1073,07	1008,46	33,72	210,76	162,24	48,51	34,14	167,19	596,37	64,61
Verdauungskoeffiz.	68,00	69,95	76,89	76,89	74,20	87,55	60,45	58,03	72,46	41,79
Ziege 3.										
Im Kot . . .	521,26	448,14	10,95	68,44	59,90	8,54	15,99	121,89	241,82	73,12
Verdaut . . .	1047,19	993,58	32,90	205,63	158,75	46,87	40,49	166,22	581,24	53,61
Verdauungskoeffiz.	66,34	68,92	75,03	75,03	72,60	84,59	71,69	57,69	70,62	31,49
Ziege 4.										
Im Kot . . .	446,23	393,23	9,22	57,63	51,83	5,80	14,15	112,32	209,13	53,00
Verdaut . . .	1122,22	1048,49	34,63	216,44	166,82	49,61	42,33	175,79	613,93	73,73
Verdauungskoeffiz.	71,18	72,72	78,97	78,97	76,29	89,53	74,95	61,01	74,59	50,34

Die Verdauung der Nährstoffe in Periode VI (Grundfutterperiode).

	Trocken- substanz	Organische Substanz	Gesamt-N	Roheprotein	Reinweiß	Amide	Rohfett	Rohfaser	N-freie Extrakt- stoffe	Asche
Einnahme . . .	1426,21	1300,74	42,12	263,26	208,72	54,53	54,10	287,92	695,46	125,47
Ziege 1.										
Im Kot . . .	451,20	385,30	8,74	54,63	47,90	6,73	15,24	108,78	206,65	65,90
Verdaut . . .	975,01	915,44	33,38	208,63	160,82	47,80	38,86	179,14	488,81	59,57
Verdauungskoeffiz.	67,91	70,38	79,25	79,25	77,05	87,66	71,83	62,22	70,29	37,52
Ziege 2.										
Im Kot . . .	491,95	430,61	9,35	58,44	54,68	3,76	19,10	123,22	229,85	61,34
Verdaut . . .	934,26	870,13	32,77	204,82	154,04	50,77	35,00	164,70	465,61	64,13
Verdauungskoeffiz.	65,02	66,89	77,80	77,80	73,80	93,10	64,69	57,20	66,95	41,84
Ziege 3.										
Im Kot . . .	500,31	428,18	9,85	61,56	53,97	7,59	16,95	117,93	215,85	72,13
Verdaut . . .	925,90	872,56	32,27	201,70	154,75	46,94	37,15	169,99	479,61	53,34
Verdauungskoeffiz.	64,42	67,08	76,61	76,61	74,14	86,08	68,67	59,04	68,96	31,61
Ziege 4.										
Im Kot . . .	451,58	397,12	8,72	54,50	49,70	4,80	16,16	112,71	199,02	54,46
Verdaut . . .	974,63	903,62	33,40	208,76	159,02	49,73	37,94	175,21	496,44	71,01
Verdauungskoeffiz.	67,89	69,47	79,29	79,29	76,19	91,19	70,13	60,85	71,38	48,36

Die Verdauungskoeffizienten zeigen im allgemeinen keine Unterschiede, welche nicht innerhalb der Fehlergrenze lägen. Auffallend hoch ist jedoch der Verdauungskoeffizient für die N-freien Extraktstoffe bei Ziege 4 in der ersten Grundfutterperiode. Die niedrigen Verdauungskoeffizienten für Reineiweiß in den Ersatzperioden sind durch den Fortfall des leicht verdaulichen Hefeeiweißes, die hohen Koeffizienten für Rohprotein durch die leichte Resorbierbarkeit des Glykokolls zu erklären. In den Ersatz- und Zulageperioden stand den Tieren eine größere Energiemenge in Form von Kohlehydraten zur Verfügung, wie auch eine Berechnung der in Wirklichkeit zur Verdauung gelangten Nährstoffmengen je 1000 kg Lebendgewicht hinsichtlich ihres Stärkewertes und Eiweißverhältnisses zeigt.

Verdauliche Nährstoffe.

	Gewicht kg	Rohfett kg	N-freie Extrakt- stoffe kg	Rohfaser kg	Rohprotein kg	Amide kg	Reineiweiß kg	Stärkewert kg	Eiweiß- verhältnis	Nährstoff- verhältnis
Periode I.										
Ziege 1 . . .	42.05	0.94	11.68	4.07	4.84	1.14	3.69	17.48	1 : 4.95	1 : 3.68
- 2 . . .	39.59	0.90	12.26	4.03	5.10	1.19	3.91	17.94	1 : 4.67	1 : 3.58
- 3 . . .	38.69	0.98	12.83	4.35	5.17	1.23	3.95	18.92	1 : 4.90	1 : 3.74
- 4 . . .	36.66	1.08	14.64	4.66	5.65	1.32	4.33	21.38	1 : 5.02	1 : 3.84
Periode II.										
Ziege 1 . . .	41.53	1.02	13.65	4.14	5.30	2.37	2.93	18.91	1 : 6.84	1 : 3.78
- 2 . . .	39.35	0.99	14.06	4.17	5.35	2.43	2.92	19.08	1 : 6.94	1 : 3.82
- 3 . . .	38.62	1.05	14.53	4.54	5.67	2.57	3.09	20.12	1 : 7.05	1 : 3.78
- 4 . . .	37.09	1.13	14.99	4.35	5.86	2.67	3.19	20.49	1 : 7.02	1 : 3.72
Periode III.										
Ziege 1 . . .	42.94	0.99	15.56	3.89	5.13	2.30	2.83	20.54	1 : 7.65	1 : 4.23
- 2 . . .	39.94	1.08	16.79	4.16	5.56	2.44	3.12	22.22	1 : 7.48	1 : 4.19
- 3 . . .	39.59	1.06	17.08	4.36	5.64	2.49	3.15	22.67	1 : 7.55	1 : 4.20
- 4 . . .	37.78	1.14	17.69	4.27	5.81	2.54	3.28	23.29	1 : 7.45	1 : 4.21
Periode IV.										
Ziege 1 . . .	43.16	0.93	13.85	4.02	6.59	2.90	3.69	19.67	1 : 5.40	1 : 3.20
- 2 . . .	40.81	0.90	14.43	3.96	6.85	2.99	3.86	20.10	1 : 5.27	1 : 2.97
- 3 . . .	39.94	0.91	14.59	4.17	7.08	3.13	3.94	20.48	1 : 5.26	1 : 2.94
- 4 . . .	38.89	1.06	15.35	4.36	7.39	3.26	4.13	21.75	1 : 5.34	1 : 2.99
Periode V.										
Ziege 1 . . .	43.80	0.96	13.60	4.07	4.93	1.17	3.76	19.64	1 : 5.26	1 : 4.01
- 2 . . .	41.49	0.82	14.37	4.03	5.08	1.17	3.90	20.06	1 : 5.18	1 : 3.98
- 3 . . .	39.70	1.02	14.64	4.19	5.18	1.18	3.99	20.78	1 : 5.28	1 : 4.07
- 4 . . .	40.11	1.06	15.30	4.38	5.39	1.24	4.16	21.91	1 : 5.30	1 : 4.15
Periode VI.										
Ziege 1 . . .	43.97	0.88	11.12	4.07	4.74	1.09	3.66	16.93	1 : 4.69	1 : 3.62
- 2 . . .	41.83	0.84	11.13	3.94	4.89	1.21	3.68	16.57	1 : 4.60	1 : 3.46
- 3 . . .	39.89	0.83	12.02	4.26	5.06	1.18	3.88	17.21	1 : 4.50	1 : 3.45
- 4 . . .	39.64	0.89	12.53	4.42	5.27	1.25	4.01	18.10	1 : 4.55	1 : 3.46

Wie die voranstehenden Berechnungen zeigen, sind die gegebenen Nährstoffmengen von allen vier Ziegen sehr gleichmäßig verdaut worden, dabei konnte eine besondere Wirkung des Glykokolls auf die Verdauung nicht festgestellt werden. Man muß annehmen, daß das Glykokoll zu 100 Proz. von Magen- und Darmwandungen resorbiert worden ist, da die prozentische Zusammensetzung des Kotes auf eine Bildung von unverdaulichem Bakterieneiweiß nicht schließen läßt.

Über die weitere Verwertung des Glykokolls im tierischen Organismus und seine Wirkung auf den Stickstoffhaushalt sollen die angeführten Stickstoffbilanzen versuchen, Aufschluß zu geben.

Stickstoffbilanz in Grammen je Tag der Periode I.
Grundfutterperiode.

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
N im Futter	42,12	42,12	42,12	42,12
N im Kot	9,58	9,75	10,08	8,98
Verdaut	32,54	32,37	32,04	33,14
Davon im Harn	23,34	24,53	24,29	24,66
" in der Milch	5,96	5,18	6,61	5,29
Summe	29,30	29,71	30,90	29,95
Ansatz	+ 3,24	+ 2,66	+ 1,14	+ 3,19
Periode II. 1. Ersatzperiode.				
N im Futter	43,86	43,86	43,86	43,86
N im Kot	8,61	10,18	8,84	9,11
Verdaut	35,25	33,68	35,02	34,75
Davon im Harn	26,36	24,77	25,24	25,97
" in der Milch	5,66	5,03	5,98	5,32
Summe	32,02	29,80	31,22	31,29
Ansatz	+ 3,23	+ 3,88	+ 3,80	+ 3,46
Periode III. 2. Ersatzperiode.				
N im Futter	45,60	45,60	45,60	45,60
N im Kot	10,33	10,09	9,85	10,47
Verdaut	35,27	35,51	35,75	35,13
Davon im Harn	25,46	24,09	25,53	24,29
" in der Milch	5,35	6,12	6,26	5,94
Summe	30,81	30,21	31,79	30,23
Ansatz	+ 4,46	+ 5,30	+ 3,96	+ 4,90

Stickstoffbilanz in Grammen je Tag der Periode IV.
Zulageperiode.

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
N im Futter	55,59	55,59	55,59	55,59
N im Kot	10,05	10,87	10,37	10,07
Verdaut	45,54	44,72	45,22	45,52
Davon im Harn	36,16	33,77	34,98	33,79
" in der Milch	5,65	6,42	6,57	6,29
Summe	41,81	40,19	41,55	40,08
Ansatz	+ 3,73	+ 4,53	+ 3,67	+ 5,44

Stickstoffbilanz in Grammen je Tag der Periode V.
 Grundfutterperiode mit einer Roggenmehlzulage von 170 g.

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
N im Futter	43,85	43,85	43,85	43,85
N im Kot	9,27	10,13	10,95	9,22
Verdaut	34,58	33,72	32,90	34,63
Davon im Harn	27,37	24,82	24,27	24,75
in der Milch	5,34	5,83	6,62	6,82
Summe	32,71	30,65	30,89	31,57
Ansatz	+ 1,87	+ 3,07	+ 2,01	+ 3,06

Periode VI. Grundfutterperiode.

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
N im Futter	42,12	42,12	42,12	42,12
N im Kot	8,74	9,35	9,85	8,72
Verdaut	33,38	32,77	32,27	33,40
Davon im Harn	26,68	23,77	24,45	25,18
in der Milch	5,01	5,80	5,89	6,04
Summe	31,63	29,57	30,34	31,22
Ansatz	+ 1,75	+ 3,20	+ 1,93	+ 2,18

Die Stickstoffbilanzen sind in allen Perioden positiv. Am größten ist der Ansatz in den Glykokollperioden. Dies würde sehr zugunsten des Glykokolls sprechen, wenn der Ansatz in der ersten Ersatzperiode nicht so gleichmäßig wäre, was vielleicht eher auf eine Stickstoffretention infolge starker Überschwemmung des Blutes mit diesem Stoffe schließen läßt als auf eine Bildung von Amidozucker, denn der größere Ansatz in der zweiten Ersatzperiode bei Roggenmehlzulage muß wohl dem Eiweißgehalt desselben zugeschrieben werden, obwohl freilich der Ansatz in Periode V gegenüber Periode VI, wo der gleiche Unterschied bezüglich des Roggenmehls besteht, nicht in Frage kommt. Auch hat der Stickstoff des Harns bei den Ziegen 1 und 4 in der ersten Ersatzperiode eine recht erhebliche Erhöhung erfahren, was eher für eine schlechte Verwertung des Glykokolls spricht. Daß wir es aber tatsächlich nicht mit einer Verwertung des Glykokolls als Nahrungseiweiß zu tun haben und auch der Ansatz nur durch Stickstoffretention vorzutäuscht wird, geht aus folgender Ausführung hervor. Der Ansatz in der Zulageperiode (Periode IV) ist zwar größer als in der darauffolgenden Periode (Periode V), in welcher das Grundfutter + 170 g Roggenmehl gereicht, also nur das Glykokoll der Ration entzogen wurde. Dies würde zunächst für eine gute Wirkung des Glykokolls sprechen. Es kann jedoch durch folgende Berechnung gezeigt werden, daß die höhere Stickstoffmenge der Zulageperiode (IV) restlos im Harn erscheint.

Von der mehr gereichten Menge N-haltiger Stoffe war, wie folgende Berechnung zeigt, verdaut worden (s. Tabelle S. 165).

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
An N der Fütterung verdaut				
in Periode III g	35,27	35,51	35,75	35,13
in Periode IV g	45,54	44,72	45,22	45,52
Mehr verdaut an N in Periode IV g	10,27	9,21	9,47	10,39

Im Mittel wurden mithin 9,83 g N mehr in der Periode IV verdaut, welche restlos im Harn erscheinen.

Die vorangehenden Berechnungen dürften zugleich beweisen, daß eine Stickstoffausscheidung bei Ziegen durch die Haut, wie sie *Scheuner*¹⁾ für Schafe nach Harnstoffverfütterung festgestellt hat, wohl kaum anzunehmen ist, auch müßte in solchem Falle die ausgeschiedene Menge bei größerer Eiweißgabe auch eine höhere sein. Der Ansatz dagegen, in welchem die N-Ausscheidung durch die Haut enthalten sein muß, ist in der vierten Periode (der Zulageperiode) fast allgemein kleiner als in der dritten Periode.

Durch vorangehende Ausführungen ist gezeigt worden, daß der höheren Stickstoffgabe im Futter der vierten Periode entsprechend eine höhere Stickstoffmenge im Harn ausgeschieden wurde. Es ist nun die Frage, ob der der Eiweiß-N-Menge entsprechende höhere Stickstoffgehalt des Harns allein von der Eiweißgabe herrührt oder ob und in welcher Höhe der ausgeschiedene Glykokollstickstoff daran beteiligt ist. Die weiter unten stehende Berechnung zeigt, daß von den zugefütterten 63 g Glykokoll der Periode IV mit einem Gehalt von 11,74 g N im Mittel 9,37 g N im Harn ausgeschieden wurde. Betrachtet man nun die Harnstickstoffausscheidungskurve im Anhang, welche beim Übergang von der dritten zur vierten Periode (der Zulageperiode) der höheren Eiweißgabe (Hefeeiweiß) entsprechend um 9,83 g steil ansteigt, beim Fortlassen der 11,74 g Glykokollstickstoff jedoch plötzlich um 9,37 g N abfällt; und bedenkt man, daß die Eiweißmenge der Ersatzperioden sogar für höhere Leistungen ausreichte, was durch den Tastversuch bewiesen sein dürfte, so kommt man zu dem Schluß, daß die höhere Eiweißstickstoffgabe restlos, das Glykokoll jedoch bis auf die N-Retentionen, im Harn der Zulageperiode ausgeschieden wird.

Es könnte an dieser Stelle noch die Frage aufgeworfen werden, ob nicht in dieser Periode vielleicht durch das Glykokoll eine bessere Verwertung des Nahrungseiweißes für den Fleischansatz bewirkt worden sei. Ein Vergleich des Ansatzes der fünften Periode mit dem der zweiten Periode, in welchen gleiche N-Mengen zur Verfütterung gelangten und auch sonst die Mengen der einzelnen Futtermittel die gleichen waren (bis auf 150 g Hefeeiweiß, welches in der zweiten Periode durch Glykokoll ersetzt wurde) zeigt jedoch, daß der so gleichmäßig größere Ansatz der zweiten Periode wohl nur auf N-Retention zurückzuführen ist. Wie schnell das Glykokoll durch die Nieren ausgeschieden wird, zeigt die Stickstoffausscheidungskurve im Anhang durch den plötzlichen Abfall nach Fortlassen des Glykokolls. Es handelt sich um den Übergang von Periode IV zu Periode V. Zahlenmäßig erweist sich der Unterschied in der Stickstoffmenge des Harns wie folgt:

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
Harnstickstoffmenge				
der Periode IV g	36,16	33,77	34,98	33,79
der Periode V g	27,37	24,82	24,27	24,75
An Harn-N mehr in Periode IV g	8,79	8,95	10,71	9,04

gegen 11,74 g N in Form von Glykokoll mehr im Futter dieser Periode. Die fehlende dürfte als die vom tierischen Gewebe retinierte Stickstoffmenge aufzufassen sein. Denn ein Vergleich der verdauten N-Menge dieser beiden Perioden zeigt, daß das Glykokoll als zu 100 Proz. resorbiert betrachtet werden kann.

¹⁾ Diese Zeitschr. 133, 137, 1922.

	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
Verdaut an N in Periode IV . g	45,54	44,72	45,22	45,52
in Periode V . . g	34,58	33,72	32,90	34,63
Mehr an N verdaut in Periode IV g	10,96	11,00	12,32	10,89

Im Mittel der vier Ziegen wurden 11,29 g Stickstoff in der Zulageperiode mehr verdaut, oder 96,17 Proz. des zugelegten Glykokolls resorbiert. Es soll noch einmal kurz darauf hingewiesen werden, daß nach der voranziehenden Ausführung es sich lediglich um eine Resorption des Glykokolls durch die Magen- und Darmwandungen handeln kann und wir in den fehlenden Stickstoffmengen voraussichtlich N-Retentionen zu erblicken haben. Auch dürfte die Verwertung des Glykokolls als Brennstoff oder als Baustein für die Zuckerbildung nach *Abderhalden* — Lehrb. d. physiol. Chem., S. 237 — nur von geringer Bedeutung sein, was aus den Lebendgewichten der ersten Ersatzperiode, welche in dieser Periode langsam abfallen und erst nach Zufütterung von Roggenmehl zu steigen beginnen, und aus der niedrigeren Milchmenge der ersten Ersatzperiode bei Ziege 5, worauf an betreffender Stelle noch weiter eingegangen werden soll, hervorgeht.

Wohl in fast allen Arbeiten auf dem Gebiet der Amidfütterung wird aus einer größeren oder geringeren Harnstickstoffausscheidung in den Ersatzperioden auf eine Verwertung gegenüber dem ersetzten Eiweißstickstoff geschlossen und es werden daher für ein Amid verschieden hohe Verwertungszahlen gefunden. Es würden nun höhere Verwertungszahlen der Amide durch N-Retentionen, niedrigere durch Ausschwemmung der N-haltigen Stoffe des Blutes infolge einer zu hohen Amidgabe zu erklären sein, welche so groß werden kann, daß sogar negative Stickstoffbilanzen auftreten, wie sie *Ungerer* in der vierten Periode bei größerer Harnstoffgabe fand. Um nur eine Stelle anzuführen: so sagt *Paasch* in seiner Arbeit: „Die Verwertung des Harnstoffs beträgt durchschnittlich 96,6 Proz., des Ammoniumacetats 98,6 Proz. und des Hornmehl-N 113,1 Proz. der Verwertung des Eiweiß-N. Diese Zahlen lassen verglichen mit denen anderer Arbeiten, zwar sehr hoch, doch lassen die Vergleiche des Durchschnittsgewichts und der durchschnittlichen Milchproduktion der einzelnen Perioden sie trotzdem wohl glaubhaft erscheinen.“ Es zeigt dies recht deutlich, wie irreführend doch eigentlich die übliche Bezeichnung „Nährstoffverwertung“ sein kann, welche doch streng genommen nur sehr schwer im Respirationsapparat verbunden mit einem Tierkalorimeter festzustellen ist. *Ungerer* spricht z. B. bei der Berechnung der Verdaulichkeit und der Verdauungskoeffizienten ebenfalls von einer Verwertung der Nährstoffe. *Morgen*¹⁾ z. B. von einer Verwertung der nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen, *Kellner* dagegen nur von einer *Verwertung der Verdauung*. Durch den Kastenversuch kann doch wohl nur die Verdauung ziemlich sicher festgestellt werden und über die bessere oder schlechtere Verwertung geben nur der Ansatz (und dieser auch nicht sicher, wie aus dieser Arbeit hervorgeht), eine Zu- oder Abnahme des Lebendgewichts und die Milchleistung einen Aufschluß. Letztere ist freilich ein besonders empfindlicher Anzeiger, zumal bei langdauernden Versuchen. Wir sprechen, um Irrtümer zu vermeiden, in dieser Arbeit nur von einer Verdauung von Nährstoffen oder einer Resorption des Glykokolls und verstehen unter „Verwertung“ den Fleisch- oder Fettansatz, aus-

¹⁾ Landw. Versuchsst. 68, 333; 71, 1ff.

gedrückt in der Lebendgewichtszunahme, welche sich nur schwer im Kastenversuch in ihre Komponenten gliedern läßt, Haar und Wollebildung (wozu noch Hörner und Klauen kommen würden) und Milchbildung. Es würde hierunter auch die Arbeitsleistung zu zählen sein. Im engeren Sinne werden die Nährstoffe verwertet zur Unterhaltung der lebensnotwendigen Vorgänge (Kau- und Darmarbeit, Herztätigkeit usw.), wozu außer der Milch alle Sekrete zu rechnen sind, so z. B. der Darmsaft, welcher immer zum größten Teile wieder aufgenommen wird.

An dieser Stelle dürfte eine Mitteilung der mittleren Gewichte der Ziegen in den einzelnen Perioden Beachtung verdienen. Die nachstehenden mittleren Lebendgewichte für die einzelnen Perioden zeigen eine ständige Gewichtszunahme von der ersten bis zur letzten Periode, außer in der ersten Ersatzperiode, in welcher die Kohlenhydrate wohl stark zur Milchbildung herangezogen wurden und daher Körperfett nicht bilden konnten; die Stickstoffretentionen sind dabei in dieser Periode größer als in der Grundfutterperiode. Einer Verschleierung eines Ansatzes infolge Diurese, welche nur ganz schwach in Erscheinung trat, dürfte widersprechen, daß die Lebendgewichte der Ziegen in der ersten Ersatzperiode erst nach einigen Tagen einen langsamen Abfall zeigen, wie aus den im Anhang verzeichneten täglichen Lebendgewichten klar hervorgeht.

Lebendgewicht in Kilogrammen:

		Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
Lebendgewicht der Periode	I kg	42,05	39,59	38,69	36,66
	II "	41,53	39,35	38,62	37,09
	III "	42,94	39,94	39,59	37,78
	IV "	43,16	40,81	39,94	38,89
	V "	43,80	41,49	39,70	40,11
	VI "	43,97	41,83	39,89	39,64

Wirkung auf den Milchertrag.

Im folgenden soll nun die Wirkung des Glykokolls auf die Milchdrüse und sein Anteil an der Milchbildung untersucht werden. Zum besseren Vergleich sind die Ergebnisse der einzelnen Perioden an Milch-Menge-Trockensubstanz und Fett nach der üblichen Lactationsdepressionsberechnung umgerechnet worden. Die Berechnung zur Anwendung eines solchen Berechnung dürfte infolge der Kürze der letzten Grundfutterperiode fraglich erscheinen. Jedoch zeigen ihre täglichen Ergebnisse genügende Beständigkeit. Auch wird durch ihre Anwendung nur ein kräftigeres Hervortreten des wirklichen Versuchsbildes erzielt und ein rechnerisch einwandfreier Vergleich der einzelnen Zwischenperioden nicht benötigt.

Die Berechnung kann auf zweierlei Weise geschehen: Von der Mitte der ersten bis zur Mitte der letzten Grundfutterperioden wird die tägliche Abnahme der Milch und ihrer Bestandteile berechnet und dieser Wert entweder den in den Zwischenperioden erhaltenen Erträgen zugezählt oder von dem Ertrag der Anfangsperiode in Abzug gebracht. Nach dem ersten Verfahren werden alle Erträge der Zwischenperioden auf die Basis der ersten Grundfutterperioden gestellt. Nach der zweiten Methode erfährt man diejenige Milchmenge, welche bei unveränderter Fütterung in den Ersatzperioden zu erwarten gewesen wäre. Der Vergleich erstreckt sich dann auf den in der Ersatzperiode wirklich gefundenen Wert. Beide Verfahren führen

zu demselben Ergebnis, falls es sich nur um den Vergleich der Ersatzperioden mit der ersten Grundfutterperiode handelt. Ich wandte das erste Verfahren an.

Periode	Milchmenge in g				Fettmenge in g			
	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
I. u. II. Grundfutter	1301,1	1227,4	1633,0	1152,4	36,92	39,39	36,15	32,18
II. Ersatz	1284,6	1285,4	1634,1	1109,7	34,60	41,63	35,68	31,38
III. Ersatz + Mehl	1246,4	1415,8	1705,5	1224,8	35,11	38,91	39,09	30,69
IV. Zulage	1327,4	1380,0	1742,2	1211,9	34,97	42,15	37,68	29,34
V. Grundfutter + Mehl	1304,7	1286,7	1727,7	1247,3	34,72	39,29	37,65	31,10

Periode	Milchtrockensubstanz in g				Proz. Fettgehalt d. Trockensubstanz			
	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
I. und VI. Grundfutter	146,14	138,52	163,50	125,79	25,26	28,44	22,11	25,58
II. Ersatz	140,90	144,77	158,39	121,84	24,56	28,76	22,53	25,76
III. Ersatz + Mehl	139,12	151,22	167,44	131,84	25,24	25,73	23,35	23,28
IV. Zulage	144,18	150,51	169,77	127,00	24,25	28,00	22,19	23,10
V. Grundfutter + Mehl	144,87	143,28	171,78	132,50	23,97	27,42	21,92	23,47

In den folgenden Tabellen sind zur besseren Übersicht die tatsächlichen Werte für die Milchmenge und ihre Bestandteile zusammengestellt worden.

Periode	Milchmenge in g				Fett in Proz.			
	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
I. Grundfutter	1301,1	1227,4	1633,0	1152,4	2,84	3,21	2,21	2,79
II. Ersatz	1190,1	1236,6	1522,4	1130,3	2,90	3,49	2,41	3,10
III. Ersatz + Mehl	1104,6	1342,6	1537,9	1255,8	3,17	3,07	2,64	2,89
IV. Zulage	1112,1	1268,9	1487,8	1258,9	3,14	3,59	2,68	3,00
V. Grundfutter + Mehl	1031,7	1145,8	1405,0	1306,9	3,35	3,81	2,88	3,19
VI. Grundfutter	970,4	1056,5	1241,8	1224,7	3,79	4,23	3,18	3,69

Periode	Fettmenge in g				Milchtrockensubstanz in g			
	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
I. Grundfutter	36,92	39,39	36,15	32,18	146,14	138,52	163,50	125,79
II. Ersatz	34,56	43,15	36,65	35,08	132,95	143,30	151,33	127,29
III. Ersatz + Mehl	35,05	41,19	40,55	36,25	127,19	149,02	156,84	140,01
IV. Zulage	34,88	45,62	39,89	37,79	126,06	147,17	153,67	139,41
V. Grundfutter + Mehl	34,61	43,68	40,45	41,81	121,89	139,04	151,36	148,24
VI. Grundfutter	36,78	44,72	39,55	45,16	118,27	133,37	138,76	144,87

Periode	Proz. Fettgehalt d. Trockensubstanz				N-Gehalt der Milch in g			
	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4	Ziege 1	Ziege 2	Ziege 3	Ziege 4
I. Grundfutter	25,26	28,44	22,11	25,58	5,96	5,18	6,61	5,29
II. Ersatz	25,99	30,11	24,22	27,56	5,66	5,03	5,98	5,32
III. Ersatz + Mehl	27,56	27,64	25,85	25,89	5,35	6,12	6,26	5,94
IV. Zulage	27,67	30,99	25,96	27,10	5,65	6,42	6,57	6,29
V. Grundfutter + Mehl	28,39	31,42	26,72	28,20	5,34	5,83	6,62	6,82
VI. Grundfutter	31,09	33,53	28,50	31,17	5,01	5,80	5,89	6,04

Ein Vergleich der errechneten mit den natürlichen Erträgen ergibt, daß sowohl die Milchmenge als auch ihre Bestandteile zum Teil weit über den Ertrag der Anfangsperiode hinaus gesteigert worden sind oder, wie es bei den Ziegen 1, 2 und 3 der Fall ist, daß die Lactationsdepression aufgehoben wurde. Ziege 4 weicht im Verhalten der Milchtrockensubstanz von den anderen Ziegen ab, diese steigt bei ihr langsam an, ebenfalls ist es auffallend, daß der Milchertrag in der Schlußperiode den der Anfangsperiode übertrifft. Es ist dies eine Abnormität der Lactation, welche *Hittcher*¹⁾ bei seinen Lactationsuntersuchungen an 63 Kühen während mehrerer Jahre in 67 Fällen beobachtete. Die Fettmenge letztgenannter Ziege steigt wie bei Ziege 2 und 3 bis zur letzten Periode an. Eine Erscheinung, welche *Hittcher* auch für die Trockensubstanz, aber erst gegen Ende der Lactation fast allgemein fand, und *Thorndicke*²⁾ auf Grund zahlreicher Untersuchungen an Milchkühen zu einem Schluß kommen ließ, nach welchem, entgegen der deutschen Anschauung, bei normaler Lactation der Fettgehalt vom ersten Monat bis zum letzten hin steigt. Bei Ziege 1 liegen die Werte der Grundfutterperioden gleich hoch, in allen Zwischenperioden dagegen etwas niedriger, was auf eine schlechte Wirkung des Roggenmehls schließen läßt. Gänzlich abweichend verhält sich Ziege 2, was zwar schon aus den hohen Werten für die Fettmengen der zweiten und vierten Periode hervorgeht, aber doch erst durch die dem Anhang beigegefügte Kurve anschaulich und auch zwingend klargestellt wird. Sie steigt bald nach der Verfütterung von Glykokoll in der ersten Ersatzperiode langsam aber stetig an, hält sich mehrere Tage auf annähernd gleicher Höhe und fällt gegen Ende dieser Periode auf ihre frühere Höhe ab, um erst in der Zulageperiode, wohl infolge der höheren Eiweißgabe wieder stärker, jetzt aber schwankender anzusteigen, während die täglichen Ergebnisse für die Milchtrockensubstanz nicht in demselben Maße der Fettkurve folgen. *Morgen* und seine Mitarbeiter berichten, wie schon erwähnt, über eine solche einseitige Reizwirkung auf die Milchdrüse von dem Harnstoff, welche man wohl auch in diesem Falle für das Glykokoll annehmen muß. Daß es sich um eine Reizwirkung handelt, dürfte durch den gleich stetigen Anstieg der Fettkurve bei Eintritt der Brunst bestätigt werden.

Die Ziegen 5 und 6, welche in den ersten drei Perioden dasselbe Futter wie die anderen Ziegen erhielten, nur nicht zu Ausnutzungsversuchen

¹⁾ *Hittcher*, Untersuchung der Milch von 63 Kühen. Landw. Jahrb. 28, 3, 1899.

²⁾ *Thorndicke*, The nature and causes of the variations in the richness in butterfat of milk from the same cow; Guernsey breeders journal 4, 35, 1913.

herangezogen wurden, zeigen sich mit ihnen in guter Übereinstimmung, wie aus den nachstehenden mittleren Erträgen an Milch und ihren Bestandteilen für die betreffenden Perioden zu ersehen ist.

Periode	Milch in g		Fett in g		Trocken- substanz in g		Proz. Fettgehalt der Trocken- substanz		N-Gehalt in g	
	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6
Grundfutter	1530	1145	40,8	22,2	162,2	108,9	25,19	20,39	6,2	4,4
Ersatz	1421	1144	40,9	26,5	155,0	113,5	26,39	23,35	5,7	4,6
+ 170 g										
Mehl	1580	1171	43,3	26,9	169,6	113,6	25,51	23,66	6,6	4,7
Ersatz + 340 g										
Mehl	1673	1142	46,5	28,5	180,3	116,3	25,78	24,53	7,3	4,9
Wie IV., nur ohne Glykokoll	1631	1109	45,9	27,5	177,6	110,7	25,87	24,81	7,3	4,6
Grundfutter	1259	889	45,4	26,1	151,5	94,4	29,97	27,69	5,9	4,0

Nach Ausschaltung der Lactationsdepression ergeben sich folgende Erträge:

Periode	Milch in g		Fett in g		Trocken- substanz in g		Proz. Fettgehalt der Trocken- substanz	
	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6	Ziege 5	Ziege 6
II. Ersatz	1502	1221	39,6	25,3	158,5	118,1	24,9	21,4
III. + 170 g								
Mehl	1701	1287	41,2	25,1	174,7	120,6	23,6	20,8
IV. Ersatz + 340 g								
Mehl	1830	1292	43,9	25,2	186,9	125,4	23,5	20,1
V. Wie IV., nur ohne Glykokoll	1834	1302	42,6	24,5	186,2	122,4	22,9	20,0

Auf die Versuchsergebnisse der Ziege 5, deren Leistungsfähigkeit bereits an anderer Stelle hervorgehoben wurde, muß besonderes Gewicht gelegt werden. So zeigt sie in der ersten Ersatzperiode eine deutliche Gewichtsabnahme von ungefähr 1 kg und eine erhebliche Abnahme der Milchmenge und ihrer Bestandteile außer der Fettmenge, was ein sicherer Beweis für die schlechte Verwertung des Glykokolls gegenüber dem Nahrungserweiß ist. Ziege 6 hingegen zeigt keine Abnahme des Lebendgewichts, der Milchmenge und ihrer Bestandteile, da im Vergleich zu ihrer Leistungsfähigkeit das Futter der ersten Ersatzperiode wohl ausreichend war; auch vermag eine höhere Mehlgabe in den folgenden Ersatzperioden keine Steigerung des Milchertrages, sondern nur eine Aufhebung der Lactationsdepression zu bewirken.

Der *Tastversuch*, welcher für die Ziegen 5 und 6 die Perioden IV und V mit einer Roggenmehlzulage von 340 g umfaßt, beweist, da die Steigerung der Milch und ihrer Bestandteile eine größere war, deutlicher, daß die *Eiweißmenge in den Ersatzperioden für die erzielten Erträge ausreichend war*, da bei allen sechs Ziegen nach Fortfall des Glykokolls ein Abfall in der Milchproduktion, welcher nicht durch die fortschreitende Lactationsdepression erklärt werden könnte, ausbleibt. Die Eiweißmenge betrug

in der ersten Ersatzperiode 170,71 g, in der zweiten Ersatzperiode 180,64 g, in der dritten Ersatzperiode 190,57 g gegenüber 208,72 g der Grundfutterperiode. Eine Nachwirkung ist wohl nicht anzunehmen, da der tierische Organismus bemüht ist, möglichst schnell das resorbierte Glykokoll durch die Nieren wieder auszuscheiden, wofür der Absturz in der Harnstickstoffausscheidungskurve recht deutlich spricht. Es könnte noch behauptet werden, daß durch Aufbau des Glykokolls zu Amidozucker bei Anwesenheit einer großen Menge von Kohlehydraten nach *Lüthje*¹⁾ und weiter zu Eiweiß und infolge Speicherung (Retention) dieser Verbindung die Milch und ihre Bestandteile in der amidfreien Periode auf gleicher Höhe gehalten werden. Eine dabei notwendig auftretende Umstellung des Gewebestoffwechsels müßte sich aber durch ein Schwanken in der Milchausscheidung wohl bemerkbar machen. Dies wiederum dürfte das Ergebnis von *Ungerers* Versuchen bestätigen, daß zumeist die Amide Eiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit nicht zu ersetzen vermögen. *Deutlich geht aus dieser Arbeit hervor, welche große Rolle die Kohlehydrate bei ausreichender Eiweißzeugung für die Milcherzeugung spielen.*

Zusammenfassung.

Zusammenfassend sei nochmals erwähnt, daß das Glykokoll die Verdauung der Nährstoffe nicht beeinflusste und das Nahrungseiweiß in seiner vollen Leistungsfähigkeit nicht zu ersetzen vermochte. Eine Zunahme des prozentualen Tockensubstanzgehalts des Kotes konnte wieder festgestellt werden. Ferner sind deutlich Stickstoffretentionen wahrzunehmen, welche sich nach *Scheunert* durch eine Überschwemmung des Blutes durch dieses Amid erklären lassen, wofür die Stickstoffausscheidungskurve des Harns spricht. Eine Reizwirkung auf die Milchdrüse, welches zu untersuchen die eigentliche Aufgabe dieser Arbeit war, konnte nur in einem Falle bei Ziege 2, und zwar als einseitiger Reiz festgestellt werden. Es ist dieselbe Ziege, welche in dem Versuch vor 2 Jahren die höchsten Fettprocente aufwies. Auch äußerlich unterscheidet sie sich von den anderen Ziegen durch große Lebhaftigkeit. Dann setzte bei ihr die Brunst in der letzten Periode am 27. September ein, welcher Tag durch die höchste Fettmenge im ganzen Versuch gekennzeichnet ist. In Übereinstimmung mit den Befunden von *Kellner*²⁾, *Fleischer*³⁾ und *Ungerer*⁴⁾ erstreckte sich die Fetterhöhung nur auf 2 bis 3 Tage. Die Brunst spielte sicher, wie aus diesen Versuchen hervorgeht, eine untergeordnete Rolle, scheint aber die in gleichem Sinne liegende Wirkung des Glykokolls verstärkt zu haben. *Ungerer* kam in seiner Arbeit bereits zu einem ähnlichen Schluß, welcher durch vorliegende Arbeit erhärtet werden konnte.

1) Pflügers Arch. 113, 547, 1906.

2) *Kellner*, Landw. Jahrb. 10, 876, 1881.

3) *Fleischer*, Journ. f. Landw. 20, 425, 1875.

4) l. c., Tabelle XXI, S. 331.

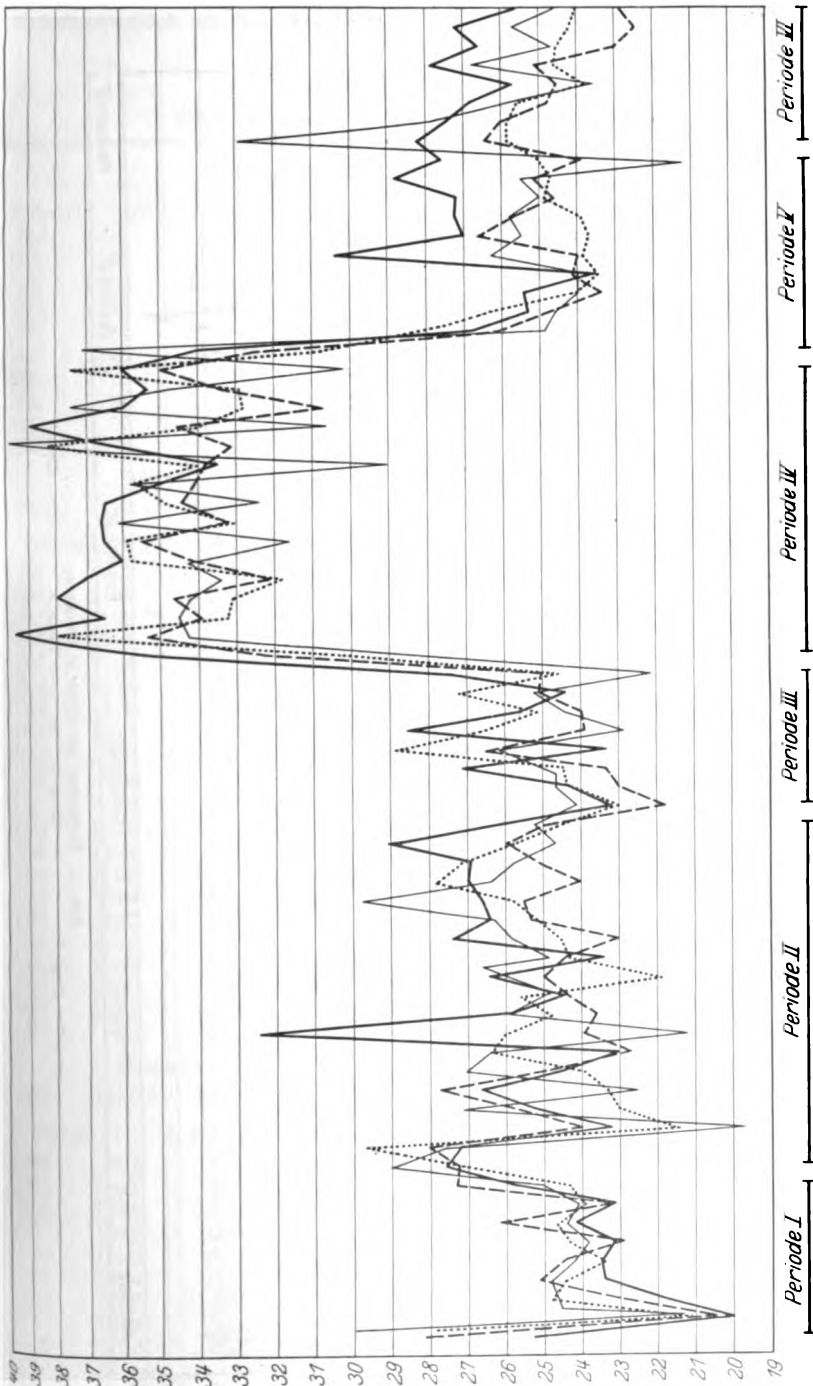


Abb. 1. Stickstoffmenge des Harns in Grammen.
 — Ziege 1. - - - - Ziege 2. Ziege 3. - · - · - Ziege 4.

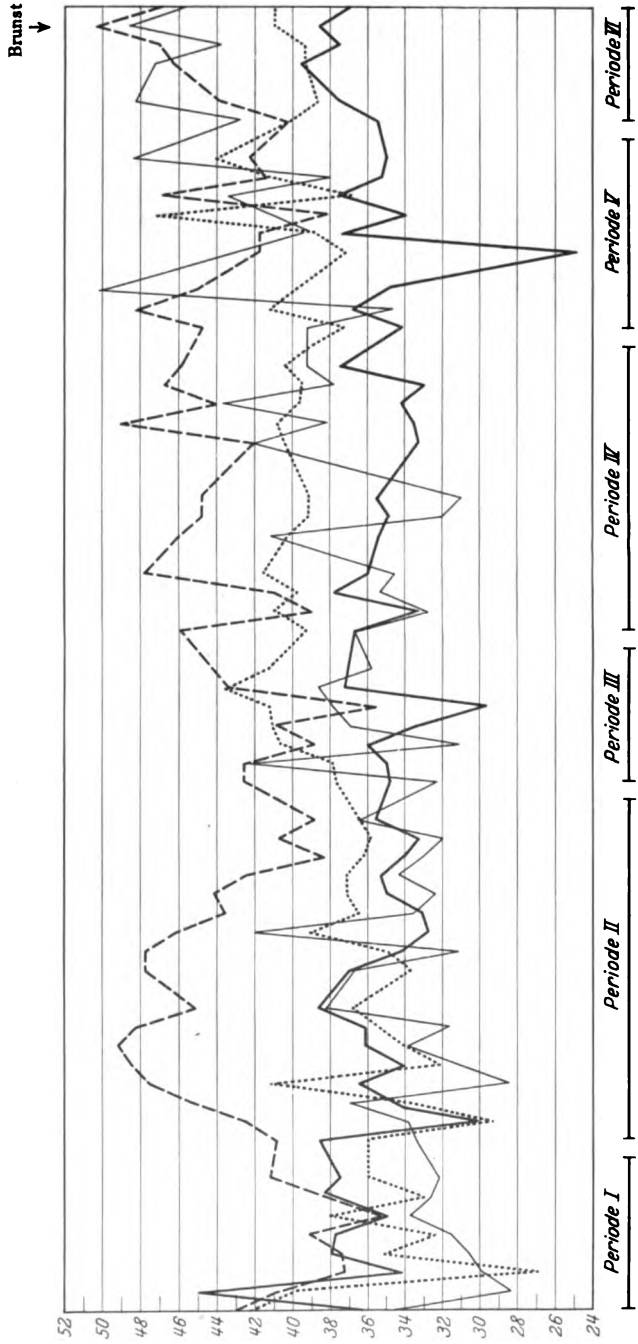


Abb. 2. Fettmenge der Milch in Grammen.
—— Ziege 1. - - - - Ziege 2. Ziege 3. ——— Ziege 4.

Anhang.
Tägliche Milchmenge in Grammen.

1	2	3	4	1	2	3	4
Periode I. Grundfutterperiode.				Periode IV. Zulageperiode.			
567	531	711	409	479	544	643	512
1306	1308	1720	1261	1125	1307	1523	1214
1400	1303	1703	1149	1123	1282	1551	1264
1255	1249	1536	1192	1152	1325	1594	1300
1355	1237	1646	1170	1170	1320	1530	1306
1337	1246	1665	1193	652	772	869	724
1252	1128	1682	1068	518	584	684	563
1282	1160	1580	1068	1104	1343	1530	1241
1251	1203	1600	1165	1103	1295	1459	1275
705	682	854	697	1135	1310	1565	1325
Mittel:				Mittel:			
1301,1	1227,4	1633,0	1152,4	1130	1290	1552	1252
Periode II. 1. Ersatzperiode.				Periode V. Grundfutterperiode + Mehl.			
409	457	884	421	1133	1125	1478	1229
1204	1163	1495	1066	1125	1308	1463	1162
1119	1162	1415	1070	1082	1210	1422	1267
1248	1285	1493	1148	1067	1288	1436	1304
1367	1184	1630	1020	1121	1228	1458	1262
1320	1201	1588	1078	621	707	827	639
1339	1270	1642	1112	Mittel:			
1311	1251	1572	1152	1112,1	1268,9	1487,8	1258,9
1302	1258	1520	1139	Periode VI. Grundfutterperiode.			
729	684	879	622	432	471	564	605
483	490	666	499	985	1071	1260	1291
1243	1234	1521	1151	990	1069	1253	1312
1269	1221	1562	1081	541	599	714	624
1255	1205	1621	1087	437	459	541	527
1340	1216	1381	1107	1004	1067	1245	1211
1172	1267	1529	1134	965	1028	1235	1151
1162	1278	1533	1154	976	1050	1247	1187
1121	1252	1521	1153	940	1049	1219	1128
1157	1300	1567	1162	468	562	613	657
1082	1234	1466	1098	Mittel:			
617	669	857	677	1031,7	1145,8	1405,0	1306,9
Mittel:				Mittel:			
1190,1	1236,6	1522,4	1130,3	Periode VII. Grundfutterperiode.			
Periode III. 2. Ersatzperiode.				432	471	564	605
458	681	575	487	985	1071	1260	1291
1010	1317	1545	1332	990	1069	1253	1312
1109	1342	1613	1334	541	599	714	624
1131	1342	1609	1245	437	459	541	527
1150	1356	1616	1254	1004	1067	1245	1211
1000	1224	1527	1247	965	1028	1235	1151
1189	1463	1430	1210	976	1050	1247	1187
1137	1276	1507	1218	940	1049	1219	1128
653	740	881	719	468	562	613	657
Mittel:				Mittel:			
1104,6	1342,6	1537,9	1255,8	970,4	1056,5	1241,8	1224,7

Fettprocente und Fettmenge der Milch.

Fettprocente				Fettmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
Grundfutterperiode I vom 20. bis 29. Juli 1924.							
2,70	3,20	2,10	3,70	15,30	16,99	14,44	15,13
2,85	3,35	2,45	3,00	36,20	43,12	42,33	34,80
3,20	3,15	2,35	2,50	45,03	40,95	39,94	28,44
2,70	2,95	1,75	2,50	34,16	37,18	26,83	29,93
2,80	3,00	2,10	2,65	37,94	37,40	35,10	30,68
2,85	3,10	1,90	2,65	37,87	39,23	32,40	31,56
2,65	3,10	2,25	3,30	34,96	35,13	38,18	33,94
3,00	3,40	2,05	3,05	38,46	38,00	33,05	32,72
3,00	3,50	2,25	2,95	37,53	41,29	36,10	32,17
2,10	3,70	3,10	2,90	14,80	25,23	26,47	20,21
Mittel:							
2,84	3,21	2,21	2,79	36,92	39,39	36,15	32,18
1. Ersatzperiode vom 29. Juli bis 17. August 1924.							
3,20	3,60	2,30	2,80	13,09	16,45	20,33	11,79
3,20	3,50	2,40	3,10	38,69	40,94	35,90	33,56
2,70	3,65	2,05	3,15	29,95	42,49	29,46	33,99
2,65	3,50	2,25	3,30	34,17	45,40	33,98	37,23
2,60	4,05	2,55	2,80	36,76	47,53	41,28	28,44
2,60	4,10	2,05	2,95	34,14	48,50	32,34	31,49
2,70	3,85	2,05	3,05	36,15	49,17	33,99	34,20
2,75	3,85	2,25	2,75	36,13	48,32	35,57	31,60
3,00	3,60	2,40	3,30	38,73	45,15	36,80	38,34
2,90	3,80	2,20	3,00	21,14	25,99	19,34	18,66
3,20	4,00	2,80	3,90	15,46	19,60	18,65	19,46
3,00	3,90	2,25	3,20	36,96	47,79	33,73	36,83
2,70	3,95	2,25	2,90	34,40	47,80	35,01	30,98
2,65	3,90	2,45	3,95	32,94	46,25	39,27	41,97
2,60	3,65	2,65	2,90	33,18	43,75	36,59	33,55
3,00	3,50	2,45	2,90	35,03	44,05	37,11	32,40
3,05	3,35	2,45	3,00	35,37	42,51	37,15	34,49
3,05	3,10	2,40	2,95	34,10	38,46	36,16	32,93
2,90	3,15	2,30	2,75	33,39	40,85	35,86	31,89
3,20	3,20	2,50	3,45	35,62	38,99	36,45	36,70
3,10	3,20	2,40	2,90	19,13	21,40	20,57	19,63
Mittel:							
2,90	3,49	2,41	3,10	34,56	43,15	36,65	35,08
2. Ersatzperiode vom 17. bis 25. August 1924.							
3,70	2,30	3,10	3,50	16,95	15,66	17,83	17,05
3,45	3,25	2,45	2,50	34,86	42,70	37,70	32,42
3,15	3,20	2,35	3,20	34,99	42,75	37,80	42,40
3,20	2,90	2,55	2,45	36,04	38,92	40,74	31,27
2,90	3,05	2,55	2,90	33,35	40,96	41,28	37,12
2,90	2,90	2,70	3,10	29,71	35,69	41,32	37,93
3,15	2,95	3,15	3,30	37,19	43,39	43,46	38,63
3,30	3,50	2,75	2,90	37,09	44,26	41,34	35,89
3,10	3,40	2,60	2,40	20,24	25,16	22,90	17,26
Mittel:							
3,17	3,07	2,64	2,89	35,05	41,19	40,55	36,25

Zulageperiode vom 25. August bis 10. September 1924.

Fettprozent				Fettmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
3,20	4,00	2,90	2,30	15,33	21,76	18,65	11,78
3,25	3,55	2,58	3,05	36,63	46,09	39,37	36,66
2,95	3,50	2,65	2,55	33,06	39,04	40,99	32,77
3,25	3,15	2,50	2,60	37,79	41,17	39,85	35,42
3,10	3,63	2,70	2,57	36,11	47,80	41,49	34,60
3,00	3,45	2,50	3,00	19,56	26,63	21,73	21,72
3,35	3,45	2,60	2,40	17,35	20,15	17,78	13,51
3,22	3,45	2,65	3,23	35,38	46,03	40,33	41,18
3,15	3,50	2,70	2,50	35,05	44,73	39,16	33,27
3,10	3,43	2,47	2,42	35,59	44,89	39,19	32,17
—	3,60	2,60	2,50	—	23,65	21,11	17,33
—	—	—	—	—	—	—	—
2,95	3,80	2,72	3,47	33,37	42,02	40,46	42,10
3,00	3,78	2,80	3,32	33,48	49,25	40,78	38,22
3,20	3,70	2,80	3,37	34,24	44,34	39,62	43,70
3,10	3,67	2,77	2,92	32,82	46,85	39,47	37,88
3,35	3,77	2,80	3,13	37,35	46,02	40,38	39,28
3,10	3,60	2,50	3,20	19,25	25,45	20,68	20,45
Mittel:							
3,14	3,59	2,68	3,00	34,88	45,62	39,89	37,79

Grundfutter mit Roggenmehlzulage vom 10. bis 21. September 1924.

Fettprozent				Fettmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
3,00	3,90	2,65	3,25	13,29	19,69	16,54	17,29
3,37	3,75	2,60	3,07	34,20	44,84	37,45	39,34
3,45	4,02	2,90	2,65	36,88	48,19	41,32	34,80
3,20	3,92	2,90	3,95	34,80	45,63	40,22	50,77
3,35	3,60	3,00	3,50	20,44	24,16	23,73	24,60
2,80	3,80	2,90	2,60	13,30	18,43	17,84	13,57
2,90	3,85	2,72	3,22	26,09	41,86	37,37	42,76
3,72	3,95	2,77	3,10	37,38	41,94	38,98	39,19
3,32	3,20	3,60	3,07	34,96	38,07	47,28	41,34
3,47	4,05	2,67	2,95	37,73	47,24	36,89	43,62
3,48	4,00	2,90	2,92	35,37	41,89	41,42	38,08
3,52	3,95	3,07	3,45	35,18	42,32	44,02	48,32
3,55	3,40	3,05	3,30	20,24	20,43	23,97	26,63
Mittel:							
3,35	3,81	2,88	3,19	34,61	43,68	40,45	41,81

II. Grundfutterperiode vom 21. bis 29. September 1924.

Fettprozent				Fettmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
3.60	3.90	3.10	2.95	15.55	18.37	17.48	17.85
3.60	3.75	3.20	3.30	35.46	40.26	40.32	42.60
3.80	4.10	3.10	3.69	37.62	43.83	38.98	48.28
3.70	4.17	3.15	3.65	20.02	24.98	22.49	22.78
3.80	4.30	3.10	3.65	16.60	19.74	16.77	19.24
3.92	4.32	3.15	3.90	39.37	46.27	39.32	47.38
3.90	4.60	3.17	3.75	37.51	46.93	39.33	43.81
3.95	4.80	3.27	4.02	38.31	50.40	40.89	48.55
3.95	4.50	3.32	4.05	36.90	46.99	40.85	45.89
3.85	4.35	3.20	4.20	18.02	24.45	19.62	27.59
Mittel:							
3.79	4.23	3.18	3.69	36.78	44.72	39.55	45.16

Trockensubstanzprozent und -menge der Milch.

Grundfutterperiode I vom 20. bis 29. Juli 1924.

Trockensubstanzprozent				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
11.49	11.16	10.08	11.99	65.15	59.26	71.67	49.04
11.21	11.43	10.20	10.99	145.16	148.09	175.23	135.76
11.38	11.09	9.97	10.34	159.53	144.46	169.73	118.50
11.05	11.03	9.67	10.52	138.83	137.53	148.53	125.32
11.29	11.20	9.75	10.67	153.27	138.86	160.73	124.22
11.49	11.37	9.97	10.75	153.60	141.93	166.24	128.07
11.24	11.15	9.84	11.34	141.38	126.28	166.04	119.50
11.50	11.63	9.74	11.43	146.15	132.76	153.63	121.43
11.53	11.67	9.98	10.22	143.93	139.16	159.91	70.21
9.68	11.49	11.62	11.07	68.24	78.36	99.82	77.16
Mittel:							
11.23	11.29	10.01	10.80	146.14	138.52	163.50	125.79

I. Ersatzperiode vom 29. Juli bis 17. August 1924.

Trockensubstanzprozent				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
12.05	12.07	9.84	11.07	49.28	55.16	86.99	46.60
11.02	11.20	9.54	11.05	133.16	130.70	142.73	118.92
10.73	11.22	9.43	10.97	119.35	130.08	133.82	117.52
10.73	11.82	9.65	11.08	134.39	151.01	144.15	126.75
11.55	12.09	10.08	10.37	157.18	143.08	163.92	105.53
11.07	12.47	9.87	11.23	145.77	148.70	156.55	120.58
11.10	12.17	9.83	11.23	148.41	154.41	161.38	125.38
11.26	11.97	9.61	10.47	147.33	149.61	151.13	120.33
11.20	11.29	9.97	11.52	145.33	141.52	152.51	131.91
11.67	11.47	10.02	10.89	85.07	78.45	88.08	67.74

Fütterungsversuch an Milchziegen mit Glykokoll als Eiweißersatz. 183

Fortsetzung der 1. Ersatzperiode vom 29. Juli bis 17. August 1924.

Trockensubstanzprocente				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
11,69	12,32	10,26	12,35	56,46	60,37	68,33	61,63
11,28	11,93	10,10	11,42	140,22	146,45	153,28	131,50
10,99	11,42	9,56	10,89	139,29	140,00	149,25	117,34
10,11	11,26	10,53	11,39	127,52	135,79	169,46	124,02
11,53	12,31	10,06	11,59	154,28	149,67	138,92	130,11
11,13	12,25	9,90	10,98	130,06	153,13	150,95	124,33
11,20	10,77	9,57	10,81	130,25	137,95	146,88	124,65
11,40	11,70	10,16	11,38	127,48	146,48	154,67	131,36
11,17	11,38	9,75	10,97	128,69	147,30	152,59	127,13
11,52	11,28	10,00	11,62	124,81	138,55	145,97	126,50
11,42	11,08	9,68	10,99	70,46	77,38	82,96	74,40

Mittel:

11,17	11,59	9,94	11,26	132,95	143,30	151,33	127,29
-------	-------	------	-------	--------	--------	--------	--------

2. Ersatzperiode vom 17. bis 25. August 1924.

12,05	9,86	11,27	11,92	55,19	67,15	64,80	58,05
11,75	11,35	9,97	11,52	118,69	149,33	153,94	150,93
11,59	11,12	9,78	11,17	128,09	148,30	157,56	148,31
11,58	11,16	10,13	10,83	131,01	149,93	162,82	134,92
11,16	11,16	10,12	11,16	128,09	150,71	163,74	140,30
11,28	11,22	10,28	11,22	113,50	137,29	157,13	139,42
11,40	10,72	10,83	11,55	135,04	157,30	152,15	138,43
11,68	11,62	10,27	11,02	132,25	147,43	154,38	134,37
11,59	11,45	10,01	10,48	75,68	84,73	88,19	75,35

Mittel:

11,51	11,09	10,19	11,15	127,19	149,02	156,84	140,01
-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------

Zulageperiode vom 25. August bis 10. September 1924.

11,81	12,68	10,72	10,69	56,57	68,98	68,93	54,73
11,77	11,63	10,05	11,31	132,04	151,52	152,89	136,46
11,44	11,36	10,40	10,63	128,15	146,13	161,47	133,99
11,34	11,33	10,19	10,81	130,29	149,47	162,25	141,69
11,56	11,93	10,37	10,90	134,79	157,33	158,54	143,09
11,17	11,54	10,16	11,11	72,83	89,09	88,29	80,44
11,49	11,89	10,30	10,44	59,52	69,44	70,45	58,78
11,49	11,52	10,01	11,44	126,16	154,35	152,74	142,10
11,39	11,47	10,22	10,80	125,36	147,74	148,93	138,95
11,02	10,86	9,99	10,36	124,56	141,11	155,95	137,19
—	11,59	10,24	10,64	—	76,15	83,15	73,74
11,15	12,31	10,37	11,42	126,11	136,97	153,45	139,42
11,25	11,77	10,57	11,40	125,95	153,58	154,04	131,72
11,58	11,80	10,56	11,63	124,57	141,87	149,66	148,18
11,45	11,90	10,29	11,00	121,61	151,90	147,32	143,00
11,87	11,91	10,39	11,10	130,30	145,05	150,87	139,65
11,34	11,31	11,29	11,22	70,42	79,96	93,37	71,69

Mittel:

11,34	11,59	10,33	11,07	126,06	147,17	153,67	139,41
-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------

Trockensubstanzprozente				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4

Grundfutter mit Roggenmehlzulage vom 10. bis 21. September 1924.

11,86	12,32	10,60	11,42	52,54	62,22	66,14	60,75
11,88	12,07	10,46	11,19	121,09	144,63	150,74	142,07
11,98	12,40	10,89	10,91	128,17	148,86	154,61	140,03
11,69	12,37	10,76	11,98	127,29	144,00	148,76	152,86
11,40	11,72	10,84	11,67	69,54	78,64	85,74	82,04
11,41	12,22	10,76	11,36	54,19	61,74	65,74	57,73
11,18	12,26	10,59	11,36	101,96	132,78	145,19	150,27
12,36	12,16	10,77	11,37	123,57	130,05	150,48	144,40
12,25	11,55	10,83	11,40	120,20	137,36	148,59	154,10
11,73	12,46	10,85	11,15	127,14	145,32	148,49	165,37
12,03	12,20	10,81	10,84	122,56	127,44	153,35	140,88
12,06	12,28	11,07	11,34	120,21	130,91	158,26	159,09
11,85	11,46	11,26	11,46	67,55	68,87	88,50	92,48

Mittel:

11,91	12,09	10,84	11,25	121,89	139,04	151,36	148,24
-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------

II. Grundfutterperiode vom 21. bis 29. September 1924.

11,92	12,57	10,96	10,69	51,49	59,20	61,81	64,67
11,77	11,98	11,08	11,18	115,94	128,03	139,60	144,14
12,16	12,46	10,84	11,86	120,19	132,63	135,60	155,54
11,94	12,29	10,84	11,49	64,59	73,62	77,39	71,69
12,47	12,62	11,33	11,70	54,49	59,44	63,95	62,82
12,33	12,81	11,38	12,07	123,96	136,62	141,94	146,25
12,33	13,11	11,21	12,02	118,93	134,01	138,10	138,86
12,52	13,25	11,38	12,47	122,04	139,30	142,05	148,45
12,59	13,08	11,55	12,56	118,38	136,38	141,06	141,49
12,37	12,84	11,40	12,80	57,89	72,16	69,88	84,09

Mittel:

12,44	12,99	11,43	12,32	118,27	133,37	138,76	144,87
-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------

Absolute Trockensubstanzprozente und -mengen des frischen Kotes.

Grundfutterperiode vom 21. bis 29. Juli 1924.

42,0	45,3	36,5	34,0	567,1	466,7	535,1	434,6
43,8	46,4	35,4	41,7	441,5	430,3	419,4	362,9
46,1	48,3	35,1	44,1	394,6	573,6	478,0	443,3
42,5	47,4	34,5	40,8	425,9	511,0	550,4	564,3
38,5	49,9	39,2	29,6	406,3	524,3	493,6	344,5
46,0	46,6	35,9	41,5	454,4	480,4	497,0	471,9
46,0	47,5	34,4	42,0	466,0	479,6	482,2	481,3
43,7	45,8	36,4	43,3	433,6	411,4	445,7	460,6
46,9	44,0	36,8	31,8	496,4	420,8	480,3	340,7

Mittel:

43,9	46,9	36,0	38,6	453,9	477,6	486,9	433,8
------	------	------	------	-------	-------	-------	-------

Trockensubstanzprozente				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
1. Ersatzperiode vom 8. bis 17. August 1924.							
44,3	43,4	40,7	41,8	416,6	483,3	424,8	500,7
45,8	47,3	43,1	44,3	424,7	498,2	466,4	458,3
46,3	47,2	41,2	31,6	487,2	443,7	455,7	379,6
47,5	46,0	43,3	42,9	422,8	469,6	488,9	493,0
45,8	49,9	41,9	42,5	464,4	467,7	404,6	470,2
46,1	49,6	42,4	42,3	489,0	505,8	456,9	479,9
48,0	49,8	43,0	32,3	390,7	488,3	442,4	344,9
46,2	49,8	43,3	44,4	392,7	453,2	467,9	478,7
49,5	49,1	41,8	42,8	457,0	483,7	459,2	505,7
49,1	51,1	43,9	44,4	460,6	484,8	458,0	501,9
Mittel:							
46,8	48,2	42,5	40,9	440,6	477,8	452,5	461,3
2. Ersatzperiode vom 18. bis 25. August 1924.							
51,7	51,8	41,2	33,8	428,8	458,0	467,7	424,4
47,6	48,7	43,3	42,6	471,5	505,9	487,9	486,9
46,6	50,0	42,4	41,7	465,7	450,4	490,2	509,5
45,7	50,7	42,9	40,5	511,5	501,4	480,3	543,7
43,5	49,0	43,2	30,5	529,6	539,7	449,0	401,8
40,2	49,1	41,5	40,7	526,1	438,5	463,5	540,2
37,7	50,3	41,0	41,0	497,3	499,9	490,2	511,8
44,1	47,2	46,2	41,5	488,0	491,8	513,8	499,6
Mittel:							
44,1	49,5	42,7	39,0	489,8	485,7	480,3	489,8
Zulageperiode vom 31. August bis 11. September 1924.							
44,8	46,3	36,4	30,8	471,0	510,0	520,0	375,9
42,2	45,9	35,3	42,0	463,1	506,9	493,4	540,0
42,9	44,8	37,0	42,7	485,0	494,7	501,1	519,0
44,8	46,5	37,1	44,2	461,9	498,9	513,5	505,6
42,2	46,4	34,9	32,8	499,1	520,7	521,6	424,9
39,3	47,0	35,5	40,8	455,6	471,0	520,9	501,8
36,9	43,8	35,0	41,7	511,6	510,8	520,9	476,2
37,5	44,6	36,7	44,6	499,9	486,7	496,1	473,9
38,4	46,1	38,1	34,6	490,4	538,7	540,2	420,3
38,4	44,3	37,1	42,0	522,9	544,0	492,6	547,7
40,5	46,6	36,2	43,3	518,4	497,8	559,5	504,0
43,3	48,9	35,8	46,8	433,2	542,5	552,9	522,0
Mittel:							
40,7	45,9	36,2	40,4	484,4	510,2	519,4	484,3
Grundfutterperiode mit einer Roggenmehlzulage vom 15. bis 21. September 1924.							
36,2	46,9	35,2	42,9	424,4	491,4	487,6	472,7
38,2	47,0	36,8	34,2	493,4	510,4	532,9	384,9
39,6	46,5	32,7	45,4	460,9	503,6	521,6	473,9
38,1	46,5	34,0	44,5	485,1	470,8	500,0	503,8
35,8	45,4	33,5	44,5	483,2	498,6	564,7	480,3
36,5	45,1	34,1	32,7	483,6	504,7	550,8	300,9
37,6	44,4	35,0	43,8	487,8	488,3	491,0	507,2
Mittel:							
37,4	46,0	34,4	41,3	474,0	495,4	521,3	446,2

Trockensubstanzprocente				Trockensubstanzmenge in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
II. Grundfutterperiode vom 25. bis 29. September 1924.							
37,6	48,2	35,9	45,2	429,5	502,7	487,0	484,7
36,7	48,4	37,5	33,9	487,5	552,2	493,9	359,2
37,0	46,7	36,8	46,3	476,5	564,8	525,3	461,5
33,6	52,0	37,5	44,1	390,0	350,6	486,3	491,9
39,2	52,0	35,0	45,6	472,7	489,4	509,0	460,7
Mittel:							
36,8	49,1	36,5	43,0	451,2	491,9	500,3	451,6

Gewicht des frischen Kotes und Stickstoffmenge des Harns in Grammen.

Kotmenge in g				N im Harn in g			
1	2	3	4	1	2	3	4
Grundfutterperiode vom 21. bis 29. Juli 1924.							
1348	1029	1463	1275	25,34	28,14	27,86	29,86
1007	927	1182	870	19,94	20,51	21,09	21,32
855	1186	1360	1003	21,83	22,97	24,83	24,45
1000	1076	1595	1380	23,37	25,13	24,39	24,76
1055	1050	1257	1160	23,47	24,48	23,37	24,23
987	1029	1384	1136	23,06	22,89	24,29	23,84
1013	1008	1399	1145	24,20	26,22	24,55	24,37
991	898	1222	1063	23,09	23,11	23,95	24,06
1057	956	1304	1070	25,78	27,34	24,29	25,05
Mittel:							
1033	1017	1351	1122	23,34	24,53	24,29	24,66
1. Ersatzperiode vom 30. Juli bis 17. August 1924.							
1005	988	1275	1150	27,59	27,25	26,93	29,00
900	1143	1257	1057	27,24	27,96	29,55	27,63
892	980	995	1049	23,18	24,04	21,42	19,69
1140	1238	1190	1263	25,21	25,82	23,02	27,08
1077	1000	1322	1130	26,59	27,68	23,25	22,48
1353	1218	1402	1280	24,46	24,76	23,92	26,97
1015	1113	1167	954	23,05	22,66	26,36	26,42
962	1020	1117	1045	32,38	23,93	25,99	21,24
1146	1077	1082	1184	25,94	23,59	24,78	—
940	1113	1043	1197	24,38	24,42	25,58	25,93
927	1053	1082	1033	26,44	25,02	21,91	24,83
1050	938	1104	1200	23,43	24,38	24,32	26,57
889	1020	1128	1147	27,35	23,00	24,52	24,80
1013	936	965	1104	26,41	25,34	26,29	25,76
1059	1018	1077	1134	26,55	25,53	25,76	29,75
813	980	1027	1065	26,97	24,03	27,76	26,43
849	910	1080	1077	26,92	25,09	27,18	25,82
922	984	1098	1180	29,10	25,88	25,65	24,68
937	948	1042	1130	26,07	24,94	24,48	25,15
Mittel:							
939	990	1064	1126	26,36	24,77	25,24	25,97

Kotmenge in g				N im Harn in g			
1	2	3	4	1	2	3	4

2. Ersatzperiode mit einer Roggenmehlzulage vom 18. bis 25. August 1924.

829	883	1135	1252	23,20	21,79	23,04	24,15
989	1038	1125	1141	24,15	23,00	24,43	24,70
999	900	1155	1219	27,09	23,34	24,49	24,64
1119	988	1119	1340	23,30	26,51	28,89	26,24
1217	1100	1037	1317	28,58	23,94	26,52	22,84
1307	893	1115	1327	25,60	23,99	25,13	24,39
1317	993	1195	1247	24,40	25,14	27,18	25,20
1105	1040	1111	1202	27,37	25,02	24,58	22,14

Mittel:

1110	979	1124	1255	25,46	24,09	25,53	24,29
------	-----	------	------	-------	-------	-------	-------

Zulageperiode vom 26. August bis 10. September 1924.

Kotmenge bis 11. September.

1224	1140	1258	1162	35,29	32,20	30,18	31,17
1107	1093	1234	1167	39,46	35,28	37,88	34,21
994	1024	1299	1163	36,54	33,93	33,19	34,48
1050	1076	1394	1312	37,93	34,58	33,14	34,34
1057	1001	1301	1197	37,09	32,08	31,75	33,37
1050	1101	1428	1217	35,99	34,04	35,79	34,18
1097	1103	1394	1285	36,53	35,35	35,87	31,56
1130	1104	1352	1215	36,62	33,16	33,20	36,12
1030	1071	1381	1142	36,54	34,42	34,75	32,42
1182	1121	1494	1292	—	34,06	35,59	35,65
1159	1001	1464	1227	33,52	33,74	34,02	28,95
1383	1164	1484	1140	36,15	33,09	38,22	39,75
1332	1091	1349	1062	38,89	34,52	34,09	30,56
1277	1168	1416	1212	35,98	30,72	32,78	37,50
1360	1228	1326	1302	35,28	33,36	32,93	34,65
1277	1068	1544	1162	36,04	34,99	37,49	30,24
1000	1108	1544	1115	—	—	—	—

Mittel:

1189	1110	1431	1197	36,16	33,77	34,98	33,79
------	------	------	------	-------	-------	-------	-------

Grundfutterperiode mit einer Roggenmehlzulage vom 12. bis 21. September.

—	—	—	—	34,00	32,49	30,80	37,13
1097	1188	1646	1207	26,75	25,96	27,43	24,89
1302	1125	1636	1165	25,32	24,79	26,29	24,60
1195	1130	1404	1184	25,42	23,39	24,06	23,96
1172	1046	1384	1100	23,47	24,14	23,54	24,04
1239	1085	1448	1125	30,35	23,99	24,08	26,25
1164	1081	1594	1042	26,98	26,57	23,71	25,46
1272	1011	1469	1132	27,24	25,65	23,88	25,80
1347	1096	1684	1079	27,18	24,59	24,93	24,96
1322	1118	1611	920	28,78	25,19	24,69	25,52
1297	1098	1401	1157	27,59	23,93	25,02	21,22

Mittel:

1266	1076	1513	1079	27,37	24,82	24,27	24,75
------	------	------	------	-------	-------	-------	-------

Kotmenge in g				N im Harn in g			
1	2	3	4	1	2	3	4

II. Grundfutterperiode vom 22. bis 29. September 1924.

1074	1033	1366	1187	28,20	26,37	25,94	32,93
1139	1045	1346	1054	27,48	25,96	25,88	27,95
1140	1044	1332	1109	26,75	24,79	25,56	25,81
1142	1041	1354	1070	25,65	24,52	23,79	23,58
1325	1140	1316	1057	27,80	25,09	24,56	26,82
1287	1208	1424	995	26,62	22,97	24,54	24,59
1160	673	1294	1115	27,23	22,50	24,20	25,68
1205	941	1452	1010	25,64	22,75	24,03	24,57

Mittel:

1223	1000	1368	1049	26,62	23,77	24,45	25,18
------	------	------	------	-------	-------	-------	-------

Gewicht der Ziegen in Kilogrammen.

1	2	3	4	1	2	3	4
Periode I. Grundfutterperiode vom 21. bis 29. Juli 1924.				Periode II. 1. Ersatzperiode vom 30. Juli bis 16. August 1924.			
41,20	39,35	38,80	37,20	41,08	39,46	38,55	36,62
41,60	39,70	38,90	36,20	41,82	39,54	38,98	37,42
42,70	40,00	38,90	36,00	42,14	39,62	38,72	37,29
42,50	39,60	38,80	37,00	41,14	38,94	38,40	36,87
42,00	39,30	38,65	37,00	Mittel:			
41,90	39,40	38,50	36,20	41,53	39,35	38,62	37,09
42,05	39,60	38,28	36,20	Periode III. 2. Ersatzperiode vom 17. bis 25. August 1924.			
42,50	40,00	38,60	37,00	41,89	39,03	38,74	37,33
42,00	39,40	38,80	37,10	43,01	39,72	39,38	37,73
Mittel:				43,37	40,02	39,82	37,67
42,05	39,59	38,69	36,66	43,22	40,05	40,07	37,68
Periode II. 1. Ersatzperiode vom 30. Juli bis 16. August 1924.				43,06	39,88	39,40	37,63
41,70	39,60	38,40	36,55	42,00	39,80	39,78	37,89
42,75	39,85	39,25	37,45	42,69	39,59	39,69	37,69
42,50	39,70	38,90	37,20	43,39	40,61	39,87	38,30
42,60	39,30	39,30	37,10	43,80	40,75	39,62	38,06
41,90	38,90	38,66	37,14	Mittel:			
41,60	38,40	38,30	36,80	42,94	39,94	39,59	37,78
41,75	38,65	38,45	36,45	Periode IV. Zulageperiode vom 26. August bis 10. September 1924.			
41,60	39,11	38,60	37,10	43,08	40,43	39,33	38,18
41,30	39,20	38,20	37,10	42,34	40,15	39,72	38,04
42,25	39,65	38,85	37,35	43,10	40,30	39,92	38,12
41,52	38,98	38,72	36,90	42,88	41,19	39,96	38,39
40,60	39,16	38,30	36,76	43,03	40,68	40,32	38,50
41,68	39,24	38,38	37,14				
41,58	39,58	38,66	37,46				

Gewicht der Ziegen in Kilogrammen (Fortsetzung.)

Periode IV. Zulageperiode vom 26. August bis 10. September 1924.				Periode V. Grundfutterperiode mit Roggenmehlzulage vom 11. bis 21. September 1924.			
1	2	3	4	1	2	3	4
42,84	40,57	40,00	38,76	43,35	40,96	39,62	39,80
43,14	40,56	40,00	38,76	43,90	41,47	39,84	39,81
43,02	41,06	40,23	38,90	43,97	41,72	39,87	40,38
42,62	40,87	40,14	38,89	44,18	41,86	39,75	41,12
42,59	40,65	39,91	38,73	43,56	41,88	39,88	40,56
43,90	40,47	39,69	38,56	Mittel:			
43,58	41,02	39,53	38,95	43,80	41,49	39,70	40,41
43,15	40,92	39,67	39,17	Periode VI. Grundfutterperiode vom 22. bis 29. September 1924.			
43,03	41,12	39,64	39,19	43,76	42,20	39,68	39,85
43,57	40,76	40,20	38,76	43,73	41,97	40,07	39,71
43,28	40,95	40,38	39,21	44,03	42,09	39,99	39,49
Mittel:				44,56	41,90	39,91	39,74
43,16	40,81	39,94	38,89	43,74	40,96*	39,96	39,17
Periode V. Grundfutterperiode mit Roggenmehlzulage vom 11. bis 21. September 1924.				43,75	39,14	39,46	39,46
43,31	41,16	40,20	39,16	43,82	41,18	39,73	39,84
43,39	41,47	39,04	39,47	43,91	42,17	40,26	40,11
43,80	40,80	39,11	39,50	Mittel:			
44,16	40,79	39,22	39,36	43,97	41,83	39,89	39,64
43,50	41,36	39,57	39,80				
44,14	41,17	39,43	39,31				

*) Die Tage der Brunst wurden von der Berechnung ausgeschlossen.

Erträge an Milchmenge und ihren Bestandteilen der Ziegen 5 und 6.

Tägliche Milchmengen, Fettprocente und -mengen und Trockensubstanzprocente und -mengen der Ziegen 5 und 6.

Ziege 5					Ziege 6				
Milchmenge	Fettprocente	Fettmenge	Trockensubstanzprocente	Trockensubstanzmenge	Milchmenge	Fettprocente	Fettmenge	Trockensubstanzprocente	Trockensubstanzmenge
g		g	procente	g	g		g	procente	g
1. Grundfutterperiode vom 20. bis 29. Juli 1924.									
592	2,90	17,17	10,93	64,70	549	1,90	10,43	9,55	52,43
1570	2,90	43,83	11,04	171,29	1256	2,05	25,49	9,69	121,13
1543	2,80	42,67	10,79	165,31	1157	1,95	22,49	9,83	112,72
1551	2,65	40,67	10,73	166,11	1140	2,00	22,55	9,28	105,22
1557	2,60	39,92	10,56	163,63	1081	1,80	19,34	9,70	104,75
1601	2,50	39,85	10,37	165,81	1142	1,85	21,03	9,24	105,48
1435	2,70	38,44	10,53	150,88	1105	2,00	21,79	9,45	104,13
1403	2,55	35,91	10,42	145,64	1113	2,00	22,26	9,55	106,00
1594	2,70	42,69	10,66	169,10	1105	2,00	21,90	9,64	106,13
921	2,90	26,70	10,60	97,63	655	1,90	12,45	9,42	61,70
Mittel:									
1530	2,67	40,88	10,60	162,23	1144,8	1,94	22,19	9,50	108,85

1. Ersatzperiode vom 29. Juli bis 17. August 1924.

Ziege 5					Ziege 6				
Milch- menge g	Fett- prozente	Fett- menge g	Trocken- substanz- prozente	Trocken- substanz- menge g	Milch- menge g	Fett- prozente	Fett- menge g	Trocken- substanz- prozente	Trocken- substanz- menge g
591	2,90	17,14	11,09	65,54	432	2,40	10,37	10,04	43,37
1348	2,90	38,65	10,66	143,30	949	2,05	19,56	10,00	94,12
1360	2,55	34,28	10,16	137,70	1055	2,20	22,49	9,47	99,08
1432	2,90	41,32	10,86	155,12	1195	2,60	30,93	9,67	115,38
1490	2,75	40,30	—	—	1207	2,40	28,59	—	—
1517	2,75	41,35	10,87	163,85	1152	2,20	24,69	9,97	114,17
1499	2,50	37,70	10,84	162,62	1165	2,40	27,60	10,08	116,69
1468	2,75	40,28	10,88	159,40	1246	2,25	28,00	9,71	120,81
1459	2,85	41,49	10,83	157,55	1222	2,25	27,12	9,82	119,57
842	2,60	21,89	10,28	86,56	642	2,20	14,12	9,66	62,02
591	3,30	19,50	11,49	67,90	538	2,50	13,45	10,42	56,06
1494	2,95	43,42	11,10	164,87	1158	2,40	27,58	9,84	113,59
1464	2,75	39,72	10,65	155,38	1113	2,25	24,74	9,59	106,62
1435	2,85	39,19	10,10	143,10	1019	2,90	27,78	9,68	100,70
1432	3,05	42,39	11,68	166,86	1010	2,15	21,62	10,45	107,22
1410	3,20	44,59	11,23	157,58	1252	2,40	28,85	9,58	117,88
1395	3,10	42,77	10,51	147,57	1280	2,55	32,54	9,66	124,56
1449	2,75	39,49	11,39	165,24	1162	1,95	22,72	9,95	116,07
1407	2,85	40,00	11,06	154,90	1174	2,45	28,08	10,04	116,81
1394	2,85	39,03	10,77	149,38	1126	2,30	15,49	10,45	119,02
741	2,60	19,27	10,48	77,66	605	2,00	12,10	9,25	55,96

Mittel:

1421,2 | 2,88 | 40,94 | 10,90 | 155,04 | 1143,7 | 2,32 | 26,49 | 9,92 | 113,45

2. Ersatzperiode mit einer Roggenmehlzulage v. 170 g v. 17. bis 25. Aug. 1924.

Ziege 5					Ziege 6				
Milch- menge g	Fett- prozente	Fett- menge g	Trocken- substanz- prozente	Trocken- substanz- menge g	Milch- menge g	Fett- prozente	Fett- menge g	Trocken- substanz- prozente	Trocken- substanz- menge g
666	3,10	20,65	11,13	74,13	552	2,50	13,80	9,74	53,76
1600	2,85	45,84	10,72	171,86	1168	2,15	25,01	9,60	111,70
1610	2,95	46,97	10,97	175,65	1220	2,50	29,93	9,67	116,88
1591	2,50	39,55	10,59	168,17	1218	2,30	27,82	9,85	119,50
1535	2,70	42,41	10,78	170,29	1177	2,35	27,45	9,94	116,84
1470	2,75	40,49	10,92	160,69	1117	2,35	26,17	9,86	109,56
1538	2,55	38,60	10,70	163,96	1127	2,10	23,67	9,51	106,88
1597	2,80	44,17	10,55	167,58	1134	2,25	24,92	9,80	109,78
981	2,85	27,47	10,66	104,57	652	2,50	16,30	9,82	64,03

Mittel:

1579,8 | 2,74 | 43,27 | 10,74 | 169,61 | 1170,6 | 2,29 | 26,88 | 9,70 | 113,62

Ziege 5					Ziege 6				
Milchmenge	Fettpro-zente	Fettmenge	Trok-kensub-stanzpro-zente	Trocken-substanzmenge	Milchmenge	Fettpro-zente	Fettmenge	Trok-kensub-stanzpro-zente	Trocken-substanzmenge
g		g		g	g		g		g

3. Ersatzperiode mit einer Roggenmehlzulage von 340 g vom 25. August bis 3. September 1924.

728	3,00	21,84	11,24	81,83	468	2,80	13,10	10,40	48,67
1585	2,75	43,42	10,75	168,87	1139	2,15	24,39	9,46	107,32
1750	2,80	48,39	11,00	192,10	1295	2,65	34,03	10,00	128,74
1670	2,78	45,57	10,57	174,33	1154	2,40	27,42	9,98	114,83
1665	2,93	48,04	11,11	183,54	1142	2,50	28,37	10,25	117,04
1719	2,75	47,03	10,86	186,43	1109	2,57	28,43	10,20	112,94
1529	2,83	42,69	10,80	163,64	1124	2,57	28,19	10,89	123,35
1760	2,80	49,06	10,84	190,25	1055	2,55	26,52	10,32	108,18
1698	2,80	47,54	10,69	180,28	1114	2,65	29,76	10,60	118,95
952	2,60	24,75	10,62	101,10	677	2,45	16,59	9,88	66,89

Mittel:

1672,9	2,78	46,48	10,78	180,26	1141,9	2,49	28,53	10,19	116,32
--------	------	-------	-------	--------	--------	------	-------	-------	--------

4. Ersatzperiode wie die dritte, nur ohne Glykokoll vom 3. bis 13. Sept. 1924.

679	—	—	—	—	469	—	—	—	—
1836	—	—	—	—	1124	—	—	—	—
1582	2,75	42,99	10,88	171,44	1161	2,55	29,26	10,08	116,66
1688	2,75	45,81	10,87	181,89	1133	2,43	27,37	9,66	109,43
1549	2,83	43,38	10,82	167,08	1158	2,52	28,86	10,07	116,29
1721	2,90	48,29	10,98	187,21	999	2,43	23,89	9,79	97,41
1617	2,82	44,88	10,94	175,73	1114	2,42	27,58	9,78	108,70
1626	2,70	43,52	10,82	175,53	1159	2,37	27,36	9,93	114,71
1656	2,90	47,59	10,78	177,89	1070	2,42	25,40	10,20	105,86
1586	3,07	48,52	11,28	178,58	1015	2,73	28,06	10,54	107,21
839	3,05	25,59	11,27	94,56	615	2,55	15,68	10,53	64,76

Mittel:

1631,0	2,82	45,95	10,89	177,63	1108,7	2,48	27,47	9,98	110,70
--------	------	-------	-------	--------	--------	------	-------	------	--------

II. Grundfutterperiode vom 13. bis 22. September 1924.

582	3,15	17,75	11,47	66,76	409	2,85	11,66	10,92	44,66
1387	3,35	45,79	11,72	161,15	777	3,35	25,45	11,59	88,68
1085	3,15	34,38	11,39	123,96	818	2,92	23,96	10,70	87,55
700	3,45	24,15	11,89	83,23	577	2,60	15,00	10,24	59,08
471	3,60	16,96	12,02	56,61	307	3,00	9,21	11,65	35,77
1387	3,47	48,00	11,89	164,67	920	2,55	23,94	10,27	94,42
1289	3,75	48,45	12,05	155,35	968	3,00	28,46	10,47	100,25
1216	3,85	46,88	12,26	148,84	850	3,17	26,88	10,96	92,95
1204	3,45	41,77	12,16	146,61	935	2,97	27,71	10,66	99,67
1278	3,57	45,58	11,97	152,81	893	3,05	26,84	10,67	95,02
709	3,50	24,82	11,85	84,02	458	3,00	13,74	10,48	47,99

Mittel:

1259,0	3,60	45,40	12,03	151,49	888,5	2,94	26,13	10,62	94,35
--------	------	-------	-------	--------	-------	------	-------	-------	-------

Gewichte der Ziegen 5 und 6 in Kilogrammen.

	Periode I		Periode II Übergangszeit		Periode II Fortsetzung		Periode III		Periode IV		Periode V		Periode VI	
	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6
41,50	38,60	40,60	38,40	38,85	38,05	39,24	41,23	39,24	41,36	39,36	40,95	38,44	40,59	39,21
41,20	38,15	41,65	39,35	40,24	39,68	39,45	41,72	39,45	41,36	39,52	41,96	39,51	41,05	39,78
41,00	38,00	40,30	39,30	39,90	38,72	39,25	41,22	39,25	42,95	39,44	40,86	38,63	40,81	39,24
41,00	38,50	42,60	39,90	39,26	39,38	38,01	41,41	38,01	42,06	39,88	41,61	39,62	43,48	39,82
40,30	39,00	42,16	39,32	40,06	38,68	39,42	41,64	39,42	41,32	39,20	41,57	39,46	43,12	40,15
39,60	38,30	40,30	39,30	39,74	37,86	38,13	40,58	38,13	43,06	39,16	41,32	39,53	43,23	40,10
40,75	38,90	40,45	39,25	40,26	38,86	38,84	39,92	38,84	42,60	38,75	41,30	39,64	43,39	39,88
40,70	38,70	39,30	38,50	40,52	38,62	38,73	41,87	38,73	41,84	39,30	41,98	39,95	42,96	39,75
40,60	38,80	38,20	38,20	40,21	38,66	38,85	42,62	38,85	41,78	39,13	42,22	39,87	41,93	38,96
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	41,46	39,97	42,84	40,19
Mittel:														
40,75	38,55	—	—	39,89	38,72	41,36	38,88	42,04	39,30	41,52	39,46	42,99	39,84	—

Stalltemperatur in Grad Celsius, fortlaufend vom 21. Juli bis 29. September 1924, gemessen morgens 8 Uhr.

°C	°C		°C		°C		°C		°C		°C		°C	
	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6	5	6
19	17	16	19	19	17	14	15 ^{1/2}	15	16	16	15 ^{1/2}	15	16	16
20	16	17	19	19	17	15	16	16	13 ^{1/2}	16	13 ^{1/2}	15	16 ^{1/2}	16 ^{1/2}
21	16	17	17	17	16	16	18	14	18	14	17	14	17	17
19	16	18	17	17	15	15	15	15	15	15	15	15	16	16
20	17	18	19	19	15	15	15	13 ^{1/2}	13 ^{1/2}	16 ^{1/2}	16 ^{1/2}	15	15 ^{1/2}	15 ^{1/2}
19	16	16	18	18	15	15 ^{1/2}	13 ^{1/2}	13 ^{1/2}	13 ^{1/2}	15	15	15	13	13
18	16	17	16	16	15	15	15	15	15	17	17	17	11	11
18	16	18	17	17	15	15	15	13 ^{1/2}	13 ^{1/2}	15	15	19	19	19

Sensibilisierende und stabilisierende Wirkung der Haut auf kolloide Lösungen.

Von

A. Janek und Br. Jirgensons.

(Aus dem dispersoidologischen Laboratorium der Universität Riga.)

(Eingegangen am 4. November 1926.)

P. P. von Weimarn und der eine von uns¹⁾ hatten die Beobachtung gemacht, daß die Koagulation kolloider Lösungen durch „Ausschütteln“ mit im Dispersionsmittel praktisch unlöslichen organischen Flüssigkeiten in bestimmten Fällen sehr stark davon abhängig ist, ob das Reagenzglas zugeschmolzen oder beim Schütteln mit reingewaschenem Finger zugedrückt wird; während im ersten Falle ein Eisenhydroxydsol (nach *Debray*) beim Schütteln mit Xylol praktisch nicht koagulierte, sammelte sich im zweiten Falle schon nach einer Minute Schüttelns der gesamte disperse Anteil an der Grenzfläche Xylol—kolloide Lösung an.

Ferner²⁾, unterwirft man ein Eisenhydroxydsol (nach *Debray*), das eine Minute lang mit reingewaschenem Finger gerührt worden war, der Kataphorese, so erweist es sich, daß es positiv geblieben ist und dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit zeigt, wie ein unbehandeltes Eisenhydroxydsol, nur tritt mit der Zeit im Anodenschenkel eine Trübung auf, wogegen ein mit dem Finger unbehandeltes Sol rein bleibt. Es lag die Vermutung nahe, daß beim Rühren, unter dem Einfluß der Haut und ihrer Ausscheidungen, das Sol empfindlicher den Elektrolyten gegenüber wird, und die im Anodenschenkel sich

¹⁾ P. P. von Weimarn und A. Janek, Journ. Russ. Chem. Ges. 48, 1044, 1916. Siehe auch A. Janek, Nachr. des Ural-Berginstituts 1, 45, 1918/19.

²⁾ A. Janek, Nachr. des Ural-Berginstituts 1, 45, 1918/19.

ansammelnden Produkte der Elektrolyse bald einen Konzentrationswert erreichen, der genügt, um das Sol dort zu koagulieren¹⁾.

Diese Beobachtungen veranlaßten, den Einfluß der „lebenden“ Haut mit ihren Ausscheidungen auf die Stabilität verschiedener kolloider Lösungen näher zu untersuchen.

Anordnung der Versuche.

Es wurde der Einfluß einer Lösung untersucht, die folgendermaßen hergestellt wurde: In 30 ccm destillierten Wassers wurden 3 Minuten lang zwei reingewaschene Finger gegeneinander gerieben und die Flüssigkeit filtriert. Diese Lösung — weiter kurz „Hautlösung“ genannt — zeigte einen starken Tyndallkegel, der im Immersionsultramikroskop vollständig in Teilchen aufgelöst war. Die Teilchen waren von verschiedener Größe und befanden sich in starker *Brownscher* Bewegung. Durch mehrfaches Auszählen im Immersionsultramikroskop verschiedener Lösungen, die auf dieselbe Weise hergestellt waren, wurde ein Mittelwert von 3,6 Milliarden Teilchen pro 1 ccm festgestellt. Die Schwankungen sind in der Tabelle I zu sehen.

Tabelle I.

Mittelwerte von 100 Auszählungen.

1,26	Teilchen
0,96	„
1,10	„
1,14	„

In der Regel wurden dann 3,0 (oder 5,0) ccm dieser Lösung in mehrere Reagenzgläser, die 2,5 ccm einer kolloiden Lösung enthielten, gegossen. Eine andere Reihe von Reagenzgläsern enthielt 4,5 (bzw. 2,5) ccm des Koagulators in abgestuften Konzentrationen. Der Koagulator wurde zur kolloiden Lösung gegossen (Gesamtvolumen der Gemische 10 ccm), durch zweimaliges Übergießen aus dem einen Reagenzglas in das andere die Lösungen vermischt, und der Gang der Koagulation dieser Serie mit der Koagulation einer anderen Reihe von Lösungen verglichen, die dieselbe Zusammensetzung hatten, nur daß anstatt der Hautlösung die gleiche Menge Wasser hinzugefügt worden war. Es wurden sowohl positive als auch negative kolloide Lösungen verwendet. Von den positiven waren gewählt zwei Eisenhydroxydsol, von den negativen ein Silbersol und Arsen-trisulfidsol. Jeder Serienversuch wurde mindestens zweimal ausgeführt.

Versuche mit Eisenhydroxydsolen.

Ein Eisenhydroxydsol wurde nach der Methode von *Krecke* bereitet. 750 ccm destilliertes Wasser wurden zum Sieden erhitzt und portionsweise 12 ccm einer 32proz. Eisenchloridlösung hinzugegeben. Das Sol wurde dann dialysiert. Als Koagulator wurde NaCl benutzt (4 n Lösung). Die

¹⁾ Bei dem Kataphoreseversuch waren die Elektroden absichtlich in die kolloide Lösung getaucht.

Versuchsergebnisse sind in den Tabellen II und III angeführt; im ersten Falle enthielten 10 ccm des Gemisches 3,0 ccm der Hautlösung, im zweiten Falle 5,0 ccm. Die Menge des Eisenhydroxydsols war immer 2,5 ccm.

Aus den Tabellen II und III ist zu ersehen, daß das Eisenhydroxydsol von der „Hautlösung“ sensibilisiert wird, wobei je mehr Hautlösung das Gemisch enthält, desto stärker die Sensibilisierung.

Ein anderes Eisenhydroxydsol wurde nach der Methode von *Debray* hergestellt: Eine 1,45proz. Eisenchloridlösung wurde bis 80° erhitzt, und zwar so, daß jede 5 Minuten die Temperatur um 5° stieg. Das Sol wurde ebenfalls dialysiert. Auch dieses Sol wird von der Hautlösung sensibilisiert, wie aus der Tabelle IV zu ersehen ist.

Versuche mit Silbersol und Arsentrisulfidsol.

Das Silbersol wurde hergestellt durch Reduktion einer 0,001 n Silbernitratlösung mit Tannin in Gegenwart von Natriumcarbonat. Das Arsentrisulfidsol — durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine vierfach verdünnte gesättigte Lösung von Arsentrioxyd; der Überschuß von H_2S wurde durch Durchleiten von Wasserstoff entfernt. Als Koagulator wurde $NaCl$ verwendet. Wie aus den Tabellen V, VI und VII zu sehen ist, werden diese kolloiden Lösungen durch die Hautlösung stabilisiert. Besonders stark ist die Stabilisierung bei dem Silbersol.

Die Wirkungsweise der Hautlösung.

Zum tieferen Einblick in die Wirkungsweise der Hautlösung führten vergleichende Versuche mit dem Ultrafiltrat der Hautlösung. Die Hautlösung wurde durch einen *Bechhold-Königschen* Tiegel ultrafiltriert, der auf der unglasierten Seite mit einer Kollodiummembran (aus 4proz. Kollodiumlösung) überzogen war. Die Filtriergeschwindigkeit betrug 13 ccm pro Stunde (Saugvorrichtung). Das Ultrafiltrat war optisch leer und zeigte im Immersionsultramikroskop keine Teilchen¹⁾. Mit jeder der drei kolloiden Lösungen wurden nun vergleichende Koagulationsversuche ausgeführt, indem die Koagulation der einerseits mit dem Ultrafiltrat, andererseits mit der nicht ultrafiltrierten Hautlösung versetzten kolloiden Lösungen mit der Koagulation der reinen kolloiden Lösungen verglichen wurde. Diese Versuche ermöglichten festzustellen, ob in der Hautlösung der kolloide Teil wirksam ist oder (auch) der nichtkolloide molekular-disperside Teil). Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen VIII, IX und X dargestellt.

Aus den Tabellen ist zu ersehen, daß auf das Eisenhydroxydsol (positiv nach *Krecke*) auch das Ultrafiltrat der Hautlösung sensibilisierend wirkt, nur schwächer als die nicht ultrafiltrierte Hautlösung. Es wirken hier somit der kolloide Teil und der disperside Teil der Hautlösung in gleicher Richtung.

Anders beim Silbersol und Arsentrisulfidsol (negativ): Das Ultrafiltrat der Hautlösung wirkt sensibilisierend auf diese Sole, wogegen die nicht ultrafiltrierte Hautlösung stabilisierend. Somit wirkt auch hier der disperside Teil der Hautlösung, aber nur in entgegengesetzter Richtung. Ferner, da die nicht ultrafiltrierte Hautlösung, die ja beide Teile — den

¹⁾ Auch eine Kollargollösung lief farblos durch.

Table II.
2,5 ccm Eisenhydroxydsol (nach *Krecke*).

	3,0 ccm H ₂ O			3,0 ccm „Hautlösung“					
	4 n NaCl	H ₂ O	Mol im Liter	1,5	3,0	0,6	1,5	3,0	0,6
Nach 2 Min.	2,0	1,0	0,5	(+) + +	—	—	+	+	+
„ 30 „	2,5	3,5	4,0	+ + + + +	—	—	+ + + + +	(+) + + + +	—
„ 1 Std.	0,8	0,4	0,2	+ + + + +	—	—	+ + + + +	+ + + + +	—
„ 2 Stdn.	m. Niederschlag	() + + +	—	+ + + + +	fast vollständige Kogulation	—	m. Niederschlag	vollständige Kogulation	—
	fast vollständige Kogulation	m. Niederschlag	() + + +	+ + + + +	—	—	vollständige Kogulation	m. Niederschlag	—

Table III.
2,5 ccm Eisenhydroxydsol (nach *Krecke*).

	5,0 ccm H ₂ O			5,0 ccm „Hautlösung“					
	4 n NaCl	H ₂ O	Mol im Liter	1,0	1,5	0,4	1,0	1,5	0,4
Nach 2 Min.	1,5	0,5	0,3	—	+ + + + +	—	(+) + + +	—	—
„ 30 „	1,0	2,0	2,2	+ + + + +	—	—	+ + + + +	—	—
„ 1 Std.	0,6	0,2	0,12	+ + + + +	—	—	+ + + + +	—	—
„ 2 Stdn.	m. Niederschlag	() + + +	—	+ + + + +	fast vollständige Kogulation	—	+ + + + +	m. Niederschlag	—
„ 24 „	vollständige Kogulation	fast vollständige Kogulation	—	+ + + + +	—	—	vollständige Kogulation	m. Niederschlag	—

Tabelle IV.
2,5 ccm Eisenhydroxydol (nach Dobrag).

	3,0 ccm H ₂ O			3,0 ccm „Hautlösung“		
	1,5	1,0	0,5	1,5	1,0	0,5
4 n NaCl ccm	3,0	3,5	4,0	3,0	3,5	4,0
H ₂ O ccm	0,6	0,4	0,2	0,6	0,4	0,2
Mol im Liter						
Nach 2 Min.	+++	—	—	+++	+++	+++
„ 30 „	+++	—	—	+++	(+)	(+)
„ 1 Std.	+++	—	—	+++	(+)	(+)
„ 2 Stdn.	+++	++	—	m. Niederschlag	(+)	(+)
„ 24 „	vollständige Kogulation	(+)	—	fast vollständige Kogulation	+++	+++

Tabelle V.
2,5 ccm Silbersol a.

	3,0 ccm H ₂ O			3,0 ccm „Hautlösung“		
	2,5	2,0	1,5	2,5	2,0	1,5
0,2 n NaCl ccm	2,0	2,5	3,0	2,0	2,5	3,0
H ₂ O ccm	0,05	0,04	0,03	0,05	0,04	0,03
Mol im Liter						
Nach 2 Min.	+++	—	—	—	—	—
„ 30 „	+++	+++	++	+++	+++	—
„ 5 Stdn.	+++	+++	++	+++	(+)	—
„ 24 „	m. Niederschlag vollständige Kogulation	m. Niederschlag fast vollständige Kogulation	fast vollständige Kogulation	+++	(+)	—

Tabelle VI.
2,5 ccm Silbersol b.

Mol NaCl im Liter des Koagulationsgemisches .	3,0 ccm H ₂ O			3,0 ccm „Hautlösung“		
	0,13	0,09	0,05	0,13	0,09	0,05
Nach 2 Min.	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	—
” 30 ”	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	—
” 2 Stdn.	+++ +	+++ +	+++ +	+++ +	(+) + +	—
” 24 ”	vollständige Koagulation	vollständige Koagulation	vollständige Koagulation	+++ +	(+) + +	—
				etwas Niederschl.		

Tabelle VII.
2,5 ccm Arsentrisulfidisol.

Mol NaCl im Liter des Koagulationsgemisches .	3,0 ccm H ₂ O				3,0 ccm „Hautlösung“			
	3,0	2,5	2,0	0,062	3,0	2,5	2,0	0,050
0,25 n NaCl ccm	3,0	2,5	2,0	0,062	3,0	2,5	2,0	1,5
H ₂ O ccm	1,5	2,0	2,5	0,050	1,5	2,0	2,5	3,0
Mol im Liter	0,075	0,062	0,050	0,037	0,075	0,062	0,050	0,037
Nach 2 Min.	+++ + + +	+++ +	—	—	+++ +	+	—	—
” 30 ”	+++ + + +	+++ + +	+	—	+++ + +	+++ +	—	—
” 1 Std.	+++ + + + +	+++ + + +	+++ +	—	+++ + + +	(+) + + + +	+	—
” 2 Stdn.	vollständige Koagulation	+++ + + + +	+	—	+++ + + + +	+++ + + + +	+++ + + + +	—
	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag	m. Niederschlag

Tabelle VIII.

2,5 ccm Eisenhydroxydsol (nach Krecke).

	4 n NaCl ccm	1,5	1,25	1,0
	H ₂ O ccm	1,0	1,25	1,5
	Mol im Liter	0,6	0,5	0,4
5,0 ccm H ₂ O	Nach 2 Min. . .	++++	—	—
	" 30 " . .	+++++	++	—
	" 1 Std. . .	+++++	+++++	—
	" 2 Stdn. . .	fast vollständige Koagulation	+++++	++
5,0 ccm Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	+++++	+++++	—
	" 30 " . .	+++++	+++++	(+)+++++
	" 1 Std. . .	fast vollständige Koagulation	+++++	+++++
	" 2 Stdn. . .	vollständige Koagulation	fast vollständige Koagulation	fast vollständige Koagulation
5,0 ccm ultra- filtrierte Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	(+)+++++	—	—
	" 30 " . .	+++++	+++++	—
	" 1 Std. . .	+++++	+++++	++
	" 2 Stdn. . .	fast vollständige Koagulation	+++++	+++ m. Niederschlag

Tabelle IX.

2,5 ccm Silbersol.

	0,2 n NaCl ccm	2,0	1,75	1,5
	H ₂ O ccm	0,5	0,75	1,0
	Mol im Liter	0,04	0,035	0,030
5,0 ccm H ₂ O	Nach 2 Min. . .	++	—	—
	" 30 " . .	+++++	+++++	—
	" 2 Stdn. . .	+++++	+++++	++
5,0 ccm Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	—	—	—
	" 30 " . .	++	++	—
	" 2 Stdn. . .	+++	++	—
5,0 ccm ultra- filtrierte Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	++	—	—
	" 30 " . .	+++++	+++++	++
	" 2 Stdn. . .	+++++	+++++	(+)+++++

Tabelle X.

2,5 ccm Arsentrisulfidsol (dialysiert).

	Mol NaCl im Liter . .	0,065	0,050	0,035
5,0 ccm H ₂ O	Nach 2 Min. . .	(+)+++++	++	—
	" 30 " . .	+++++	+++++	++
	" 2 Stdn. . .	+++++	(+)+++++	(+)++
5,0 ccm Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	(+)+++	+	—
	" 30 " . .	(+)+++++	(+)++	+
	" 2 Stdn. . .	+++++	+++	++
5,0 ccm ultra- filtrierte Hautlösung ⁺	" 2 Min. . .	(+)+++++	(+)++	—
	" 30 " . .	+++++	(+)+++++	(+)++
	" 2 Stdn. . .	+++++	+++++	+++

dispersiden und den kolloiden Teil — enthält, stabilisierend auf das Silbersol und das Arsentrisulfidsol wirkt, der disperside Teil allein aber (Ultrafiltrat) sensibilisierend, so läßt sich hieraus der Schluß ziehen, daß die sensibilisierende Wirkung des nichtkolloiden molekulardispersen Teils in der Hautlösung schwächer ist als die stabilisierende Wirkung des kolloiden Teils.

Es wirken somit sowohl der nichtkolloide molekulardisperse Teil der Hautlösung als auch der kolloide Teil auf die untersuchten kolloiden Lösungen von Eisenhydroxyd, Silber und Arsentrisulfid, und zwar wirkt der nichtkolloide molekulardisperse Teil auf alle drei Sole sensibilisierend, wogegen der kolloide Teil nur auf das Eisenhydroxydsol sensibilisierend wirkt, auf das Silbersol und das Arsentrisulfidsol aber stabilisierend.

Untersuchungen über die Kohlensäureernährung des Waldes¹⁾.

Vorläufige Mitteilung.

Von
D. Fehér.

(Aus der ökologischen Station Hallands Väderö in Schweden.)

(Eingegangen am 5. November 1926.)

Wie ich in meinen mit *Vági* gemeinschaftlich durchgeführten und bereits veröffentlichten Untersuchungen²⁾ eingehend besprochen habe, ist es für die praktischen Maßnahmen der Forstwirtschaft von großer Bedeutung, die Regulierung bzw. Erhöhung der Kohlenstoffernährung der Waldbäume in ihrem allseitigen Zusammenhang zu erfassen. Um für die bereits veröffentlichten Resultate eine einheitliche Grundlage schaffen zu können, habe ich mich entschlossen, zunächst den Kohlen säuregehalt der Waldluft, sowie die Kohlensäureproduktion des Waldbodens im Zusammenhang mit den verschiedenen wichtigen klimatischen Faktoren durch längere Zeit und lange Serien von Analysen zu beobachten. Die Insel Hallands-Väderö bot mir zu diesem Behuf eine ganz besonders günstige Gelegenheit, da es mir daselbst möglich war, in einem Zeitraum von knapp 3½ Monaten drei verschiedene Typen von mittelaltrigen Waldbeständen durch längere Perioden systematisch zu beobachten.

Zur Untersuchung gelangten je ein Erlenwald auf sumpfigem Gebiet, ein Buchenwald und ein Kiefernwald.

Es wurden folgende *Faktoren gemessen*: 1. Die Kohlensäureproduktion des Bodens mit Bodenglocken und mit dem volumetrischen Apparat von *Lundegardh*. 2. Der Kohlensäuregehalt der Waldluft in den Höhen von 0,20, 3,00 und 9,00 m, bestimmt mit Glockenapparaten nach *Lundegardh* mittels Titration mit n/10 HCl. 3. Lufttemperatur.

¹⁾ Vorgelegt der III. Abteilung der königlich ungarischen Akademie der Wissenschaften.

²⁾ *Fehér* und *Vági*, Forstliche Versuche (Erdészeti Kísérletek) XXVIII. 1 bis 2. Sopron. 1926.

4. Bodentemperatur. 5. Licht. 6. Barometerdruck. 7. Feuchtigkeit. 8. Acidität des Bodens in den Schichthöhen von 0 bis 0,1, 0,2 bis 0,3, 0,4 bis 0,5 m, bestimmt mit der Methode *Michaelis*.

Die Endresultate der Analysen enthält die nebenstehende Tabelle.

Die wichtigsten Resultate, die ich nun mitteilen möchte, sind die folgenden:

1. Zwischen Bodenatmung und Kohlensäuregehalt besteht, wie es zu erwarten war, ein fester Zusammenhang. Der Kohlensäuregehalt der Waldluft wird durch die jeweilige Bodenatmung bedingt.

2. Der Kohlensäuregehalt der aneinander liegenden Luftschichten ist ebenfalls in ursächlichem Zusammenhang, und zwar derart, daß die Konzentration von unten nach oben ständig abnimmt. Das Diffusionsgefälle war bei den untersuchten Waldtypen annähernd gleichmäßig.

3. Die Bodenatmung und der damit eng zusammenhängende Kohlensäuregehalt der Waldluft wird von der Acidität des Bodens entscheidend beeinflußt. Mit der Erhöhung der Acidität bzw. mit der Erniedrigung der p_H -Werte nimmt die Intensität der Bodenatmung und damit der Kohlensäuregehalt der Waldluft ständig ab.

4. Die beeinflussende Wirkung der Acidität ist aller Wahrscheinlichkeit nach durch die korrelative Wirkung desselben auf das Mikrobenleben des Waldbodens bedingt.

5. Betreffs der Beurteilung der Kohlensäureproduktion des Waldbodens kann daher sehr gut die Acidität als orientierender Indikator benutzt werden.

6. Der Kohlensäuregehalt der Waldluft erreicht trotz der beträchtlichen Bodenatmung auch bei den optimalen Werten derselben, namentlich in den Höhen von 3 und 9 m, nur relativ geringe Werte, so daß der Wert des CO_2 -Faktors sich recht niedrig gestaltet.

7. Ich kann daher nicht umhin, in Übereinstimmung mit meinen früheren Untersuchungen auch jetzt meiner Meinung Ausdruck zu geben, daß die Erhöhung des Kohlensäuregehalts bei Waldböden, die sich in relativ gutem Zustande der Kohlensäureproduktion befinden, mit normalen waldbaulichen Maßnahmen sehr schwer möglich sein wird.

8. Bei stark sauren Waldböden kann jedoch die Besserung des Bodenzustandes auch in der Kohlenstoffernährung des Bestandes günstigere Bedingungen schaffen.

9. Die Besserung des Bodenzustandes und der damit zusammenhängenden Kohlensäureatmung dürfte besonders bei der Anwendung der natürlichen Verjüngungsmethoden in der praktischen Forstwirtschaft, namentlich bei der Kohlenstoffernährung der jungen Bestände, die ja im Genuß der relativ kohlensäurereichen unteren Luftschichten stehen, eine recht wichtige Rolle spielen.

Waldtyp *)	Datenbeziehung	Etwa 20—30 cm über der Bodenoberfläche	3,00 m Höhe	9,00 m Höhe **)	Acidität		Bodenatmung in g pro Std. und qm	Beobachtungsdauer	Anzahl der Analysen		
					Schichtenhöhe	KCl-Auszug			Wasser-auszug	Luft	Boden
Erlenwald (Alnus glutinosa), Alter etwa 50—60 J. Sumpfboden	CO ₂ -Gehalt, mg pro Liter	0,641	0,578	0,537	Bodenoberfläche	4,0—4,1	2,37	1926 7. VII. bis 19. VI.	111	31	
	CO ₂ -Faktor, bezogen auf 0,03 Proz.	+ 10 Proz.	+ 3,3 Proz.	— 3,3 Proz.	20—30 cm	4,3—4,4					
	CO ₂ -Gehalt, mg pro Liter	0,707	0,677	0,627	30—50 "	4,4—4,6					
Kiefernwald (Pinus silvestris), Alter etwa 50—60 J. Sandboden	CO ₂ -Faktor, bezogen auf 0,03 Proz.	+ 26 Proz.	+ 20 Proz.	+ 10 Proz.	Bodenoberfläche	4,2	2,98	28. VIII. bis 11. IX.	75	44	
	CO ₂ -Faktor, bezogen auf 0,03 Proz.	+ 26 Proz.	+ 20 Proz.	+ 10 Proz.	20—30 cm	4,3					
	CO ₂ -Gehalt, mg pro Liter	0,779	0,748	0,669	30—50 "	4,4					
Buchenwald (Fagus sylvatica), Alter 80—90 J. Sandboden	CO ₂ -Faktor, bezogen auf 0,03 Proz.	+ 40 Proz.	+ 33 Proz.	+ 20 Proz.	Bodenoberfläche	5,2	8,7	14. VII. bis 3. VIII.	129	85	
	CO ₂ -Faktor, bezogen auf 0,03 Proz.	+ 40 Proz.	+ 33 Proz.	+ 20 Proz.	20—30 cm	5,2					
	CO ₂ -Gehalt, mg pro Liter	0,779	0,748	0,669	30—50 "	4,8					
									315	170	485

*) Die detaillierte Beschreibung der Waldtypen wird in der ausführlichen Arbeit gegeben.
 **) Das Ende der Bohrung lag ungefähr im Niveau der unteren Hälfte der Baumkronen.

10. Von den klimatischen Faktoren konnte ich ganz besonders den Einfluß von regnerischen Perioden auf die Kohlensäureverhältnisse des Waldes nachweisen. Die Optima der Bodenatmung und des CO_2 -Gehalts fallen gewöhnlich in die Regenperioden.

11. Es konnte auch im großen und ganzen der steigende Einfluß der Lufttemperatur nachgewiesen werden.

12. Die Bodentemperatur ist in der Sommerzeit verhältnismäßig sehr geringen Schwankungen unterworfen und bleibt gewöhnlich ohne unmittelbar nachweisbaren Einfluß.

Die Wirkung der einzelnen klimatischen Faktoren darf doch recht vorsichtig beurteilt werden, weil sie sich auch gegenseitig stark beeinflussen und dadurch die gegenseitige Korrelation äußerst kompliziert gestalten. Bezüglich der weiteren Details verweise ich auf meine demnächst erscheinende ausführliche Arbeit.

Über das Verhältnis zwischen der Katalaseaktivität und der Samenvitalität.

Von

Mihovil Gračanin (Osijek, S. H. S.).

Aus der agrochemischen Abteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation Osijek, Jugoslawien.)

(Eingegangen am 6. November 1926.)

Unsere früheren Untersuchungen (1) haben gezeigt, daß sich die Katalaseaktivität während der Keimung der Samen ändert und die Akkumulation der Katalase in den Organen, die eine erhöhte Lebensfähigkeit aufweisen, lokalisiert ist. Die Annahme, daß eine direkte Korrelation zwischen Organvitalität und Enzymtätigkeit existiert, brachte einige Autoren auf die Idee, die Vitalität der Organismen nach der Katalaseaktivität in ihren Zellen zu bestimmen.

Einige [Crocker und Harington (2)] bestreiten das direkte Verhältnis zwischen Vitalität der Organe und Enzymtätigkeit, andere [Brocq-Boussacru (3), Gain (4), Mac Hargue (5)] haben wieder eine Beziehung zwischen den beiden bewiesen. A. Němec und F. Duchoň (6) haben eine Verringerung der Enzymtätigkeit bei steigendem Alter der Samen festgestellt und fanden weiter, daß mit dem Verlust der Samenvitalität auch die Katalaseaktivität ganz schwindet; auf dieser Erfahrung basierend, sind sie zu der Idee gekommen, die Keimfähigkeit der Samen nach der Intensität ihrer Katalasetätigkeit zu bestimmen. Vilmorin und Cazaubon (7) haben die Untersuchungen von A. Němec und F. Duchoň an dem Erbsensamen bestätigt, konnten aber dieses Verhältnis bei Samen der japanischen Lärche nicht feststellen, weil auch alte, nicht keimfähige Samen aus dem Wasserstoffsperoxyd den Sauerstoff intensiv spalteten. Marotta und Kanninka (8) veröffentlichten die Resultate ihrer Studien mit zwölf Getreidesorten, aus welchen ersichtlich ist, daß sie in keinem Falle die Versuche von Němec und Duchoň bestätigen konnten.

Wir sehen also, daß die Versuchsergebnisse der Autoren auseinander gehen, und es war nötig, die Versuche zu erneuern und festzustellen, ob wirklich die Katalase als Indikator der Samenvitalität dienen kann. Es wurde das Verhältnis zwischen Vitalität der Pflanzenzellen und Aktivität ihrer Katalase geprüft.

Zuerst wurde dieses Verhältnis an Samen der Pflanzen *Pisum sativum*, *Lupinus angustifolius*, *Zea mays* und *Triticum vulgare* geprüft. Die Versuchsmethodik war dieselbe wie bei den früheren Versuchen. Für die Versuche wurden frische und alte Samen verwendet, deren Keimfähigkeit vorher bestimmt wurde. Diese Versuche bestätigen die Befunde von *A. Némec* und *F. Duchon*, daß die Katalaseaktivität mit Vergrößerung des Alters der Samen schwindet, wie aus der Tabelle I ersichtlich ist.

Tabelle I.

Versuchspflanze	Die von 3 g Samenmehl aus 15 ccm 3proz. H_2O_2 in 10 Minuten abgespaltene Menge von Sauerstoff in ccm	Keimfähigkeit der Samen in Proz.	
<i>Pisum sativum</i> . . .	alte Samen	20.4	88
	neue Samen	54.6	35
<i>Lupinus angustifolius</i>	alte Samen	22.4	38
	neue Samen	96.4	92
<i>Zea mays</i>	alte Samen	12.2	7
	neue Samen	71.4	86
<i>Triticum vulgare</i> . .	alte Samen	10.0	22
	neue Samen	42.8	96

Durch weitere Versuche wurde das Verhältnis zwischen der Katalasetätigkeit in den grünen und chlorotischen Blättern bei den Pflanzen *Beta vulgaris*, *Junglans regia* und *Althea officinalis* geprüft und in allen Fällen bei den chlorotischen Blättern eine schwächere Katalasetätigkeit festgestellt, wie uns auch die Tabelle II zeigt.

Tabelle II.

Versuchspflanze	Die von 2 g Blattmehl aus 15 ccm 3proz. H_2O_2 in 10 Minuten abgespaltene Menge von Sauerstoff in ccm	
<i>Beta vulgaris</i> . .	chlorotische Blätter	47.4
	grüne Blätter	82.2
<i>Junglans regia</i> . .	chlorotische Blätter	66.0
	grüne Blätter	105.6
<i>Althea officinalis</i> .	chlorotische Blätter	17.6
	grüne Blätter	62.4

Die Chlorose war bei *Beta vulgaris* durch große Feuchtigkeit des Bodens, bei *Junglans regia* durch die Gase aus den Fabriken und bei *Althea officinalis* durch unbekannte Ursachen hervorgerufen.

Es wurde weiter die Katalasetätigkeit bei den grünen und etiolierten Blättern der Pflanzen *Papaver somniferum*, *Daucus carota* und *Sinapis*

alba bestimmt; die Katalasetätigkeit war bei den grünen und etiolierten Blättern fast ganz dieselbe.

Alle diese Versuche haben neuerdings bewiesen, daß die Katalase die größte Aktivität in jenen Zellen bzw. Organen zeigt, welche sich mit großer Vitalität auszeichnen.

Können wir also nach der Katalaseaktivität der Pflanzen auf ihre Vitalität urteilen?

Um auf diese Frage antworten zu können, müssen wir zuerst die Frage der Enzymtätigkeit in den Pflanzenzellen allgemein lösen.

Die Lebenstätigkeit der Zellen bzw. der Organe ist an die Enzymaktivität gebunden, welche durch die harmonische Arbeit den Lauf normaler Prozesse des Materie- und Energieaustausches in den Pflanzenzellen ermöglichen. Diese harmonische Kolaboration der Enzyme ist aber an die Vitalität gebunden und hört auf, sobald das Leben der Zellen endet. Die beste Demonstration dieser Erscheinung kommt in der Autolyse zum Ausdruck.

Töten wir das Leben der Pflanzenzellen mit irgendwelchem Gift, wie z. B. mit Toluol, so wird die harmonische Arbeit der Enzyme verschwinden; mit hoher Temperatur wird nicht nur die Lebenskraft des Protoplasmas, sondern auch die der Enzyme vernichtet. *Grafe* (9) lenkt unsere Aufmerksamkeit auf den Begriff „abgetötet“ und „gestorben“. Dies sind zwei verschiedene Erscheinungen: im ersten Falle setzt nach Vernichtung der die Enzymarbeit regulierenden Lebenskraft der Protoplasten die unkoordinierte Arbeit der Enzyme ein, im letzteren Falle hören die beiden zugleich auf. Die Vitalität der Zellen bzw. der Organe kann man vernichten, ohne daß die Aktivität der Enzyme dabei einen Schaden erleidet. Intensität der Enzymtätigkeit kann also nicht maßgebend für die Vitalität der Zellen sein. Nur eine koordinierte und regelmäßige Wirkung der Enzyme kann Indikator der Organvitalität sein, und deshalb kann man auch nicht nach der Aktivität der Enzyme die Keimfähigkeit der Samen beurteilen. Die durchgeführten Versuche beweisen diese theoretische Voraussetzung.

Die erste Versuchsreihe wurde an den Pflanzen *Mnium undulatum* durchgeführt. Die Pflanzen wurden 10 Minuten in siedendes Wasser gegeben, und nachher wurde die Katalaseaktivität der Blätter qualitativ makroskopisch geprüft. Es wurde festgestellt, daß über den Blättern, welche in einen Tropfen 3proz. Wasserstoffsperoxyds eingelegt waren, überhaupt keine Blasen von Sauerstoff entstanden. Es handelte sich in diesem Falle um den Zustand, den *Grafe* mit „gestorben“ bezeichnet, weil nicht nur die Lebenskraft des Protoplastes, sondern auch der Enzyme vernichtet war. Die grünen, in warmes Wasser nicht eingetauchten Blätter von *Mnium undulatum* zeigten eine sehr große Katalaseaktivität.

Es war nun nötig, zu prüfen, ob die Zellen, getötet auf andere Art als mit hoher Temperatur, wie z. B. durch Plasmagifte, eine hohe Katalaseaktivität aufweisen können. Zu diesem Zwecke wurden grüne, gesunde Pflanzen von *Mnium undulatum* in Eprouvetten gegeben, in welchen sich verschiedene Salzlösungen befanden. Nach 48 Stunden wurden die Pflanzen aus den Eprouvetten genommen und gut mit

destilliertem Wasser gewaschen. Zur Kontrolle dienten Pflanzen, die in reines Wasser eingetaucht waren. Die Katalaseaktivität wurde wieder qualitativ mikroskopisch untersucht. Die Tabelle III zeigt uns, wie die Salze auf die Katalaseaktivität und Vitalität der Zellen gewirkt haben.

Tabelle III.

Lösung	Intensität der Sauerstoffabsplaltung aus 3 proz. H_2O_2 .	Vitalität der Zellen nach 48 Stunden
Destilliertes Wasser . . .	große	große
0,05 mol. NaCl	"	keine
0,001 mol. $CuSO_4$	schwache	"
0,001 mol. $FeCl_3$	keine	"
0,001 mol. Jod	"	"
0,001 mol. $ZnSO_4$	große	"

Wir sehen, daß die Blätter der Pflanzen, eingetaucht in reines Wasser oder in Lösungen von NaCl oder $ZnSO_4$, hohe Katalaseaktivität zeigten, die Blätter aus den Lösungen $CuSO_4$ zeigten eine schwächere Aktivität, dagegen die Blätter aus Lösungen $FeCl_3$ und Jod haben gar keine Katalaseaktivität gezeigt. Aus diesen Versuchen geht weiter hervor, daß die 0,001 mol. $ZnSO_4$ - und 0,05 mol. NaCl-Lösungen das Leben der Zellen von *Mnium undulatum* zerstören kann, ohne daß die Aktivität der Katalase vernichtet wird. Es handelt sich also in diesem Falle um die Erscheinung, die *Grafe* mit dem Worte „abgetötet“ bezeichnet; die Vitalität des Zellenprotoplasmas ist vernichtet, nicht aber auch deren Katalase.

Diese Versuche beweisen, daß die Anwesenheit der Katalase in den Pflanzenzellen als Kriterium für die Bestimmung der Vitalität nicht dienen kann.

Es ist selbstverständlich, daß dasselbe Verhältnis auch bei den Samen besteht, und daß man die Aktivität der Katalase als ein absolutes Indizium der Vitalität, d. h. der Keimfähigkeit nicht behandeln kann. Mit den Samen der Pflanzen *Sinapis alba*, *Pisum sativum*, *Secale cereale* und *Medicago sativa* durchgeführte Versuche haben dies vollkommen bewiesen.

In Petrischalen, auf deren Boden Filtrierpapier gelegt war, wurden die Samen der Versuchspflanzen aufgelegt. Die erste Serie der Schalen bekam 15 ccm Wasser, die übrigen 15 ccm mol. NaCl-Lösung oder 0,005 mol. $ZnSO_4$ -Lösung. Die Schalen wurden in einen Thermostaten bei konstanter Temperatur von 20° C eingesetzt. Nach 24 Stunden wurden die aufgequellten Samen herausgenommen, abgetrocknet, vorerst mit trockenem Filtrierpapier und hierauf im Thermostaten bei 35° C. Die Samen aus der Salzlösung wurden vor dem Trocknen mit destilliertem Wasser gut gewaschen mit der Absicht, die eventuelle Wirkung des Salzes bei der Prüfung der Katalaseaktivität zu eliminieren.

Hohe Salzkonzentrationen wurden absichtlich angewandt, um die Keimfähigkeit zu zerstören. Nach 24 Stunden konnte man auf den Samen, welche in reines Wasser gelegt waren, den Keim beobachten, hingegen bei den in Salzlösungen gelegten Samen konnte man bloß eine Quellung, aber keine Keimung konstatieren.

Die Tabelle IV zeigt, daß die Samen aller Versuchspflanzen, wenn ihre Keimfähigkeit mit 0,05 mol. NaCl- oder 0,005 mol. $ZnSO_4$ -Lösung vernichtet wurde, die gleiche aktive Katalase aufwies, wie die Samen

Tabelle IV.

Versuchspflanze	Lösung	Die von 2 g Samenmehl aus 15 ccm 3proz. H_2O_2 in 10 Minuten abgespaltene Menge von Sauerstoff in ccm
Sinapis alba	0.05 mol. NaCl	7.8
	0.005 mol. $ZnSO_4$	8.2
	Wasser	7.6
Pisum sativum	0.05 mol. NaCl	26.4
	0.005 mol. $ZnSO_4$	27.2
	Wasser	25.8
Secale cereale	0.05 mol. NaCl	40.2
	0.005 mol. $ZnSO_4$	40.0
	Wasser	42.7
Medicago sativa	0.05 mol. NaCl	86.0
	0.005 mol. $ZnSO_4$	89.8
	Wasser	97.1

aus reinem Wasser. Nur die Samen *Medicago sativa* aus reinem Wasser wiesen eine größere Aktivität der Katalase als die Samen aus den Salzlösungen auf.

Die Samen der Versuchspflanzen hatten die Aktivität der Katalase laut Tabelle V.

Tabelle V.

Versuchspflanze	Die von 2 g Samenmehl aus 15 ccm 3proz. H_2O_2 in 10 Minuten abgespaltene Menge von Sauerstoff in ccm
Sinapis alba	11.4
Pisum sativum	28.8
Secale cereale	39.0
Medicago sativa	84.2

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß auch nicht keimfähige Samen eine große Katalaseaktivität aufweisen können, d. h. daß die Reaktion auf die Katalase als biochemische Methode der Bestimmung der Samenvitalität unserer Kulturpflanzen nicht dienen kann.

A. Nėmec und F. Duchoň sagen mit Vorsicht: „On peut conclure avec une sũrté presque absolue que les graines qui ne montrent aucune activité catalasique ont entièremment perdu leur activité vitale“. Diese Voraussetzung ist richtig, die Samen welche keine Katalaseaktivität zeigen, sind nicht lebend, können auch nicht keimen. Die Zerstörung irgend eines Enzyms genügt, um die Keimfähigkeit der Samen zu vernichten. Wenn sich die Katalaseaktivität vermindert, ist es ein Beweis der Verminderung der Vitalität der Samen. Es ist egal, ob die Aktivität der Katalase durch Alter der Samen oder durch eine andere Ursache schwächer wird.

Umgekehrt aber können wir aus der Aktivität der Katalase in Samen nicht auf ihre Vitalität urteilen, wie dies durch unsere Versuche auch bewiesen wurde.

Die Keimung ist gebunden an die Tätigkeit einer ganzen Reihe von Enzyme, die eine Kette — in welcher die Katalase nur ein wichtiges Glied ist — bilden. Es scheint eben, daß die Katalase ein Enzym ist, welches gegen äußere Faktoren am besten Widerstand leistet. Deswegen wird die Intoxikation der Samen durch die physiologischen Gifte in erster Reihe die Aktivität der empfindlichsten Enzyme zerstören, und durch diese Zerstörung der Aktivität eines Enzyms wird auch die Keimfähigkeit der Samen vernichtet, ohne daß die Katalase der Samen dabei eine verminderte Aktivität aufweist.

Die Aktivität der Enzyme ist nicht immer von der Lebenstätigkeit des Protoplasmas abhängig, weil auch die toten Zellen aktive Enzyme enthalten können. Nur eine regelmäßige und harmonische Tätigkeit der Enzyme, bezeichnet durch eine für die Keimung charakteristische Kurve, kann Indizium und Maß der Samenvitalität sein.

Zu besonderem Danke bin ich Herrn Prof. Dr. Bohumil Nėmec verpflichtet, der mir durch seine Gastfreundlichkeit die Vollendung dieser Arbeit in seinem Institut für Pflanzenphysiologie an der Karlsuniversität in Prag ermöglicht hat.

Literatur.

- 1) M. Gračanin, diese Zeitschr. 168, 429, 1926. — 2) Crocquer und Harrington, Journ. of Agr. Research. 15, 137, 1918. — 3) Brocq-Rousseau, C. r. de l'Acad. Sc. 133, 1248, 1901. — 4) E. Gain, zitiert ebendasselbst 146, 545, 1908. — 5) Mc Hargue, Journ. Amer. Chem. Soc. 42, 612, 1920. — 6) A. Nėmec et F. Duchoň, C. r. de l'Acad. Sc. 174, 632, 1922; Ann. de la Science Agronomique 1923, S. 121. — 7) J. Vilmorin und Cazaubon, C. r. de l'Acad. Sc. 175, 50, 1922. — 8) D. Marotta und R. Kaminka, Ann. chim. appl. 14, 207, 1924. — 9) V. Grafe, Ernährungsphysiologisches Praktikum. Berlin 1914.

Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe.

V. Mitteilung:

Über den Einfluß des Natriumphosphats auf den Gaswechsel nach Fleischaufnahme.

Von

J. Abelin und Bunya Kobori (Okayama).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 6. November 1926.)

Aus dem Nahrungseiweiß entsteht im tierischen Organismus eine Reihe von Stoffen, teils stickstoffhaltiger, teils stickstofffreier Natur. Unter den letzteren nimmt das Kohlehydrat die erste Stelle ein. Die Umbildung von Eiweiß in Zucker wird jetzt wohl kaum bestritten, und nach der Meinung einiger Autoren können* beim gesunden Menschen bis 80 Proz. des aufgenommenen Eiweißes in Kohlehydrat umgewandelt werden. Von diesen Tatsachen ausgehend, untersuchten wir den Einfluß des Mono- und Dinatriumphosphats auf den Eiweißstoffwechsel. Unsere früheren Versuche mit Zucker und anorganischen Salzen¹⁾ haben gezeigt, daß das Natriumphosphat sowie einige andere Elektrolyte weitgehend die Kohlehydratverarbeitung beeinflussen. Hauptsächlich der Grad der Verbrennung der Kohlehydrate, sowie die Zuckermwandlung in Glykogen werden durch Zusatz von Phosphat oder von Elektrolyten stark herabgesetzt, ein deutliches Zeichen dafür, daß die chemische Verarbeitung des Zuckers bei einem Überschuß bestimmter Kationen und Anionen anders verläuft als unter normalen Bedingungen. Da auch aus Eiweiß Kohlehydrat entsteht, so war ja zu vermuten, daß auch die chemischen Umwandlungen des Eiweißes

¹⁾ Diese Zeitschr. 175, 274, 1926; 180, 218, 1927.

durch die Phosphate beeinflusst werden könnten. Wir haben in dieser Richtung eine Anzahl von Versuchen ausgeführt und zuerst bei Ratten den sogenannten Erhaltungsumsatz, d. h. den Gaswechsel im Nüchternzustande bei ausgeschalteter chemischer Wärmeregulation (Umgebungstemperatur 28 bis 30°) bestimmt. Darauf haben wir diesen Ratten das eine Mal rohes, mageres Fleisch, das andere Mal rohes, mageres Fleisch und Phosphat eingegeben und jedesmal den Gaswechsel untersucht. In einigen Versuchen verfahren wir so, daß wir die Tiere nach der Fleischverfütterung für die ersten 3 bis 4 Stunden in den Stoffwechselkasten brachten und Kohlensäureausscheidung und Sauerstoffverbrauch analysierten. 4 Stunden nach der Fleischfütterung erhielten die Tiere das anorganische Phosphat per os und kamen darauf wieder in den Versuch. Sowohl die Versuche mit fast gleichzeitiger Eingabe von Fleisch und Phosphat als auch die Versuche, in welchen das Phosphat erst auf der Höhe der chemischen Verarbeitung des Fleisches verfüttert wurde, ergaben das gleiche Resultat. Ebenso wie bei dem Kohlehydrat kommt es auch beim Fleisch zu einer deutlichen Herabsetzung des Gaswechsels, falls neben dem Fleisch auch Phosphat zur Resorption kommt. Es gibt nur vereinzelte Fälle, wo trotz Phosphatzusatz keine Gaswechsellerniedrigung eintritt (vgl. z. B. die Versuche 1549 und 1575). Solche Ergebnisse gehören aber zu den Ausnahmen.

In den Versuchen 1502 und 1503 beträgt die normale Stoffwechselerhöhung nach Fleischezufuhr, die sogenannte spezifisch-dynamische Wirkung, im Vergleich mit dem Mittelwert aus den Nüchternversuchen, 23 bis 25 Proz. Nach Eingabe von Fleisch plus Dinatriumphosphat finden wir eine Zunahme des Gaswechsels bloß um 12 Proz., also um die Hälfte weniger. Im Versuch 1511 beträgt die spezifisch-dynamische Wirkung in den ersten 4 Stunden nach der Fleischaufnahme 24,6 Proz. In diesem Zeitpunkt wird Phosphat eingegeben. Darauf sinkt der Gaswechsel stark ab, und zwar sogar unter die Norm des Erhaltungsumsatzes: Erhaltungsumsatz 4,79 Kalorien pro Kilogramm und Stunde, bei Zugabe von Phosphat nach Fleischaufnahme 4,57 Kalorien pro Kilogramm und Stunde (Versuche 1510 und 1512). Die gleiche Wirkung des Phosphats auf den Gaswechsel nach Fleischaufnahme finden wir auch in den Versuchen 1514 bis 1520. Parallel der Abnahme des Gaswechsels geht auch eine Änderung des Respirationsquotienten, der meistens unter dem Einfluß des Phosphats erniedrigt wird.

Die Versuche der Tabelle II, die an einem anderen Tiere ausgeführt wurden, ergeben das gleiche Bild und brauchen nicht näher besprochen zu werden. In den Tabellen III und IV sind die Versuchsergebnisse an zwei weiteren Tieren zusammengefaßt.

Tabelle I. Reihe A.

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Fütterung und Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ g pro kg und Stunde	O ₂ g	Kalorien	Spez. dynam. Wirkung Proz.	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur d. Kastens °C
1499	9. V.	Nüchtern	0.71	1.30	1.17	0.807	1.61	1.45	4.97		230.1	3.5	27-29
1500	13. V.	"	1.11	1.63	1.55	0.764	1.60	1.52	5.15		226.4	4.5	28-29
1501	23. V.	"	0.73	1.09	1.01	0.784	1.54	1.42	4.84		236.5	3	28-29
1502	11. V.	1 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	1.56	2.92	2.64	0.803	2.03	1.83	6.25	25.30	239.7	6	27-29
1503	25. V.	1 Std. n. " " 10 g "	1.25	2.93	2.76	0.771	1.92	1.81	6.15	23.20	253.5	6	28
1504	27. V.	Nüchtern	0.66	1.16	1.09	0.773	1.55	1.46	4.95		249	3	27
1505	27. V.	1 Std. nach Aufn. v. 8 g Rindfleisch roh	1.32	2.37	2.24	0.769	1.89	1.79	6.07	22.60	250.5	5	27-28
1506	29. V.	Nüchtern	0.67	1.14	1.04	0.796	1.54	1.41	4.81		246	3	28-29
1507	29. V.	1/2 Std. nach Aufnahme von 7,5 g Rindfleisch roh + 1 g Dinatriumphosphat	1.18	2.09	2.00	0.759	1.66	1.59	5.39	12.06	251.5	5	27-28
1508	3. VI.	Nüchtern	0.75	1.07	0.98	0.793	1.46	1.34	4.57		243.5	3	28-29
1509	3. VI.	2/3 Std. nach Aufnahme von 5 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1.30	1.75	1.72	0.739	1.58	1.55	5.24	15.0	246.0	4.5	27-29
1510	5. VI.	Nüchtern	0.75	1.14	1.01	0.820	1.58	1.40	4.79		241.2	3	28-29
1011	8. VI.	1 Std. n. Aufn. v. 8 g Rindfleisch roh	0.79	1.41	1.31	0.782	1.89	1.76	5.97	24.60	248.7	3	29-30
1512	8. VI.	4 1/2 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 10 g Na ₂ HPO ₄	0.98	1.06	0.99	0.778	1.44	1.34	4.57	keine	245.6	3	29-30
1513	16. VI.	1 3/4 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	1.06	2.78	2.46	0.821	1.90	1.59	5.46	8.63	257	6	28-30
1514	19. VI.	1 " " " 7.5 g "	1.00	1.32	1.27	0.755	1.70	1.64	5.54		258.6	3	27
1515	19. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g NaH ₂ PO ₄	1.09	1.26	1.10	0.832	1.63	1.42	4.88	keine	258.4	3	27-28
1516	24. VI.	1 Std. n. Aufn. von 10 g Rindfleisch	0.70	1.53	1.39	0.800	1.89	1.72	5.86	14.90	269.7	3	27-28
1517	24. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g NaH ₂ PO ₄	0.77	1.36	1.30	0.760	1.69	1.61	5.47	7.25	268.5	3	27-28
1518	26. VI.	Nüchtern	1.14	2.07	1.96	0.767	1.59	1.50	5.10		260.7	5	27-29
1519	29. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1.41	2.34	2.21	0.769	1.51	1.43	4.85	keine	257.3	6	27-29
1520	3. VII.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1.53	2.39	2.22	0.782	1.54	1.43	4.86	keine	258.3	6	28-29

Tabelle II. Ratte B.

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Fütterung und Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ g		Kalorien pro kg und Stunde	Spez. dynam. Wirkung Proz.	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur d. Kaates °C
							g	g					
1521	9. V.	Nüchtern	0.67	1.49	1.38	0.784	1.63	1.51	5.13		228.7	4	28-29
1522	11. V.	1 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	1.47	2.79	2.50	0.911	2.00	1.79	6.11	16,30	232.6	6	28-30
1523	13. V.	Nüchtern	0.99	1.65	1.58	0.759	1.65	1.58	5.34		222.6	4,5	28-30
1524	15. V.	1 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	1.13	2.55	2.25	0.823	1.88	1.66	5.69	8,20	225.4	6	28-30
1525	23. V.	Nüchtern	0.78	1.17	1.04	0.817	1.71	1.62	5.21		228	3	29-30
1526	25. V.	1 Std. n. Aufn. v. 9 g Rindfleisch roh	1.61	2.80	2.61	0.779	1.92	1.79	6.09	15,0	242.7	6	28
1527	27. V.	Nüchtern	0.79	1.23	1.14	0.784	1.72	1.69	5.41		238.6	3	28
1528	27. V.	1 Std. n. Aufn. v. 8,5 g Rindfleisch roh	1.19	2.28	2.19	0.756	1.89	1.81	6.15	13,7	241.4	5	28-29
1529	29. V.	Nüchtern	0.63	1.24	1.07	0.824	1.73	1.49	5.12		239.4	3	28-30
1530	29. V.	1/2 Std. nach Aufnahme von 5 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1.11	1.77	1.69	0.761	1.62	1.54	5.23	2,0	243.3	4,5	28-30
1531	3. VI.	Nüchtern	0.61	1.09	1.00	0.792	1.54	1.42	4.82		235.5	3	28-29
1532	3. VI.	1/2 Std. nach Aufnahme von 5 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1.22	1.69	1.68	0.730	1.57	1.56	5.24	9,0	239.8	4,5	28-30
1533	5. VI.	Nüchtern	0.37	1.10	1.01	0.791	1.55	1.42	4.83		237.2	3	28-29
1534	8. VI.	1 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	0.65	1.34	1.26	0.773	1.80	1.69	5.74	18,80	248.4	3	29-30
1535	8. VI.	4 " nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g Na ₂ HPO ₄	0.34	1.10	1.05	0.761	1.48	1.42	4.79	keine	247.3	3	28-29
1536	16. VI.	1/2 Std. n. Aufn. v. 8 g Rindfleisch roh	1.41	2.43	2.22	0.795	1.77	1.62	5.63		249.2	5,5	29-30
1537	19. VI.	1/2 Std. n. Aufn. v. 10 g Na ₂ HPO ₄	0.62	1.31	1.21	0.786	1.70	1.57	5.96		256.4	3	28-29
1538	19. VI.	4 Std. nach der Fleischaufnahme 1 g Na ₂ HPO ₄	0.84	1.14	1.04	0.796	1.49	1.36	4.63	keine	255.2	3	28
1539	24. VI.	1/2 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	0.52	1.34	1.32	0.737	1.65	1.63	5.49		270.1	3	28-29
1540	24. VI.	4 " nach der Fleischaufnahme 1 g Na ₂ HPO ₄	0.76	1.26	1.21	0.756	1.55	1.49	5.05	keine	270.6	3	28-29
1541	26. VI.	Nüchtern	0.77	2.13	2.07	0.747	1.62	1.57	5.31		263.7	5	28-30
1542	29. VI.	3/4 Std. nach Aufnahme von 9 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1.37	2.20	2.05	0.780	1.34	1.25	4.26	keine	272.5	6	28-30
1543	3. VII.	1/2 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1.42	2.36	2.19	0.783	1.49	1.39	4.71	keine	263.2	6	29-30

Tabelle 111. Kontin. c.

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Fütterung und Beginn des Versuchs	H ₂ O g	C:O ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ g pro kg und Stunde	O ₂ g	Kalorien und Stunde	Spez. d. Wärme Wirkung Proz.	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur d. Kerkens °C
1544	23. V.	Nüchtern	0,55	1,03	0,94	0,796	1,49	1,36	4,63		231,0	3	28-30
1545	25. V.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	1,44	2,95	2,67	0,803	1,97	1,78	6,09		249	6	28
1546	27. V.	Nüchtern	0,57	1,14	1,10	0,753	1,59	1,54	5,20		238,5	3	26-27
1547	27. V.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	2,04	2,88	2,70	0,775	1,96	1,84	6,24	20,0	244,80	6	27-28
1548	29. V.	Nüchtern	0,50	1,11	1,02	0,791	1,56	1,44	4,89		236,7	3	27-28
1549	29. V.	1/2 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1,27	2,69	2,59	0,754	1,84	1,77	5,98	22,3	243,90	6	27-28
1550	3. VI.	Nüchtern	0,52	1,01	0,96	0,764	1,47	1,40	4,73		229,2	3	28-29
1551	3. VI.	2/3 Std. nach Aufnahme von 7,5 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1,24	1,79	1,74	0,747	1,52	1,48	5,00	6,0	235,10	5	28-29
1552	5. VI.	Nüchtern	0,65	1,11	1,05	0,768	1,62	1,53	5,20		228,4	3	27-28
1553	8. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch	0,82	1,35	1,27	0,772	1,89	1,78	6,04	16,15	238,0	3	29-30
1554	8. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g Na ₂ HPO ₄	0,55	1,10	1,10	0,726	1,55	1,55	5,22	keine	236,4	3	29-30
1556	16. VI.	1 3/4 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	2,30	2,75	2,55	0,783	1,87	1,74	5,90	12,2	244,5	6	29
1557	19. VI.	1 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch roh	0,69	1,35	1,21	0,810	1,81	1,62	5,55	5,5	248,3	3	28-30
1558	19. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g Na ₂ HPO ₄	1,40	1,22	1,15	0,771	1,65	1,55	5,27	keine	246,6	3	28
1559	24. VI.	1 1/4 Std. n. Aufn. v. 10 g Rindfleisch	0,71	1,52	1,44	0,767	1,91	1,81	6,15	16,9	264,9	3	28-29
1560	24. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g Na ₂ HPO ₄	0,54	1,37	1,28	0,778	1,72	1,61	5,47	4,00	265,2	3	29-30
1561	26. VI.	Nüchtern	1,34	2,14	2,00	0,777	1,66	1,55	5,26		258,6	5	28-30
1562	29. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 9 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1,66	2,44	2,35	0,754	1,54	1,49	5,03	keine	263,1	6	27-30
1563	3. VII.	2/3 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1,30	2,30	2,16	0,774	1,49	1,40	4,76	keine	256,4	6	28-30

Tabelle IV. Ratte D.

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Fütterung und Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ g pro kg und Stunde	O ₂ g	Kalorien pro kg und Stunde	Spez. dynam. Wirkung Proz.	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Std.	Temperatur d. Kastens °C
1564	27. V.	Nüchtern	0,67	1,26	1,10	0,832	1,78	1,55	5,32		236,6	3	27
1565	27. V.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	2,03	2,83	2,64	0,779	1,95	1,82	6,19	16,35	241,3	6	27-28
1566	29. V.	Nüchtern	0,56	1,15	1,05	0,796	1,65	1,51	5,15		232,0	3	28
1567	29. V.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	2,09	2,55	2,43	0,762	1,77	1,69	5,73	11,26	239,2	6	28-29
1568	3. VI.	Nüchtern	0,48	1,05	0,98	0,778	1,56	1,46	4,95		227,4	3	28-29
1569	3. VI.	1/2 Std. nach Aufnahme von 6 g Rindfleisch roh + 1 g Na ₂ HPO ₄	1,21	1,64	1,64	0,726	1,59	1,59	5,36	8,30	229,1	4,5	27-29
1570	5. VI.	Nüchtern	0,52	1,13	0,98	0,800	1,66	1,44	4,94		227	3	27-28
1571	8. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	0,72	1,24	1,16	0,777	1,74	1,63	5,55	12,35	237,0	3	29-30
1572	8. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g Na ₂ HPO ₄	0,66	1,14	1,11	0,746	1,61	1,57	5,31	7,70	235,7	3	28-29
1573	16. VI.	1 1/2 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	1,32	2,63	2,37	0,806	1,81	1,63	5,58	13,0	241,5	6	28-30
1574	19. VI.	1 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh	0,55	1,31	1,15	0,827	1,80	1,58	5,43		242,3	3	27-28
1575	19. VI.	4 Std. nach der Fleischfütterung Eingabe von 1 g NaH ₂ PO ₄	1,30	1,24	1,16	0,777	1,70	1,59	5,41		242,8	3	27-28
1576	26. VI.	Nüchtern	0,83	2,12	1,98	0,778	1,69	1,58	5,36		251	5	27-29
1577	26. VI.	3/4 Std. nach Aufnahme von 10 g Rindfleisch roh + 1 g NaH ₂ PO ₄	1,48	2,32	2,18	0,773	1,50	1,41	4,80	keine	256,8	6	27-29

Zusammenfassung.

In Versuchen an Ratten wurde der Einfluß des Mono- und Dinatriumphosphats auf den Gaswechsel nach Fleischaufnahme untersucht. Die Gaswechselerhöhung nach Fleischzufuhr fällt in den allermeisten Versuchen bedeutend geringer aus, wenn neben dem Fleisch auch Alkaliphosphat genommen wird. Ganz analog ist die Wirkung der Phosphate auf den Kohlehydratumsatz. Es ist daher wahrscheinlich, daß auch beim Fleisch das Phosphat diejenigen Vorgänge beeinflußt, welche mit der Umbildung des Eiweißes in Kohlehydrat und mit der weiteren Verarbeitung des letzteren zusammenhängen.

Zur Kenntnis des Kohlehydratstoffwechsels.

II. Mitteilung:

Über den Einfluß der Alkaliphosphate und einiger anderer Elektrolyte auf den Kohlehydratstoffwechsel.

Von

Bunya Kobori (Okayama).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 6. November 1926.)

Wenn man die biologische Bedeutung der chemischen Substanzen auf Grund ihrer Verbreitung im Tier- und Pflanzenreich einschätzen wollte, so müßte man der Phosphorsäure und ihren Derivaten eine der ersten Stellen einräumen. Sie ist wie keine andere anorganische Säure befähigt, eine Brücke zwischen organischen und anorganischen Stoffen zu schlagen und mit Kohlehydraten, Fetten und Eiweißkörpern Verbindungen einzugehen. Da die Phosphorsäure ein nie fehlender Zellbestandteil ist, so ist die seit altersher gemachte Annahme gerechtfertigt, daß diese Substanz auf das innigste mit den Lebensvorgängen der Tier- und Pflanzenzelle verknüpft ist. Bekannt ist die große Bedeutung der Phosphorsäure für die alkoholische Gärung, für den Stoffwechsel des Muskels und der Nerven.

In der ersten Mitteilung¹⁾ wurde darüber berichtet, daß sich das Verhalten der Kohlehydrate im Organismus wesentlich ändert, wenn man den Tieren neben dem Kohlehydrat auch anorganisches Phosphat zuführt. Diese Änderungen betreffen die wichtigsten Punkte des Zuckerumsatzes: die Glykogenbildung, die Kohlensäureausscheidung und die Erhöhung des respiratorischen Quotienten. All diese Faktoren werden durch die Phosphatbeigabe im negativen Sinne beeinflußt, indem Glykogenbildung, Kohlensäureproduktion und respiratorischer Quotient nach Eingabe von Kohlehydrat plus Phosphat bedeutend geringer sind

¹⁾ *J. Abelin*, diese Zeitschr. 175, 274, 1926.

als nach Zufuhr der gleich großen Menge Kohlehydrat für sich allein. Auf Anregung von *J. Abelin* habe ich diese Untersuchungen fortgesetzt und einige andere damit zusammenhängende Fragen verfolgt.

Mit Rücksicht auf den Einfluß des anorganischen Phosphats auf die Verwertung des Zuckers war es vorerst wichtig zu entscheiden, ob das Hexosephosphat im Tierkörper wie eine gewöhnliche Hexose verbrennt, oder ob dasselbe mehr an das Verhalten des Zuckers plus anorganisches Phosphat erinnert. Zu diesem Zwecke wurden Versuche mit hexosediphosphorsaurem Calcium („Candiolin“) angestellt. Das hexosediphosphorsaure Calcium kann so gewonnen werden, daß man Zucker vergären läßt, die Gärung in einem bestimmten Stadium unterbricht und die gebildete Hexosediphosphorsäure als Salz isoliert. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle I zusammengefaßt.

Das hexosediphosphorsaure Calcium zeigt tatsächlich ein ähnliches Verhalten wie das Kohlehydrat plus anorganisches Phosphat. Wie die Versuche 1346 bis 1351 und 1358 bis 1362 zeigen, tritt beim Tiere nach Verfütterung von hexosediphosphorsaurem Calcium fast keine Erhöhung des respiratorischen Quotienten auf, die doch entstehen müßte, wenn das hexosediphosphorsaure Calcium leicht verbrennen würde. Auch fehlt hier die Steigerung der Kohlensäureausscheidung, die jede Oxydation des Kohlehydrats begleitet. Die Kohlensäureproduktion nach Zufuhr von hexosediphosphorsaurem Calcium bleibt vielmehr auf gleicher Höhe wie in nüchternem Zustande, oftmals ist sie sogar noch niedriger als im Nüchternversuch. Daraus geht hervor, daß durch den Eintritt des Phosphorsäurerestes in das Hexosemolekül das ganze biochemische Verhalten des Zuckers geändert wird, und zwar hauptsächlich derart, daß die leichte Oxydierbarkeit der Hexose dabei so gut wie vollständig verloren geht.

Zur Ergänzung der in der ersten Mitteilung beschriebenen Experimente stellte ich noch weitere Versuche mit Reis und Phosphat, sowie mit Rohrzucker und Phosphat an. Da diese Versuche das gleiche Resultat wie die früheren Versuchsreihen ergaben, so darf ich mich mit einer kurzen tabellarischen Wiedergabe meiner Versuchsserien begnügen. Das Gesamtergebnis läßt sich dahin zusammenfassen, daß durch die Phosphatzugabe zum Kohlehydrat sowohl die Kohlensäureausscheidung als auch der respiratorische Quotient vermindert werden.

Ich habe noch die Frage untersucht, ob es neben den Phosphaten auch andere Salze gibt, welche befähigt sind, den Kohlehydratumsatz im Organismus zu beeinflussen. Versuche mit Chlorcalcium, mit Natriumbicarbonat, mit Natrium sulfurosum, mit Natriumchlorid haben mir gezeigt, daß man auch bei diesen Salzen die charakteristischen Elemente

Tabelle I. Versuche mit hexosediphosphorsaurem Calcium.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat.	Beginn des Versuchs	H ₂ O		CO ₂		R.-Q.	CO ₂		Kalorien	Gewicht des Tieres	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
				g	g	g	g		g	g				
A. Weiße Ratte, Weibchen.														
1343	16. VII.	Nüchtern	1,57	1,67	1,57	1,57	0,773	2,17	2,04	6,91	128,4	6	28-29
1344	18. VII.	"	1,06	1,41	1,34	1,34	0,776	2,15	2,04	6,92	138,4	5	27-29
1345	20. VII.	"	1,44	1,73	1,63	1,63	0,771	2,10	1,98	6,70	137,4	6	28-29
1346	23. VII.	"
1347	25. VII.	2/3 Std. n. Aufnahme v. 2 g hexosediphosphorsauren Calciums („Candiolin“)	1,43	1,28	1,23	1,23	0,756	1,94	1,86	6,31	146,6	4,5	29-30
1348	28. VII.	3/4 Std. n. Aufn. von 3 g hexosediphosphors. Ca	1,06	1,47	1,38	1,38	0,774	1,95	1,83	6,21	150,8	6	27-29
1349	30. VII.	1/2 " " " 3 g	1,19	1,54	1,46	1,46	0,766	2,04	1,94	6,57	150,8	5	27-29
1350	30. VII.	1 " " " 3 g	1,37	1,52	1,38	1,38	0,800	2,02	1,84	6,27	150,2	5	28-29
1351	3. VIII.	1 " " " 3 g	1,19	1,52	1,34	1,34	0,824	1,97	1,74	5,96	154,1	5	27-29
1352	5. VIII.	1 " " " 3 g	1,08	1,60	1,45	1,45	0,802	2,13	1,93	6,57	150,4	5	28
1353	8. VIII.	Nüchtern	1,20	1,60	1,54	1,54	0,755	2,19	2,11	7,14	146,1	5	26-28
		"	1,14	1,56	1,53	1,53	0,741	2,15	2,10	7,10	145,3	5	28-19
B. Weiße Ratte, Weibchen.														
1354	10. VII.	Nüchtern	1,17	2,03	1,98	1,98	0,745	1,90	1,85	6,25	178	6	28-29
1355	13. VII.	"	1,11	1,89	1,81	1,81	0,759	1,85	1,77	6,00	170	6	29
1356	16. VII.	"	1,26	1,90	1,90	1,90	0,726	1,83	1,83	6,17	172	6	28-29
1357	20. VII.	"	1,20	1,84	1,80	1,80	0,743	1,80	1,76	5,95	171	6	29-30
1358	23. VII.	2/3 Std. n. Aufn. von 2 g hexosediphosphors. Ca	0,82	1,52	1,41	1,41	0,783	1,95	1,80	6,14	173,6	4,5	30
1359	25. VII.	3/4 " " " 3 g	1,11	1,65	1,60	1,60	0,749	1,94	1,88	6,36	170,1	5	28-30
1360	28. VII.	1/2 " " " 3 g	1,01	1,62	1,54	1,54	0,764	1,88	1,79	6,07	171,3	5	27-29
1361	1. VIII.	3/4 " " " 3 g	0,76	1,58	1,40	1,40	0,820	2,00	1,77	6,07	157,8	5	28-29
1362	3. VIII.	1 " " " 3 g	1,24	1,70	1,55	1,55	0,797	2,10	1,91	6,52	162,1	5	28
1363	5. VIII.	Nüchtern	1,23	1,53	1,44	1,44	0,772	1,91	1,79	6,08	160,6	5	26-28
1364	8. VIII.	"	0,85	1,60	1,51	1,51	0,771	1,97	1,86	6,32	162,2	5	28-29
1365	11. VIII.	"	0,42	1,50	1,49	1,49	0,731	1,78	1,77	5,96	168,5	5	29-30

Nr. der Säule	Datum 1925	Präparat. Beginn des Versuchs	H ₂ O	C O ₂	Ca	K O ₂	C	N	Insgesamt Urinmenge g	Feststoff Verlust Stüch.	Kohlehydratstoffwechsel	
											pro kg und Stunde	Stunde
Ratte A.												
1366	13. I.	1/2 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh)	1.34	3.40	2.95	1.01	2.18	1.45	5.21	6	28	
1367	15. I.	Nüchtern	1.01	3.26	2.26	0.759	1.80	1.73	5.85	5	28	
1368	19. I.	3/4 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh)	1.81	3.28	2.49	0.957	2.09	1.59	5.57	6	28—29	
1369	29. I.	1 " " " nach Aufn. von 6 g Reis (roh) + 1 g Dinatriumphosphat	1.71	3.66	2.59	1.02	2.36	1.67	5.94	6	28	
1370	27. I.	1/2 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh) + 1 g Dinatriumphosphat	1.68	3.22	2.64	0.886	2.03	1.66	5.77	6	28	
Ratte B.												
1371	13. I.	Nüchtern	1.05	2.54	2.45	0.753	1.71	1.65	5.58	5	27	
1372	15. I.	1/4 Std. nach Aufn. von 5 g Reis (roh)	1.22	3.48	2.66	0.950	1.99	1.52	5.33	6	27	
1373	19. I.	1/4 " " " " " " " " " " " "	1.26	3.56	2.80	0.924	1.96	1.58	5.51	6	27	
1374	23. I.	1/2 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh) + 1 g Dinatriumphosphat	1.20	1.11	1.11	0.726	1.84	1.84	6.18	2	27	
1375	23. I.	1/2 " " " " " " " " " " " "	0.63	1.69	1.50	0.818	1.88	1.67	5.72	3	27	
1376	27. I.	1/3 Std. n. Aufn. v. 6 g Reis (roh) + 1 g Na ₂ HPO ₄	1.21	3.30	2.60	0.900	1.88	1.49	5.20	6	27	
1377	29. I.	1 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh)	1.18	3.60	2.68	0.976	2.00	1.49	5.26	6	27—28	
Ratte C.												
1378	15. I.	Nüchtern	0.58	1.82	1.77	0.747	1.99	1.94	6.55	3.5	28	
1379	11. II.	" " " " " " " " " " " "	0.97	2.75	2.03	0.760	1.99	1.80	6.45	5	28—29	
1380	14. II.	" " " " " " " " " " " "	0.64	1.47	1.38	0.774	1.96	1.84	6.23	3	28	
1381	19. I.	3/4 Std. nach Aufn. von 6 g Reis (roh)	1.00	3.61	2.70	0.971	2.25	1.68	5.93	6	28	
1382	29. I.	1 1/4 " " " " " " " " " " " "	0.98	3.71	2.88	0.936	2.26	1.76	6.15	6	28—29	
1383	27. I.	1/2 Std. n. Aufn. v. 6 g Reis (roh) + 1 g Na ₂ HPO ₄	0.94	3.52	2.99	0.855	2.11	1.79	6.19	6	28—29	
1384	23. I.	1/4 Std. nach Aufn. von 6 g Reis + 0.6 g Na ₂ Acetat	0.25	1.19	1.02	0.848	2.19	1.87	6.45	2	28—29	
1385	23. I.	3, 4. und 5. Std. des Versuchs	0.34	1.76	1.55	0.825	2.19	1.93	6.61	3	28	
Ratte D.												
1386	24. I.	Nüchtern	0.67	1.07	1.00	0.777	1.92	1.79	6.10	3	28	
1387	14. I.	1/4 Std. n. Aufn. v. 4.5 g Reis (roh) + 0.2 g NaHCO ₃	0.79	2.23	1.66	0.976	2.33	1.73	6.12	5	28	
1389	20. I.	1/4 Std. n. Aufn. v. 5 g Reis (roh) + 0.25 g Na ₂ HPO ₄	1.10	2.48	1.69	1.06	2.56	1.75	6.26	5	28	
1390	16. I.	1/2 Std. n. Aufn. v. 6 g Reis (roh) + 1 g CaCl ₂	0.79	2.27	2.18	0.756	1.95	1.92	6.50	6	28—29	
1391	28. I.	1/2 Std. n. Aufn. v. 4 g Reis (roh) + 1 g Na ₂ HPO ₄	0.60	0.98	1.93	0.745	1.96	1.91	6.45	5	28—29	
Ratte E.												
1392	24. I.	Nüchtern	0.37	0.99	0.91	0.790	2.08	1.92	6.53	3	27—28	
1393	26. I.	" " " " " " " " " " " "	0.88	1.89	1.78	0.771	1.97	1.86	6.30	6	28	
1394	28. I.	1/4 Std. n. Aufn. v. 5 g Reis (roh) + 0.75 g Na ₂ HPO ₄	0.65	1.91	1.64	0.846	2.18	1.87	6.46	5	27—28	

der Elektrolytwirkung in mehr oder weniger ausgesprochenem Maße wiederfindet. Auch nach Eingabe von Kohlehydrat plus Calciumchlorid oder von Kohlehydrat plus Natrium sulfurosum sind Kohlensäureausscheidung und respiratorischer Quotient nicht so hoch, wie nach Eingabe von Kohlehydrat allein. *J. Abelin* und *W. Bachmann* (vgl. erste Mitteilung, l. c.) haben im Zusammenhang damit festgestellt, daß auch die Glykogenablagerung in der Leber nach Zuckerzufuhr durch Calciumchlorid, durch Natriumbicarbonat und durch andere Elektrolyte stark gehemmt wird. Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß es sich bei den Phosphaten um keine streng spezifische Wirkungen des Phosphatanions handelt, sondern, daß viele Salze befähigt sind, in noch nicht aufgeklärter Weise den Kohlehydratstoffwechsel zu beeinflussen. In den Tabellen II und III sind die Versuche mit Reis und mit Rohrzucker zusammengestellt. Bei den Versuchsreihen wurde zuerst der Nüchternumsatz der Tiere ermittelt. Dann erhielten die Ratten einmal Reis oder Rohrzucker, ein anderes Mal das gleiche Kohlehydrat plus das betreffende Salz. Als stark wirksam erwies sich der Zusatz von Calciumchlorid. In den Versuchen 1413 und 1414 findet man in den ersten 4 Stunden nach Aufnahme von 2 g Rohrzucker im Durchschnitt eine Kohlensäureausscheidung von 2,70 g pro Kilogramm und Stunde, einen Sauerstoffverbrauch von 2,16 g und eine Kalorienbildung von 7,50. Gibt man neben den 2 g Rohrzucker 0,5 g wasserfreies Calciumchlorid (Versuch 1415), so ist die Kohlensäureausscheidung = 2,33 g, der Sauerstoffverbrauch 2,00 g und die Kalorienbildung 6,88. Der respiratorische Quotient ist beim Rohrzucker 0,906, beim Rohrzucker plus Calciumchlorid 0,846. Ähnliches ergeben auch die Versuche 1409 und 1411 mit Reis und Chlorcalcium.

	R.-Q.	CO ₂	O ₂	Kalorien
5 g Reis allein	1,01	2,45	1,75	6,22
5 g „ + 0,5 g Calciumchlorid .	0,880	2,00	1,66	5,85

Vgl. auch die Versuche 1412 bis 1418.

Im Hinblick auf die von *C. Neuberg*¹⁾ aufgefundene große Bedeutung der schwefligsauren Salze für die Zuckergärung wurden einige Versuche mit Natrium sulfurosum angestellt. Auch dieses Salz beeinflusst den Kohlehydratumsatz in ähnlicher Weise wie die Alkaliphosphate. Analog verhält sich auch das Natriumbicarbonat.

¹⁾ *C. Neuberg* und *E. Färber*, diese Zeitschr. 78, 238, 1916; *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, ebendasselbst 89, 365, 1918.

No. Ver. suchs	Datum	Preparat. Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	K-O ₂	CCl ₄ pro kg und Stunde	Naturlich	Gewicht Tieres g	Flauer Versuchs Stdn.	Temperatur Messung o C
Ratte A.											
1395	13. XI.	Nüchtern	2,07	2,67	2,68	0,724	2,04	1,97	6,02	6	28
1396	20. XI.	"	1,30	2,28	2,14	0,774	1,81	1,70	5,78	5,5	29
1397	20. XI.	1/4 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrz. per os	1,24	2,25	1,79	0,913	2,47	1,97	6,85	4	28
1398	24. XI.	Nüchtern	0,74	2,24	2,23	0,730	1,91	1,90	6,41	5	20
1399	26. XI.	1/4 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrz. per os	1,14	2,24	1,63	0,998	2,30	1,68	5,92	4	28-29
1400	29. XI.	1/3 Std. n. Aufn. v. 2 g Rohrz. + 0,5 g Na sulfurosum	0,42	1,89	1,73	0,794	1,98	1,81	7,78	3,3	27
1401	2. XII.	1/2 " " " " + 0,5 g "	0,57	2,46	2,16	0,827	2,06	1,81	6,19	5	28
1402	4. XII.	1/3 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrzucker	0,68	1,97	1,48	0,967	2,06	1,55	5,46	4	28
Ratte B.											
1403	27. XI.	Nüchtern	0,40	2,04	2,00	0,741	1,84	1,80	6,20	5	29
1404	3. XII.	1/3 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrzucker	0,62	2,08	1,61	0,938	2,25	1,74	6,09	4	28
1405	5. XII.	1/2 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrz. + 0,5 g NaHCO ₃	0,49	1,93	1,71	0,815	2,11	1,88	6,43	4	27
Ratte C.											
1406	8. XII.	Nüchtern	0,91	1,61	1,48	0,790	2,18	2,00	6,81	5	27
1407	9. XII.	1/2 Std. nach Aufn. von 2 g Rohrz. (1. und 2. Std.)	0,35	0,75	0,56	0,787	2,51	2,31	7,88	2	28
1408	9. XII.	" " " " (3. und 4. Std.)	0,32	0,77	0,51	1,09	2,59	1,72	6,19	2	28
1409	13. XII.	3/4 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrz. + 0,5 g CaCl ₂ .	0,63	1,29	1,08	0,868	2,19	1,84	6,35	4	27
1410	28. I.	1 Std. nach Aufn. v. 5 g Reis (roh)	1,72	2,41	1,72	1,01	2,45	1,75	6,22	5	28
1411	30. I.	1/2 Std. nach Aufn. v. 5 g Reis (roh) + 0,5 g CaCl ₂	1,15	2,01	1,66	0,880	2,00	1,66	5,85	5	28
Ratte D.											
1412	8. XII.	Nüchtern	1,14	1,83	1,71	0,777	2,26	2,11	7,16	5	28
1413	9. XII.	1/2 Std. nach Aufn. v. 2 g Rohrz. (1. und 2. Std.)	0,36	0,90	0,72	0,908	2,75	2,20	7,66	2	27
1414	9. XII.	" " " " (3. und 4. Std.)	0,67	0,86	0,69	0,905	2,65	2,12	7,39	2	28-29
1415	13. XII.	3/4 Std. nach Aufn. von 2 g Rohrz. + 0,5 g CaCl ₂	0,68	1,49	1,28	0,846	2,33	2,00	6,88	4	27
Ratte E.											
1416	13. I.	1 Std. nach Aufn. v. 6 g Reis (roh)	1,24	3,56	2,81	0,925	1,96	1,58	5,51	6	27
1417	16. I.	1/2 Std. nach Aufn. v. 6 g Reis (roh) + 0,5 g CaCl ₂	1,22	2,91	2,52	0,841	1,73	1,49	5,13	6	27-28
1418	22. I.	1/2 Std. nach Aufn. v. 6 g Reis (roh) + 1 g CaCl ₂ (H ₂ O-frei)	0,81	2,38	1,96	0,882	1,67	1,38	4,77	5	27

Eine besonderes Interesse verdienen das *Dioxyaceton* und die *Lävulose*. Dioxyaceton ist ein wichtiges Umwandlungsprodukt der Hexosen, es besitzt die wichtigsten chemischen und viele der physiologischen Eigenschaften eines Kohlehydrats und wird vom tierischen Organismus leicht in Glykogen umgewandelt. In der ersten Mitteilung wurde festgestellt, daß die Glykogenbildung aus Dioxyaceton durch Phosphatbeigabe vollständig unterdrückt wird. Ich habe nun den Gaswechsel nach Zufuhr von Dioxyaceton, sowie von Dioxyaceton plus Natriumphosphat näher studiert. Verfütterung von Dioxyaceton ruft bei der Ratte die gleichen Gaswechselveränderungen hervor, wie die Verfütterung von Rohr- oder Traubenzucker: der Respirationsquotient steigt an und die Kohlensäureausscheidung nimmt zu. Der Sauerstoffverbrauch erleidet, ebenso wie bei den anderen Kohlehydraten, keine großen Veränderungen. Der Respirationsquotient schwankt nach Zufuhr von Dioxyaceton zwischen 1,0 und 0,9. Wird aber neben Dioxyaceton Dinatriumphosphat einverleibt, so ist die Erhöhung des Respirationsquotienten bedeutend geringer als beim Versuch mit Dioxyaceton allein. Ganz ähnlich verhält sich auch die Kohlensäure. Ihre Ausscheidung wird durch das Phosphat herabgesetzt. In den Versuchen 1421, 1423, 1424 finden wir nach Zufuhr von 2,5 bis 3,0 g Dioxyaceton eine Kohlensäureproduktion pro Kilogramm und Stunde von 2,15, 2,35 und 2,21 g. Im Versuch 1422 wurde neben 2,5 g Dioxyaceton 0,75 g Dinatriumphosphat eingegeben. Die Kohlensäureausscheidung beträgt dann 1,90 pro Kilogramm und Stunde gegenüber 1,92 und 1,85 g in den *Nüchtern*versuchen. Auch der Respirationsquotient nach Dioxyaceton plus Phosphat unterscheidet sich nicht vom Respirationsquotienten des *Nüchtern*umsatzes: 0,767 im Versuch 1422 mit Dioxyaceton und Phosphat gegenüber 0,77 und 0,763 in den *Nüchtern*versuchen. Ein ziemlich gleiches Resultat ergeben die Versuche 1426 bis 1434, die an einem anderen Tiere ausgeführt wurden.

Im Gegensatz zum Dioxyaceton und zu den anderen Kohlehydraten wird der Umsatz der Lävulose durch das Phosphat so gut wie gar nicht geändert. Kohlensäureausscheidung und Respirationsquotient bleiben auf ziemlich der gleichen Höhe, wenn man einmal Lävulose allein, ein anderes Mal Lävulose plus Phosphat gibt. Es mag in diesem Zusammenhang auch darauf hingewiesen werden, daß die Glykogenbildung aus Lävulose durch Phosphatzusatz ebenfalls nicht gehemmt wird (vgl. erste Mitteilung). Wir finden also auch hier einen Parallelismus zwischen der Glykogenbildung und dem Gaswechsel nach Kohlehydratzufuhr. Bei der einen Gruppe von Kohlehydraten (Reis, Rohrzucker, Traubenzucker, Dioxyaceton) setzt das Phosphat sowohl die Umwandlung in Glykogen als auch den Abbau zu Kohlen-

Table 11. Versuche mit Dioxyceton und mit Dioxyceton + Diäthylamphosphat.

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Präparat, Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ g pro kg und Stunde	O ₂ g	Kalorien pro kg und Stunde	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kästchens °C
Ratte A.												
1419	24. I.	Nüchtern	0,67	1,07	1,00	0,777	1,92	1,79	6,10	185,9	3	28
1420	4. II.		1,27	2,08	1,98	0,763	1,85	1,76	5,97	186,8	6	28
1421	10. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 2,5 g Dioxyceton	0,81	1,69	1,33	0,925	2,15	1,68	5,89	197,0	4	27—28
1422	13. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 2,5 g Dioxyceton + 0,75 g Na ₂ HPO ₄	0,98	1,50	1,42	0,767	1,90	1,80	6,11	197,0	4	28
1423	19. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3,0 g Dioxyceton	0,34	0,89	0,71	0,911	2,23	1,78	6,18	200,0	2	28
1424	19. II.	2 1/2 Std. nach Aufn. von 2,0 g Dioxyceton	0,45	0,88	0,63	1,014	2,21	1,58	5,61	199,0	2	28
1425	21. II.	Nüchtern	0,55	1,05	0,97	0,786	1,81	1,67	5,68	193,8	3	27—28
Ratte B.												
1426	24. I.	Nüchtern	0,43	1,17	1,08	0,787	1,91	1,76	6,00	204,4	3	27
1427	4. II.		0,86	2,13	2,04	0,758	1,75	1,68	5,70	202,2	6	27
1428	10. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 2,5 g Dioxyceton	0,56	1,66	1,36	0,887	1,96	1,61	5,58	211,6	4	27
1429	13. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 2,5 g Dioxyceton + 0,75 g Na ₂ HPO ₄	0,73	1,62	1,42	0,829	1,90	1,66	5,70	213,7	4	27—28
1430	19. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3,0 g Dioxyceton	0,28	0,84	0,71	0,860	1,94	1,64	5,67	216,0	2	27
1431	19. II.	2 1/2 Std. nach Aufn. von 3,0 g Dioxyceton	0,31	0,91	0,68	0,972	2,12	1,59	5,59	214,3	2	27—28
1432	21. II.	Nüchtern	0,51	1,21	1,15	0,758	1,87	1,79	6,08	213,7	3	27
1433	24. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Dioxyceton + 1 g Na ₂ HPO ₄	1,25	1,86	1,75	0,772	1,75	1,65	5,59	212,3	5	28
1434	28. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Dioxyceton	1,51	2,14	1,81	0,860	2,23	1,89	6,52	191,5	5	27—28

Tabelle V. Versuche mit Lävulose und mit Lävulose + Phosphat.

Nr. des Versuchs	Datum 1924/25	Präparat. Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	R.-Q.	CO ₂ O ₂ pro kg und Stunde		Kalorien	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
							g	g				
Ratte A.												
1435	15. XII.	Nüchtern	0,35	1,21	1,23	0,715	1,60	1,63	5,46	252,0	3	28
1436	20. XII.	"	0,27	1,37	1,36	0,732	1,67	1,65	5,57	274,2	3	28
1437	17. I.	"	0,37	1,37	1,36	0,732	1,55	1,54	5,18	294,4	3	28
1438	2. II.	40 Min. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,67	2,61	2,47	0,768	1,72	1,63	5,54	202,8	5	28—29
1439	5. II.	25 " + 1 g Dinatriumphosphat	0,89	2,72	2,64	0,746	1,75	1,70	5,76	311,2	5	28
1440	7. II.	Nüchtern	0,57	1,48	1,45	0,741	1,66	1,63	5,49	297,2	3	28
1441	9. II.	40 Min. nach Aufn. von 3 g Lävulose + 0,5 g Dinatriumphosphat	1,11	2,64	2,54	0,755	1,78	1,71	5,80	296,8	5	28—29
1442	12. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3,0 g Lävulose	0,87	2,60	2,43	0,777	1,77	1,66	5,64	293,0	5	28—29
1443	16. II.	1/2 " + 1 g Dinatriumphosphat	0,64	2,65	2,60	0,740	1,78	1,75	5,91	297,0	5	28—29
1444	18. II.	Nüchtern	1,46	2,62	2,55	0,746	1,66	1,61	5,45	287,4	5,5	28—29
1445	20. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose	1,03	2,56	2,30	0,809	1,77	1,66	5,43	289,5	5	28—29
1446	29. II.	Nüchtern	1,15	2,32	2,29	0,736	1,63	1,61	5,43	284,6	5	28
Ratte B.												
1447	20. XII.	Nüchtern	0,33	1,19	1,17	0,739	1,68	1,65	5,56	236,5	3	28
1448	"	"	0,41	1,33	1,28	0,755	1,73	1,66	5,64	256,4	3	28
1449	17. I.	"	1,17	2,58	2,36	0,794	1,88	1,72	5,86	274,3	5	28
1450	2. II.	20 Min. nach Aufn. von 3,0 g Lävulose	1,08	2,45	2,41	0,738	1,78	1,75	5,91	275,2	5	28—29
1451	5. II.	25 " + 1 g Na ₂ HPO ₄	0,55	1,31	1,22	0,780	1,66	1,54	5,24	263,7	3	28
1452	7. II.	Nüchtern	1,53	2,45	2,23	0,798	1,86	1,69	5,78	263,4	5	28—29
1453	9. II.	25 Min. nach Aufn. von 3,0 g Lävulose	1,20	2,47	2,31	0,777	1,86	1,74	5,93	264,9	5	28—29
1454	12. II.	1/2 Std. " + 0,5 g Na ₂ HPO ₄	0,82	2,36	2,09	0,820	1,77	1,57	5,37	266,5	5	28—29
1455	16. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3,0 g Lävulose	1,05	2,41	2,21	0,792	1,81	1,66	5,66	266,2	5	28—29
1456	20. II.	1/3 " + 1 g Dinatriumphosphat	0,91	2,31	2,24	0,740	1,61	1,56	5,26	261,5	5,5	28—29
1457	9. II	Nüchtern	0,91	2,31	2,24	0,740	1,61	1,56	5,26	261,5	5,5	28—29

Tafel VI. Versuche mit Lävulose und mit Lävulose + Dinatriumphosphat.

Nr. des Versuchs	Datum	Preparat. Beginn des Versuchs	H ₂ O g	CO ₂ g	O ₂ g	K-Q	pro kg und Stunde			Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
							CO ₂ g	O ₂ g	Kalorien			
Ratte C.												
1459	20. XII.	Nüchtern	0,54	1,08	1,04	0,754	1,81	1,74	5,89	198,9	3	27
1460	17. I.	25 Min. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,54	1,18	1,12	0,757	1,74	1,69	5,72	229,0	3	27
1461	2. II.	+ 1 g Dinatriumphosphat	1,16	1,99	1,92	0,753	1,75	1,69	5,71	227,2	5	27
1463	5. II.	40 Min. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,96	1,89	1,81	0,763	1,76	1,67	5,67	215,0	5	27
1464	7. II.	Nüchtern	0,50	1,11	1,08	0,747	1,69	1,65	5,57	218,5	3	27
1465	9. II.	20 Min. nach Aufn. von 3 g Lävulose	1,15	1,87	1,75	0,776	1,80	1,68	5,71	208,3	5	27
1466	12. II.	+ 0,5 g Dinatriumphosphat	1,02	2,05	1,85	0,805	1,96	1,77	6,04	209,4	5	27—28
1477	16. II.	1/2 " Na ₂ HPO ₄ " 3 g "	0,68	2,06	1,95	0,767	1,92	1,81	6,15	215,0	5	27—28
1478	18. II.	Nüchtern	0,79	1,90	1,86	0,742	1,64	1,61	5,42	210,6	5,5	27—28
1479	20. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,90	1,88	1,63	0,838	1,78	1,54	5,31	211,1	5	27—28
1480	23. II.	Nüchtern	0,65	1,67	1,65	0,735	1,63	1,61	5,43	205,0	5	27
Ratte D.												
1481	2. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,74	2,34	1,84	0,924	1,92	1,51	5,27	243	5	27—28
1482	5. II.	1/2 " " " " 3 g "	0,71	1,80	1,57	0,833	1,65	1,44	4,95	217,8	5	28
1483	7. II.	+ 1 g Na ₂ HPO ₄ " " " " " "	0,30	1,30	1,20	0,787	1,87	1,73	5,89	231,5	3	28
1484	9. II.	Nüchtern	0,72	2,25	1,65	0,991	2,00	1,47	5,18	225	5	28
1485	12. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose	1,12	2,39	1,91	0,909	2,04	1,63	5,68	234	5	28
1486	16. II.	+ 0,5 g Na ₂ HPO ₄ " " " " " "	0,97	2,31	1,97	0,852	1,93	1,65	5,67	239	5	27—28
1487	18. II.	Nüchtern	1,16	2,64	2,47	0,776	2,08	1,95	6,62	230,6	5,5	28—29
1488	20. II.	1/2 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose	0,82	2,31	2,05	0,819	1,99	1,77	6,05	232	5	28—29
		+ 1 g Na ₂ HPO ₄ " " " " " "										

Tabelle VI. Versuche mit Lävulose und mit Lävulose + Dinatriumphosphat. (Fortsetzung.)

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Präparat. Beginn des Versuchs	H ₂ O		CO ₂		O ₂		R.-Q.	CO ₂		O ₂		Kalorien pro kg und Stunde	Gewicht des Tieres g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kästchens °C
			g	g	g	g	g	g		g	g	g	g				
1489	23. II.	Nüchtern Am 24. II. 0,1 g getrocknete Schilddrüse + 0,5 g Na ₂ HPO ₄ ; am 25. II. 0,1 g getrocknete Schilddrüse + 0,5 g Na ₂ HPO ₄ ; am 26. II. 0,05 g getrocknete Schilddrüse + 0,5 g Na ₂ HPO ₄	1,06	2,22	2,16	0,747	1,90	1,85	6,26	233	5	28					
1490	27. II.	Nüchtern	0,84	1,63	1,53	0,774	2,36	2,22	7,52	230	3	27—28					
1491	27. II.	1/4 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose 2. III., 3. III. je 0,05 g getrocknete Schilddrüse	1,22	2,76	2,19	0,916	2,68	2,12	7,41	229	4,5	28—29					
1492	4. III.	1 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose + 1 g Na ₂ HPO ₄	1,50	3,27	3,11	0,764	2,60	2,48	8,39	251,2	5	27—28					
1493	6. III.	Nüchtern	2,05	3,38	3,23	0,760	2,27	2,17	7,34	248	6	27—28					
1494	9. III.	6. III., 7. III. und 8. III. je 0,05 g getrocknete Schilddrüse	1,41	3,13	2,53	0,899	2,64	2,13	7,42	237	5	27—28					
1495	13. III.	3/4 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose 11. III., 12. III. je 0,05 g getrocknete Schilddrüse	1,25	3,23	2,76	0,850	2,53	2,16	7,45	255	5	26—27					
1496	17. III.	1/4 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose + 1 g Na ₂ HPO ₄	2,03	3,36	3,10	0,787	2,57	2,37	8,06	262	5	28—29					
1497	19. III.	18. III. 0,05 g getrocknete Schilddrüse	1,42	2,98	2,32	0,929	2,37	1,84	6,59	252	5	27—28					
1498	20. III.	1/4 Std. nach Aufn. von 3 g Lävulose Nüchtern	1,66	3,21	3,08	0,757	2,08	1,99	6,76	257	6	27—28					

Ratte D (Fortsetzung).

säure und zu Wasser herab. Bei der Lävulose hat dagegen das Phosphat sowohl auf die Glykogenbildung als auch auf die Oxydation keinen Einfluß. Es ist noch die Tatsache zu betonen, daß bei vielen Ratten der Gaswechsel nach Lävulosezufuhr sich anders verhält, wie nach Eingabe von Glucose oder von anderen Kohlehydraten. Die Lävulose wird bei der Ratte meistens ohne Erhöhung der Kohlensäureproduktion und des Respirationsquotienten umgesetzt. Beim Menschen, beim Hund und bei den meisten anderen Tieren ruft die Eingabe von Lävulose stets einen Abstieg der CO_2 und des Respirationsquotienten hervor. In den Versuchen 1435 und 1480 handelt es sich um drei Tiere, bei welchen die Lävulosezufuhr keine wesentliche Erhöhung des Respirationsquotienten ergibt. Hier ist auch keine Wirkung eines Phosphatzusatzes festzustellen. Das Tier der Versuche 1481 und 1498 verarbeitet dagegen die Lävulose so, daß es zu einer Erhöhung des Respirationsquotienten kommt. Letzterer beträgt nach Eingabe von 3 g Lävulose 0,85 bis 1,0 (Versuche 1481, 1484 und 1486). In diesem Falle, wo also die Lävulose ähnlich den anderen Kohlehydraten unter Freiwerden beträchtlicher Kohlensäuremengen verarbeitet wird, tritt die Wirkung des Phosphats sehr deutlich in Erscheinung. Jedesmal, wenn man der Lävulose Dinatriumphosphat zugibt, werden Respirationsquotient und CO_2 -Bildung deutlich herabgesetzt (vgl. Versuche 1482, 1485 und 1488). Auch eine Fütterung des Tieres mit Schilddrüse ändert am Verhalten der Lävulose und des Phosphats nichts, indem auch nach Thyreoideaufuhr die Lävulose allein eine höhere Kohlensäureausscheidung und einen höheren Respirationsquotienten ergibt als Lävulose plus Phosphat.

Zusammenfassung.

1. In Versuchen an Ratten wurde die Bedeutung der Mineralstoffe für das Verhalten der Kohlehydrate im tierischen Organismus untersucht. Es zeigte sich, daß das Schicksal der Zuckerarten im Tierkörper wesentlich von den gleichzeitig mit aufgenommenen Elektrolyten bestimmt wird. Die Erhöhung der Kohlensäurereproduktion, welche jede normale Verbrennung der Kohlehydrate begleitet, ist bedeutend geringer, oder sie fehlt vollkommen, wenn man neben dem Kohlehydrat Salze der Phosphorsäure oder anderer Säuren verfüttert. Besonders stark wirksam sind die Alkaliphosphate, das Calciumchlorid und das Natriumbicarbonat.

2. Das hexosediphosphorsaure Calcium, welches den Phosphorsäurerest chemisch gebunden enthält, verhält sich im Organismus anders als die gewöhnliche Hexose. Auch nach Zufuhr von hexosediphosphorsauerm Calcium kommt es, ebenso wie nach Darreichung von Hexose plus anorganisches Phosphat, zu keiner so hohen Kohlen-

säureproduktion, wie es bei einer raschen Verbrennung dieser Substanz zu erwarten wäre.

3. Auf die Oxydation der Triose Dioxyaceton übt das Phosphat den gleichen hemmenden Einfluß aus wie auf die Verarbeitung der Glucose, des Rohrzuckers und der Reistärke. Kohlensäureausscheidung und Respirationsquotient sind nach Dioxyaceton plus Phosphat geringer als nach Dioxyaceton allein.

4. Abweichend von den übrigen Kohlehydraten verhält sich die Lävulose, auf deren chemischen Umsatz im Tierkörper das Phosphat meistens keinen merkbaren Einfluß hat.

**Zur Frage der Eiweißkörper mit Bence-Jonesscher Reaktion.
Zugleich ein Beitrag
zum Problem der Reversibilität der Hitzegerinnung¹⁾.**

Von
R. Willheim.

(Auf Grund gemeinsam mit *L. Ball* und *M. Mandula* ausgeführter
Untersuchungen.)

(Aus dem chemisch-experimentellen Laboratorium der Gesellschaft für
Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit und dem medizinisch-
chemischen Universitätslaboratorium in Wien.)

(Eingegangen am 8. November 1926.)

Die Zahl der Veröffentlichungen über den *Bence-Jonesschen Eiweißkörper* ist ungemein groß. Dies erklärt sich hauptsächlich aus der Tatsache, daß die relative Seltenheit derartiger Fälle und die ebenso sonderbare, wie leicht nachweisbare Eigenschaft, bei etwa 60° zu koagulieren, aber bei Siedetemperatur wieder in Lösung zu gehen, wohl die meisten Beobachter veranlaßt hat, ihre Erfahrungen zu publizieren. Bedeutend geringer ist schon die Zahl jener Arbeiten, die nicht sowohl klinisch oder rein deskriptiv chemisch gehalten sind, sondern auf Grund systematischer Untersuchungen Aufschluß über das Wesen bzw. die Zugehörigkeit des Körpers zu geben versuchen. Die Spärlichkeit der Ergebnisse derartiger Bestrebungen bedingt die Kürze der folgenden Übersicht, die keineswegs eine vollständige sein will, sondern nur einige Marksteine in der Entwicklung dieses Problems hervorzuheben beabsichtigt.

Nach der grundlegenden Mitteilung von *Bence-Jones* (1) im Jahre 1848, war es *Kühne* (2), der 1884 den Körper auf Grund der Hitzelöslichkeit seiner Fällungen als Albumose ansprach. Den Schwierigkeiten, die dieser Annahme aus der Koagulierbarkeit erwachsen, sucht *Huppert* (3) dadurch zu begegnen, daß er den Körper zu den Heteroalbumosen zählte, denen die Eigenschaft zukommt, sich in der Hitze zu trüben. Eine große Reihe von Autoren zählte in der Folge den Körper zu den Albumosen. *Mathes* (4) und *Ellinger* (5) hingegen lehnten in Arbeiten aus den Jahren 1896 bzw. 1898

¹⁾ Auszugsweise mitgeteilt auf der 86. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Düsseldorf. September 1926.

unter Berufung auf die Koagulierbarkeit und gewisse Fällungsbedingungen die Zugehörigkeit zu den Verdauungsalbumosen ab. *Magnus-Levy* (6) zeigte dann in einer sehr eingehenden Behandlung des Gegenstandes vom Jahre 1900, daß nicht nur die Fällungsreaktionen, sondern auch die Zusammensetzung des Körpers eine Identität mit den Heteroalbumosen ausschließe.

Vollends war der Albumosentheorie der Boden entzogen, als die Untersuchungen von *Grutternink* und *de Graaf* (7) und *Abderhalden* und *Rostowski* (8) lehrten, daß es sich um ein genuines Eiweiß handle. Die Beweisführung dieser Autoren beruhte darauf, daß aus dem Protein wirkliche Albumosen durch Verdauung gewonnen werden konnten und daß das Ergebnis der Hydrolyse durchaus gegen ein tiefer abgebautes Eiweiß spricht; auch zeigten die Untersuchungen *Abderhalden* und *Rostowski*, daß sich der Eiweißkörper immunbiologisch wie ein art eigenes Eiweiß verhält, daß sonach die seinerzeitige Annahme *Magnus-Levys*, es handle sich um ein Nahrungseiweiß, nicht zutrifft.

Im Jahre 1907 stellte *Pauli* (9) fest, daß mittels verdünnter Säure-rhodanatlösungen sich im Serum Eiweißniederschläge erzielen lassen, die hitzelöslich sind. Bei der Diskussion dieses Befundes gab er dem Gedanken Ausdruck, daß hier eine Beziehung zum *Bence-Jonesschen* Eiweißkörper gegeben sein könnte. Doch blieb diese Anregung, die Frage ihres speziellen Charakters zu entkleiden und sie von allgemeinen eiweißchemischen Gesichtspunkten aus zu studieren, in der Zukunft unbeachtet. Wie die vorliegende Arbeit zu zeigen versucht, mit Unrecht.

Eine eigenartige Ansicht wurde im gleichen Jahre von *J. Ville* und *E. Derrien* (10) geäußert. Sie nahmen an, daß der in den einzelnen Fällen beobachtete Körper nicht immer der gleiche sei, sondern daß es sich um verschiedene Proteine handle, die das erwähnte charakteristische Verhalten beim Erhitzen gemeinsam haben. Mangels hinreichender Belege konnte sich diese Vermutung jedoch nicht allgemein durchsetzen, so daß gewöhnlich auch heute vom *Bence-Jonesschen* Eiweißkörper wie von einem chemischen Individuum gesprochen wird. Als ein ganz wesentlicher Fortschritt ist die 1911 erschienene Arbeit von *Hopkins* und *Savory* (11) zu werten. An drei Fällen konnten diese Autoren zeigen, daß die Eigenschaft der Löslichkeit des Koagulats in der Hitze an die Anwesenheit von anderen Substanzen, speziell Elektrolyten, geknüpft ist, von denen sie daher annahmen, daß ihre Bindung an das Eiweiß bei 100° beständiger sei als bei niedriger Temperatur. Die vergleichsweise Untersuchung der einzelnen Kationen und Anionen ließ sie die erhöhte Bedeutung mehrwertiger Ionen für die Hitze-löslichkeit erkennen und zeigte weiter eine Reihenfolge, die derjenigen gleicht, welche für die Lösung von Globulinen Geltung hat.

In einer im Jahre 1924 auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Innsbruck mitgeteilten Untersuchung eines *Bence-Jonesschen* Eiweißkörpers wurde vom Verfasser an Hand von qualitativen Reaktionen auf die bedeutenden Abweichungen in den Ergebnissen der einzelnen Untersuchungen hingewiesen. Die Resultate dieser Arbeit veranlaßten Herrn Dozenten *F. Haurowitz* in Prag, uns einen von ihm isolierten Körper zur Verfügung zu stellen, wofür ihm auch an dieser Stelle verbindlichst gedankt sei. Da wir überdies noch Gelegenheit hatten, einen weiteren Fall dieses so un-

gemein seltenen Produktes bei einem Patienten der zweiten medizinischen Klinik in Wien festzustellen (leider erst kurz vor dessen Tode, so daß das Material nur in spärlichem Ausmaß zur Verfügung stand), waren wir in der Lage, durch Vergleich eigener Untersuchungen das Problem anzugehen. Allen drei Körpern lag eine Erkrankung an Myelom zugrunde, wie ja überhaupt die Ausscheidung des *Bence-Jones*-schen Eiweißkörpers fast ausschließlich bei Myelom beobachtet wurde.

Der Kürze der Darstellung halber wird der von der zweiten medizinischen Klinik herrührende Körper A, der aus Prag stammende mit B und der zuerst angeführte mit C bezeichnet. Ein weiterer, mir von Herrn Dozenten *E. Zack* freundlichst überlassener, durch Fällung mit Salzsäure und Waschen mit Alkohol hergestellter, über 10 Jahre konservierter Körper (D) war leider so unlöslich geworden, daß er nur zu ganz vereinzelt Untersuchungen herangezogen werden konnte.

Verhalten bei langsamem Erhitzen.

Eiweißgehalt 0,5 Proz., NaCl 0,3 Proz.

	Koagulations- temperatur °C	Klärungs- temperatur °C	Verhalten bei Abkühlung
A	55—60	70	neuerliche Trübung
B	51—56	87	" "
C	56—58	85—100	" "

Fällungsgrenzen gegen gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung [nach *E. P. Pick* (12)].

	Untere Fällungsgrenze	Obere Fällungsgrenze
A	5,0	6,7
B	4,2	5,6
C	2,8	4,6

Goldzahl [nach *Schulz* und *Zsigmondy* (13)].

A	0,40—0,60
B	0,20—0,24
C	0,02—0,03

Isoelektrischer Punkt.

[*Paulische* Alkoholmethode (14).] (Pufferung: Essigsäure-Acetat.)

	pH
A	4,046
B	4,268
C	4,745

Refraktometrische Messung [nach *E. Reiss* (15)].

	Anteil von N_D für 1 Proz. Eiweiß
A	0.001 82
B	0.001 73
C	0.001 67

Optische Drehung.

	α_D^{18}
A	— 47.62°
B	— 82.51
C	— 32.50

Elementaranalyse.

	C Proz.	H Proz.	N Proz.	S Proz.
A	49.83	6.11	14.97	1.33
B	48.77	6.66	15.31	0.99
C	53.65	7.60	14.83	0.50

Endständige Aminogruppen (formoltitrimetrisch).

	Aminostickstoff- anteil des Gesamt- stickstoffs Proz.
A	5.22
B	4.91
C	5.40

Jodverbindungen [nach *Blum* und *Strauss* (16)].

	Maximal-J Proz.	Kern-J Proz.	N-J Proz.	Kern-J : N-J
A	9.87	7.43	2.44	3 : 1
B	9.13	6.81	2.32	3 : 1
C	12.50	10.00	2.50	4 : 1

Methylprodukte [gewonnen mittels Dimethylsulfat nach *Edlbacher* (17)].

	OCH ₃ Proz.	N·CH ₃ berechnet in Proz. CH ₃	N-Methylzahl
A	5.59	2.46	17.40
B	2.45	3.19	22.80
C	0	1.99	13.78
D	1.40	2.38	15.9

Beim Körper C konnte trotz wiederholter Untersuchung keine Methylierung am Sauerstoff nachgewiesen werden, ein Befund, der bei einem nativen Eiweiß wohl noch nicht beobachtet wurde und eine befriedigende Erklärung derzeit kaum zuläßt.

Tryptophanbestimmung [nach O. Fürth und Z. Dische (18)].

	Proz.
A	1,03
B	0,85
C	5,27

Hydrolyse [nach D. van Slyke (19)].

	NH ₃	Melamin-N	Gesamt-N der Basen	Cystin-N	Arginin-N	Histidin-N	Lysin-N	Amino-N im Filtrat der Basen	Nicht Amino-N im Filtrat der Basen
B	4,92	2,95	32,53	0	— 6,11	14,82	11,60	54,73	5,05
Körper von Lüscher	9,43	0,90	23,10	1,25	9,27	4,54	8,04	61,69	5,15

Da die Menge der Körper A und C für die Hydrolyse nicht ausreichte, wird zum Vergleich das Ergebnis einer Hydrolyse von Lüscher (20) angeführt.

Der auffallende Gegensatz zwischen dem Schwefelgehalt von 1 Proz. und der negativen Cystinfraktion dürfte sich einerseits mit den etwa 50 Proz. betragenden Verlusten an Cystin während der Säurehydrolyse und der Löslichkeit des Phosphorwolframats dieser Aminosäure erklären, andererseits wird man jedoch auch an andere schwefelhaltige Bestandteile denken müssen.

Die beträchtlichen, außerhalb der Fehlergrenzen liegenden Differenzen zwischen den einzelnen Körpern bilden einen Beweis dafür, daß im sogenannten Bence-Jonesschen Protein kein chemisches Individuum zu erblicken ist, daß hier vielmehr chemisch ganz verschieden gebaute Eiweißkörper vorliegen können. Die bei dem hitzeokoagulierten Eiweißkörper bei weiterem Erwärmen eintretende Löslichkeit ist nach diesem Befunde eine sozusagen gemeinsame Marke, die verschiedenen Proteinen eigen sein kann. Man ist tatsächlich, wie schon J. Ville und E. Derrien vermuteten, berechtigt, statt von einem Bence-Jonesschen Protein, von Eiweißkörpern mit Bence-Jonesscher Reaktion zu sprechen.

Diese Feststellung erlaubt biologisch eine gewisse Verwertung. Es erscheint nämlich bei diesem Sachverhalt unwahrscheinlich, im Bence-Jonesschen Eiweißkörper ein spezifisches Sekretionsprodukt der Tumorzelle zu erblicken, von dem man wohl größere Konstanz

erwarten würde. Eher könnte man mit *Barrensheen*¹⁾ annehmen, daß wir hier verschiedene Stadien eines unfertigen oder von einem kranken Knochenmark abwegig gebildeten Serumeiweißes vor uns haben. Da nun, was übrigens schon *Magnus-Levy* betont, die oft kleinen Tumoren kaum die Ursache so gewaltiger Mengen pathologischen Eiweißes sein können, ist es naheliegend, bei Myelom einen ungleich größeren Teil des Knochenmarks als erkrankt anzunehmen. als pathologisch anatomisch nachweisbar ist.

In chemischer Hinsicht allerdings bildet die Erkenntnis von der Verschiedenartigkeit der Eiweißkörper mit *Bence-Jonesscher* Reaktion — so interessant sie auch sein mag — natürlich nur eine Verschiebung des Problems, das nunmehr zu lauten hätte: Welche strukturelle bzw. physikalische Eigenschaft muß ein hitzekoagulables Protein haben, um bei weiterem Erwärmen in Lösung zu gehen? Die folgenden Untersuchungen und ihre Ergebnisse stellen lediglich einen tastenden Versuch dar, in das Geheimnis dieser sicherlich sehr komplizierten Verhältnisse einzudringen. Zunächst mußte an die grundlegende Feststellung von *Hopkins* und *Savory* angeknüpft werden, daß die Löslichkeit des Hitze-koagulats an die Anwesenheit anderer gelöster Körper, speziell der Elektrolyte gebunden sei. Diese Beobachtung forderte zum Studium fortschreitend salzfrei gemachter, also elektrodialysierter Proteine heraus. Die Elektrodialyse wurde aus unten zu besprechenden Gründen ungewöhnlich vorsichtig, bei einer Klemmenspannung von 110 Volt und einer Stromdichte von 0,5 mA/qcm in einem 50 ccm fassenden *Paulischen* Elektrodialysierapparat an einem gründlichst gegen Leitungswasser dialysierten Körper (1 Proz.) vorgenommen.

K	Trübungspunkt °C	Hitzelöslichkeit
1.52 · 10 ⁻⁶	53	+
9.44 · 10 ⁻⁵	55	0
6.72 · 10 ⁻⁵	56	0
4.05 · 10 ⁻⁵	58	0

Man sieht, daß der Eiweißkörper bei einer Elektrolytkonzentration, die noch weit über dem erreichbaren Minimum liegt, die Hitzelöslichkeit verliert. Tatsächlich bedarf es ja auch zu diesem Behuf gar nicht der Elektrodialyse, die einfache Dialyse gegen destilliertes Wasser erreicht mit Sicherheit dieses Stadium. Wird nun die Elektrodialyse weiter fortgesetzt, so kommt es immer zum teilweisen oder auch völligen Ausfallen des Körpers, besonders rasch jedoch bei einer höheren

¹⁾ Private Mitteilung.

Klemmenspannung. Der solcher Art eben ausgefallene Körper kann durch Neutralsalzlösungen ohne weiteres gelöst werden, verhält sich also hier wie ein Globulin. Wird jedoch die Elektrodialyse über die erfolgte Ausfällung hinaus noch längere Zeit fortgesetzt, oder wird der ausgefallene und mittels Salz gelöste Körper neuerlich elektrodialysiert, so wird er schließlich auch in Neutralsalzlösungen, ja selbst bei Siedehitze unlöslich. Die Eiweißkörper mit *Bence-Jonesscher* Reaktion sind sonach gegen die Elektrodialyse sehr empfindlich und erfordern bei diesem Verfahren Vorsicht. Eine Probe darauf, daß in unseren Versuchen durch die Elektrodialyse keine tiefere Veränderung gesetzt wurde, bildet die Wiederherstellung des charakteristischen Verhaltens bei Erhitzung und Abkühlung nach Elektrolytzusatz. Für die weiteren Versuche wurde das bis zu $K = 4,5 \cdot 10^{-5}$ elektrodialysierte Protein auf einen Gehalt von 0,3 Proz. NaCl gebracht und mit dieser Lösung nun der Vorgang der Hitzelöslichkeit und der bei der Abkühlung erfolgenden neuerlichen Flockung verfolgt. Dabei ergab sich nun bei allen drei Eiweißkörpern folgendes merkwürdige Verhalten. Es war schon vorher beobachtet worden, daß die Wiederausflockung beim Abkühlen meistens nicht die Intensität des ursprünglichen Hitze-koagulats hat und ein deutlich eiweißhaltiges Filtrat liefert (Sulfosalicylsäureprobe). Wird nun das Abkühlungspräzipitat neuerlich erhitzt, so tritt, wie es der *Bence-Jonesschen* Reaktion entspricht, neuerliche Lösung ein, um beim Abkühlen wieder ein Präzipitat zu liefern, aber wiederum — und das scheint bemerkenswert — ein quantitativ unvollständiges Präzipitat. Schließlich konnte man bei entsprechend zahlreichen Wiederholungen immer zu einem Punkte gelangen, wo das in der Hitze gelöste Präzipitat bei der folgenden Abkühlung kaum mehr als eine eben merkliche Trübung lieferte. Da nun diese sozusagen kältestabile Lösung nicht mehr durch Hitze koagulierte, könnte man an ein durch das wiederholte Erhitzen zertümmertes, hydrolysiertes Eiweiß denken. Dieser Auffassung standen jedoch folgende Befunde entgegen. Erstens konnte in dieser kältestabilen Lösung keine Zunahme der formoltitrierbaren Aminogruppen gegenüber dem nativen Körper nachgewiesen werden, und zweitens war die Viskosität nicht etwa vermindert, wie man es bei einer Hydrolyse wohl hätte annehmen müssen, sie war im Gegenteil sogar etwas erhöht.

Eiweißgehalt: 1,5 Proz.	$n/10 \text{ Mg SO}_4$
Nativ $e = 1,028$	Nach wiederholtem Kochen $e = 1,044$

Dieses ließ eher an eine im Laufe der wiederholten Eingriffe erfolgte Hydratation als Ursache der eingetretenen Kälte- bzw. Hitze-

stabilität denken, welcher Auffassung auch das Verhalten gegenüber Alkohol entsprach: er vermochte nur eine Trübung, nie eine Flockung hervorzurufen. War nun diese Auffassung richtig, so konnte allenfalls, durch Änderung der Reaktion, der Ionisationszustand und damit der Hydratationszustand geschwächt und solcherart der neue Körper, für den wir vorderhand die Bezeichnung Modifikation B der Proteine mit *Bence-Jonesscher* Reaktion vorschlagen, der nativen Modifikation A angegliedert werden. Von der, wie sich später herausstellen sollte, irrigen Ansicht ausgehend, daß es beim wiederholten Kochen vornehmlich zu einer Austreibung der CO_2 komme, wurde dieses Gas versuchsweise in die Lösung der Modifikation B eingeleitet. Der Erfolg war, daß mit einem Schlage Hitzekoagulabilität und Alkoholflockung wieder hergestellt waren. Da das Hitzekoagulat die typische *Bence-Jonessche* Hitzelöslichkeit zeigte, konnte die Erscheinungsfolge von früher wieder ablaufen. Nach etlichen Erhitzungen und Abkühlungen, bei denen der Körper in typischer Weise, wenn auch in immer abnehmender Dichte ausfiel, bekam man schließlich eine klare Lösung, der durch CO_2 neuerlich Koagulationsvermögen erteilt werden konnte. Dieses Verhalten ist schon im Hinblick auf die Theorie der Koagulation interessant, denn diese manifestiert sich in vorliegendem Falle als ein reversibler, demnach ohne Denaturierung stattfindender Vorgang. Man stand ja auch bei *Bence-Jonesschem* Protein auf dem Standpunkt, daß es bei der Koagulation zu einer Denaturierung komme, und erblickte ihren Ausdruck in der Wiederflockung beim Abkühlen. Bei der Modifikation B ist jedoch mit einer hohen Wahrscheinlichkeit dargetan, daß das in der Siedehitze gelöste Koagulat dem Körper vor der Koagulation gleichgesetzt werden kann, denn es ist wieder koagulabel. Die Reversibilität eines Koagulats ist nichts prinzipiell Neues. *Michaelis* und *Rona* (21) lösten Koagulate in Säure und gelangten nach der Neutralisierung, *Spiegel-Adolf* (22) löste sie in schwacher Lauge und gelangte nach der Elektrodialyse zu wiederkoagulablen Produkten. Diese Feststellung, daß in der Hitze gelöstes Koagulat mit dem noch nicht koagulierten Körper identisch ist, führt weiter zu dem interessanten Schluß, daß wir im Falle der *Bence-Jonesschen* Proteine eine Flockung vor uns haben, die bei einer bestimmten Koagulationstemperatur eintritt, gleichgültig, ob diese durch Erhitzen einer kälteren oder aber durch Abkühlung einer heißeren Lösung erreicht wird. Mit dieser Auffassung steht im Einklang, daß die gleichen Zusätze, die die Hitzekoagulation verhindern, wie Harnstoff, Rhodankalium usw., auch die Kältefällung vereiteln. Bei der Reproduktion dieser Versuche muß beachtet werden, daß die Modifikation B bei Anwesenheit von NaCl als Elektrolyt von vornherein nur in sehr verdünnter Lösung gewonnen werden kann. Dies vor allem

deshalb, weil schon die Ausgangslösung des nativen Körpers verdünnt sein muß (etwa 0,1 Proz.), denn im gegenteiligen Falle kommt es nur äußerst langsam oder auch gar nicht zur Bildung des kältestabilen Körpers. Aber selbst von dieser verdünnten Ausgangslösung geht ein Teil verloren, indem er während der Gerinnung verklumpt und überhaupt nicht in Lösung geht. Diese letzte Beobachtung machte bei wiederholtem Erhitzen und Abkühlen schon *Magnus-Levy*, und es gelang ihm, wie er berichtet, seinen Körper auf diese Weise vollkommen abzuscheiden. Dies dürfte unseres Erachtens darauf zurückzuführen sein, daß dieser Autor eben eine relativ konzentrierte Lösung verwendet hat. Um eine Verklumpung tunlichst zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Erhitzung nicht über freier Flamme, sondern im Wasserbad vorzunehmen. Gelingt es, solcherart konzentriertere Lösungen der Modifikation B zu gewinnen, und leitet man in diese CO_2 ein, so beobachtet man oft schon in der Kälte eine deutliche Trübung. Wesentlich erleichtert wird die Herstellung konzentrierterer Lösungen der Modifikation B durch die Verwendung mehrwertiger Elektrolyte, z. B. MgSO_4 .

Was nun die Rolle der CO_2 anlangt, so ergibt sich nun die Frage, ob hier eine Wirkung des HCO_3 -Ions vorliegt, oder ob die ausschlaggebende Rolle dem Säurecharakter der CO_2 zukommt. Dieses letztere ist nun der Fall, denn mittels NaHCO_3 angestellte Versuche lieferten ein durchweg negatives Resultat: Das in Verlust geratene Ausflockungsvermögen konnte nicht wieder erzielt werden. Anders bei Zusatz einer entsprechenden Menge sehr verdünnter Weinsäure, Citronensäure usw. Bei diesen Versuchen konnte ohne weiteres die Koagulation wieder erreicht und dieses Koagulationsvermögen jetzt auch durch wiederholtes Kochen nicht aufgehoben werden. Damit ist der Grund des Ausbleibens der Kältefällung aufgeklärt. Die für die Flockung notwendige schwach saure Reaktion wird durch die Austreibung der CO_2 aufgehoben. Es ist jedoch zu betonen, daß diese Feststellung für die Hitzegerinnung des nativen Körpers (Modifikation A) nicht gelten kann; denn wäre der native Körper bei seinem Koagulationsvermögen so wie die Modifikation B von einem Wasserstoffionen-spender abhängig, dann wäre es nicht einzusehen, warum der gründlich elektrodialysierte Körper keine Änderung seiner Koagulierbarkeit zeigt. Dieser prinzipielle Gegensatz zwischen den beiden Modifikationen läßt sich auch durch folgenden Versuch veranschaulichen. Es wurde durch die mit CO_2 versetzte und demnach koagulierbare Lösung der Modifikation B so lange CO_2 -freie Luft durchgeleitet, bis eine Baryt-laugevorlage keinerlei Trübung mehr zeigte. Die Koagulierbarkeit war nun verloren gegangen. Der gleiche Versuch an dem nativen Körper, Modifikation A, ausgeführt, änderte nichts am Koagulationsvermögen.

Wenn nun auch nach dem Dargelegten die Modifikation A in wichtigen Punkten von A abweicht, so muß doch andererseits auch betont werden, daß sie die fundamentalen Elemente der *Bence-Jonesschen* Reaktion — Koagulierbarkeit und Hitzelöslichkeit des Koagulats sowie anderer Fällungen — in typischer Weise beibehalten hat. Sie erschien uns deswegen für eine Untersuchung über die Natur der hitzegelösten Phase des nativen Körpers mit Vorbehalt geeignet. In dieser Hinsicht muß vor allem beachtet werden, daß Anhaltspunkte für die Annahme einer erhöhten Hydratation (vermehrte Viskosität, verminderte Alkohol-fällbarkeit) gegeben sind, und daß für diese vermehrte Hydratation vor allem eine erhöhte Ionisation verantwortlich zu machen wäre. Nun ist ja nach den älteren Auffassungen *Wo. Paulis* eine Erhöhung der Ionisation und Hydratation des Eiweißes vornehmlich die Folge einer durch Säure- oder Laugenzusatz hervorgerufenen Eiweißsalz-bildung. Ein derartiger salzbildender Zusatz findet jedoch in unserem Falle nicht statt. Weiter war daran zu denken, daß es durch vermehrte Addissoziation von Ionen (am ehesten natürlich H- oder OH-Ionen) zu einer erhöhten Ladung des Eiweißrestes käme. Die Eiweißstruktur liefert ja solche Möglichkeiten, die sich aus der Enolisierung der Carbonylgruppen der Peptidbindungen ergeben. Wir nahmen dementsprechend eine orientierende Untersuchung der Wasserstoffionenkonzentration mittels der Indikatorenmethode vor, die allenfalls vorhandene gröbere Differenzen aufdecken konnte. Wiederholte Untersuchungen des nativen — von einem eventuellen CO₂-Gehalt durch Durchlüftung befreiten — Körpers und der aus ihm hervorgegangenen Modifikation B ergaben nun, daß die p_H der letzteren etwas höher ist als die des nativen, an sich schwach sauren Körpers.

	Eiweißkonzentration Proz.	Modifikation A	Modifikation B
A	0,05	6,7	6,9
B	0,10	6,3	6,5

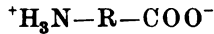
Da es sich hierbei aber nur um eine Abnahme des vorhandenen sauren Charakters, also um eine Verschiebung gegen die neutrale Reaktion hin handelte, bot dieses Ergebnis vorderhand keine Hand-habe für die Erklärung der Löslichkeit bzw. einer vermehrten Ioni-sation und Hydratation.

Nun hat *N. Bjerrum* (23) unsere Aufmerksamkeit auf den zwitter-ionigen Bau der Aminosäuren gerichtet, eine Strukturform, die er als die bei diesen Ampholyten gewöhnliche ansieht. Vorher hatte bereits *P. Pfeiffer* (24) in einer Studie über die Theorie der Betaine

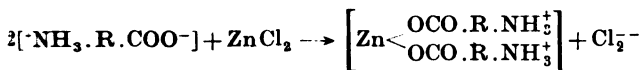
die Auffassung begründet, daß die Aminosäuren nicht nach der betainartigen Formel



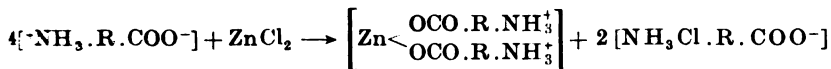
sondern nach der Dipolformel



gebaut sind. Es war nun zu prüfen, ob etwa ein Übergang in diesen Ionisationszustand die Erscheinung der *Bence-Jonesschen* Reaktion zu erklären vermag. Die für einen sauer reagierenden Körper diesfalls geltende Formulierung $\text{NH}_2-\text{R}-\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow ^+\text{NH}_3-\text{R}-\text{COO}^-$ zeigt zunächst, daß bei dieser Form der Ionisation tatsächlich ein Rückgang der Wasserstoffionenkonzentration zu erwarten ist. Was nun die Übertragung der *Bjerrumschen* Vorstellung auf die Eiweißkörper anlangt, so gebührt *Wo. Pauli* und *M. Schön* (25) das Verdienst, diesen Weg gegangen zu sein und, was für unser Problem von Bedeutung ist, die Beziehungen derartiger Zwitterionen zu Neutralsalzen erörtert zu haben. Die genannten Autoren haben nämlich im Verlauf ihrer Arbeiten bei bestimmten Salzkonzentrationen das Auftreten kathodisch wandernden Eiweißes feststellen können und führen diese merkwürdige Erscheinung auf die Anwesenheit zwitterionig gebauten Eiweißes zurück. Ihre Beobachtungen erklären sie nach folgenden Formeln:



oder



Im ersten Falle würde, wie man sieht, nur elektropositives Eiweiß entstehen, im zweiten, einer sogenannten bimolekularen Ionisation, äquivalente Mengen von elektropositivem und -negativem Eiweiß.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse mußte auch die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, daß die in der Siedehitze angenommene Ionisation des *Bence-Jonesschen* Eiweißkörpers zwitterionigen Charakter haben könnte. Wenn diese Vorstellung zutrifft, dann war auf Grund des oben Gesagten mit der Möglichkeit (eine zwingende Notwendigkeit, wie aus der Formulierung ersichtlich, besteht nicht) zu rechnen, daß bei der Untersuchung der hitzegelösten Zustandsform im Überführungsapparat eine Änderung des ursprünglich rein anodischen Wanderungsinnes erfolgte. Da Überführungsversuche in der Siedehitze kaum durchführbar erscheinen, wurde zur Modifikation B gegriffen und

dabei, wie die folgenden Tabellen zeigen, tatsächlich eine Umkehr des Wanderungssinnes im *Pauli-Landsteinerschen* Überföhrungsapparat beobachtet.

Körper A:

0,1 Proz. Eiweiß, n/100 NaCl, Stromdauer 3 Stunden bei 110 Volt.

Zustandsform des Eiweißkörpers	Anode	Kathode
Native Lösung . . .	+	0
Modifikation B . . .	0	+

Körper B:

0,1 Proz. Eiweiß, n/100 NaCl, Stromdauer 4 Stunden bei 110 Volt.

Zustandsform des Eiweißkörpers	Anode	Kathode
Native Lösung . . .	+	0
Modifikation B . . .	+	+

Die ursprüngliche anodische Orientierung ist also — bloß unter dem Einfluß des Erhitzens — zu einer ganz oder teilweise kathodischen geworden. Damit ist eine neue, anscheinend prinzipielle Eigenschaft des sogenannten *Bence-Jonesschen* Eiweißkörpers festgelegt. Sie vermag unsere Annahme einer während der Erhitzung erfolgenden Ionisation unter Bildung zwitterionartiger Körper zu stützen, und es hat daher den Anschein, daß mit dieser Feststellung ein Weg zur endlichen Klärung des *Bence-Jonesschen* Problems gewiesen ist. Wir möchten nicht zu bemerken unterlassen, daß wir keineswegs in der Änderung des Wanderungssinnes an sich das Wesen der Löslichkeit erblicken; dagegen spricht schon der äußerst geringe Anteil des jetzt kathodisch orientierten Eiweißes. Die Änderung ist für uns lediglich ein Anzeichen eines vermehrten zwitterionigen Ionisationszustandes, in dem wir die unmittelbare Ursache unseres Phänomens vermuten. Dieser Ionisation müssen wir einen im Prinzip reversiblen Charakter zuschreiben. Erst bei längerer Dauer oder oftmaliger Wiederholung des Erhitzens kann sich der Zustand stabilisieren (Modifikation B).

Was nun die Wirkungsweise der für die Hitzelöslichkeit der Kogulate notwendigen Elektrolyte anlangt, so möchten wir hier auf die herrschenden Ansichten über die Lösungsstabilität der Kolloide Bezug nehmen. Diese wird gegenwärtig auf eine wechselseitige Anziehung zwischen elektrisch geladenen (ionisierten) Kolloidteilchen und den diese umgebenden, entgegengesetzt geladenen, in der Lösung befindlichen Ionen, sogenannten Gegenionen, zurückgeführt. Es liegt

nun nahe, den zur Lösung der koagulierten *Bence-Jonesschen* Eiweißkörper erforderlichen Elektrolyten eine derartige Gegenionenrolle zuzuschreiben. Bei zwitterionig gebauten Kolloiden könnte diese Aufgabe naturgemäß sowohl vom Kation als vom Anion übernommen und die Verbindung mit dem Lösungsmittel besonders wirkungsvoll durchgeführt werden. Hier sind auch die von *P. Pfeiffer* (26) erörterten Möglichkeiten über die Verbindungen von Neutralsalzen mit Aminosäuren, so die Amphisalze $\text{MeOCO}-\text{R}-\text{NH}_2\text{X}$ zu berücksichtigen.

Es ergäbe sich nun die Frage, warum die *Bence-Jonesschen* Eiweißkörper beim Erhitzen ionisiert erscheinen, die anderen koagulierenden Eiweißkörper nicht. Im Laufe von einschlägigen, noch im Gange befindlichen Untersuchungen, über deren vorläufiges Ergebnis hier nur auszugsweise im Wege der folgenden Tabelle berichtet wird, hat sich nun das merkwürdige Resultat ergeben, daß bei geeigneter Wahl der Neutralsalze jedes bereits gebildete Eiweißkoagulat in der Siedehitze gelöst werden kann.

Die für die Versuche erforderlichen Koagulate wurden durch Kochen 0,5- bis 1proz. Lösungen dialysierter (Leitungswasser) Eiweißkörper gewonnen. Die Salze wurden in Form konzentrierter Lösungen in gleicher Menge gegeben und das Kochen noch durch einige Sekunden fortgesetzt.

Koagulat von	Rhodan- kalium	Benzoesaures Natrium	Salicylsaures Natrium	Phthalsaures Kalium
Serumalbumin . . .	löslich	löslich (schwache Opaleszenz)	löslich	löslich (schwache Opaleszenz)
Serumpseudoglobulin	löslich	löslich (starke Opaleszenz)	löslich (schwache Opaleszenz)	löslich (starke Opaleszenz)
Serumeuglobulin . .	löslich	wenig löslich	wenig löslich	wenig löslich

Ähnliche Ergebnisse wie mit benzoesaurem bzw. salicylsaurem Natrium wurden auch mit den entsprechenden Doppelsalzen, des Coffeins erzielt. Sehr vollkommene Lösungen wurden auch mit zitronensaurem Coffein und Anilinchlorhydrat erreicht, doch sind sie nicht in gleichem Sinne zu verwerten, da bei diesen Salzen die in ihrer hydrolytischen Dissoziation begründete saure Reaktion von großer Bedeutung für die Lösung der Koagulate ist.

Die erhaltenen Lösungen zeigten entweder keine Alkoholfällbarkeit (Rhodankalium) oder doch eine ganz deutliche Verminderung derselben. Nach Entfernung der Salze durch Dialyse konnten die Eiweißkörper aber überraschenderweise in gelöstem, durch Alkohol fällbarem und

koagulablem Zustand wiedergewonnen werden. Es konnte sonach auch hier eine Reversibilität der Eiweißkoagulation erzielt werden. Diese Verhältnisse waren sonderbarerweise bisher unbekannt. Wohl war die Hemmung der Koagulation durch Rhodankalium von *W. Pauli* (27) bereits vor vielen Jahren eingehend studiert worden und 1916 hat *C. Neuberg* (28) in einer ausgedehnten Arbeit die sogenannte hydrotropische Wirkung einer großen Reihe von Salzen, darunter auch der von uns untersuchten, ermittelt und das koagulationshemmende Vermögen derselben festgestellt. Ebenso war die die Dispersität erhöhende Wirkung der Rhodanate gegenüber der Gelatine [*Ed. Stiasny* und Mitarbeiter (29)] bekannt. Die vollkommene Lösung eines Eiweißkoagulats bei gleichzeitiger Reversibilität des Koagulationsvermögens jedoch, die wir vorderhand durch Rhodankalium, benzoesaures, salicylsaures und phthalsaures Alkali erzielten, die aber wahrscheinlich noch durch zahlreiche Salze aromatischer Säuren erreicht werden kann, war bisher nicht beachtet worden.

Wir sind geneigt, auch dieses sonderbare Verhalten vorläufig in physikalischer Weise aufzufassen und auf einen in der Siedehitze vermehrten Ionisationszustand der Eiweißkörper zurückzuführen, der diese befähigt, die Ionen der anwesenden Salze zu binden. Beachtet man nun diese Verhältnisse und vergleicht sie mit dem Verhalten der Eiweißkörper mit *Bence-Jonesscher* Reaktion, so drängt sich die Frage auf, ob das Verhalten dieser Letzteren überhaupt etwas gegenüber den anderen Proteinen prinzipiell Besonderes darstellt, oder ob es nicht etwa nur einen graduellen Unterschied beinhaltet, insofern als bei der *Bence-Jonesschen* Reaktion als Reagenz auf die in der Siedehitze statthabende Ionisation bereits Alkalineutralsalze genügen, bei anderen Eiweißkörpern dagegen ganz bestimmte, mehr oder weniger komplex gebaute Ionen nötig sind. Die bedeutende elektrostatische Wirkung komplex gebauter Ionen mit asymmetrischer Ladungsverteilung hat erst jüngst *W. Pauli* (30) erörtert. Vorderhand ergibt sich allerdings eine Schwierigkeit aus der Tatsache, daß der *Bence-Jonessche* Eiweißkörper trotz der Anwesenheit der Elektrolyten noch Hitzekoagulation, und erst bei weiterem Erhitzen Lösung des Koagulats zeigt, während die anderen, von uns als allgemein koagulatlösend befundenen Salze schon die Hitzekoagulation vollkommen verhindern. Auch konnte bei elektrophoretischer Untersuchung von in Rhodankalium gelösten Koagulaten bis jetzt keine kathodische, sondern immer nur eine sehr schwache anodische Wanderung festgestellt werden. Doch können unseres Erachtens diese Beobachtungen nicht als prinzipielle Einwände gewertet werden. Vorläufig glauben wir vielmehr, auch in unseren Versuchen mit komplexen Ionen einen Hinweis und wohl auch ein gewisses Maß für einen sich in der Siedehitze manifestierenden, aber

vermutlich schon in der ursprünglichen Konstitution des betreffenden Eiweißkörpers begründeten Ionisationszustand zu erblicken. Dieser scheint nun bei verschiedenen Eiweißkörpern in seiner Stärke verschieden zu sein, und auf dieser Verschiedenheit dürfte unseres Erachtens die Sonderstellung des sogenannten *Bence-Jonesschen* Eiweißkörpers beruhen.

Zusammenfassung.

Die chemische und physikalisch-chemische Untersuchung von *Bence-Jonesschen* Eiweißkörpern, die drei Fällen von Myelom entstammen, zeigte so große Verschiedenheit, daß es als erwiesen angenommen werden kann, daß hier nicht ein chemisches Individuum vorliegt, sondern daß das charakteristische Verhalten — Koagulation bei etwa 60° und Lösung des Koagulats bei Siedetemperatur — bloß eine gemeinsame Marke, sonst durchaus verschiedener Proteine ist. Es könnte sich hier um unfertige oder von einem kranken Knochenmark abwegig gebildete Serum-Eiweißkörper handeln. Die von *Hopkins* und *Savory* gefundene Eigentümlichkeit, daß die Lösung in der Hitze nur bei Gegenwart von anderen gelösten Körpern, vorwiegend Elektrolyten stattfindet, konnte durchweg bestätigt werden. Wurden die Körper weitgehend elektrodialysiert, so fielen sie schließlich ganz oder doch zum Teil aus, wurde das Hitzekoagulat zu wiederholten Malen gelöst und wieder durch Abkühlen ausfallen gelassen, so blieb schließlich ein Teil dauernd in Lösung. Diese kältestabile Umwandlungsform konnte aber durch Einleiten von CO₂ oder Zusatz von schwachen Säuren in einen wieder durch Hitze koagulablen und in der Siedehitze löslichen, also in den Haupteigenschaften typischen *Bence-Jonesschen* Eiweißkörper zurückverwandelt werden. Diese Erscheinungsfolge konnte öfters wiederholt werden und bedeutet eine Reversibilität der Hitzezerinnung bei Anwesenheit von Elektrolyten. Das oben erwähnte kältestabile Produkt, für das der Name Modifikation B der Eiweißkörper mit *Bence-Jonesscher* Reaktion vorgeschlagen wird, diente zum Studium der Eigenschaften der hitzegelösten Phase. Hierbei wurden Anhaltspunkte für die Annahme gefunden, daß es während der Hitzelösung zu einer vermehrten Ionisation kommt. Diese vermehrte Ionisation ist anscheinend von zwitterionigem Charakter. Experimentell gestützt wird diese Auffassung durch die Tatsache, daß die Modifikation B bei der Untersuchung im Überführungsapparat im Gegensatz zu dem anodisch wandernden nativen Körper auch kathodische Wanderung zeigt. Die in der Hitze vermehrten Polladungen bewirken — nach der Auffassung des Autors —, daß der Körper nunmehr mit den in der Lösung vorhandenen Ionen als Gegenionen in Reaktion tritt. So könnte sich die von *Hopkins* und *Savory* gefundene, in der vorliegenden Arbeit bestätigte Rolle der Elektrolyte erklären. Um

die gewonnenen Ergebnisse auf ihre allfälligen Beziehungen zu anderen koagulablen Eiweißkörpern zu prüfen, wurden die Koagulate einzelner Serumproteine mit Lösungen verschiedener Neutralsalze erhitzt. Dabei wurde nun festgestellt, daß es mit Hilfe einer Reihe von Salzen organischer Säuren leicht gelingt, diese Koagulate zu lösen. Nach Entfernung der Salze durch Dialyse wurden die Eiweißkörper in gelöstem und wieder koagulablem Zustand erhalten, so daß auch hier eine Reversibilität der Hitzeokoagulation erzielt wurde. Solche Ergebnisse wurden mit Rhodankalium, salicylsaurem, benzoesaurem und phthalsaurem Alkali erzielt. Dieses Verhalten legt den Gedanken nahe, daß das Auftreten von Ionenqualitäten während der Erhitzung nichts für die Eiweißkörper mit *Bence-Jonesscher* Reaktion prinzipiell Besonderes darstellt, sondern sich in geringerem Ausmaß auch bei anderen Eiweißkörpern findet.

Literatur.

- 1) *Bence-Jones*, Philosoph. Transact. 1, 55, 1848; Ann. d. Chem. u. Pharm. 67, 97, 1848. — 2) *W. Kühne*, Zeitschr. f. Biol. 19, 209, 1883; 20, 40, 1884. — 3) *Huppert*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 501, 1897. — 4) *Mathes*, Verh. d. Kongr. f. inn. Med. 14, 476, 1896. — 5) *Ellinger*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 62, 253, 1898. — 6) *Magnus-Levy*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 200, 1900. — 7) *Grutterink und de Graaf*, ebendasselbst 34, 393, 1901; 46, 472, 1905. — 8) *Abderhalden und Rostoski*, ebendasselbst 46, 125, 1905. — 9) *W. Pauli*, Hofmeisters Beitr. 10, 52, 1907. — 10) *J. Ville und S. Derrien*, Montpellier méd. 24, 387, 1907. — 11) *Hopkins und Savory*, Journ. of Physiol. 25, 306, 1900. — 12) *E. P. Pick*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 246, 1898; 28, 219, 1899. — 13) *Fr. N. Schulz und R. Szigmondy*, Hofmeisters Beitr. 3, 137, 1902. — 14) *Wo. Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper. Verlag Th. Steinkopff, 1920. — 15) *E. Reiss*, Hofmeisters Beitr. 4, 150, 1904. — 16) *Blum und Strauss*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 112, 138, 1921. — 17) *S. Edlbacher*, ebendasselbst 112, 80, 1921. — 18) *O. v. Fürth und Z. Dische*, diese Zeitschr. 146, 275, 1924. — 19) *Donald van Slyke*, Journ. of biol. Chem. 10, 15, 1911/12. — 20) *Lüscher*, Biochem. Journ. 16, 55b, 1912. — 21) *L. Michaelis und P. Rona*, diese Zeitschr. 29, 294, 1910. — 22) *M. Spiegel-Adolf*, ebendasselbst 170, 126, 1926. — 23) *N. Bjerrum*, Zeitschr. f. phys. Chem. 104, 147, 1923. — 24) *P. Pfeiffer*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 55, 1762, 1922. — 24) *Wo. Pauli und M. Schön*, diese Zeitschr. 153, 253, 1924. — 26) *P. Pfeiffer*, Organische Molekülverbindungen. Stuttgart 1922. — 27) *Wo. Pauli*, Hofmeisters Beitr. 9, 415, 1908. — 28) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 76, 107, 1916. — 29) *E. Stiasny, S. R. Das Gupta und P. Tresser*, collegium 1925, S. 23. — 30) *Wo. Pauli*, Eiweißkörper und Kolloide, zwei Vorträge. Verlag von J. Springer, 1926.

Einfluß der Fütterung auf die Enzymmenge der Kuhmilch.

Von

T. Chrzaszcz und C. Goralówna.

(Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Universität
Poznań.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Die Milch enthält eine Reihe von Enzymen, von denen besonders der Amylase, Aldehydrase, Katalase und Peroxydase mehr Beachtung geschenkt wurde. Die Anwesenheit dieser Enzyme halten einige Forscher für feste Bestandteile der Milch, andere dagegen sind der Meinung, daß mindestens ein Teil von ihnen durch Bakterien hervorgerufen wird, bzw. hier auch teilweise ein rein chemischer Prozeß vor sich geht¹⁾. Wenn die Enzyme nun feste Bestandteile der Milch sind, so müßten sie in irgend einer Beziehung zur Milchmenge und -qualität, die wir von der Kuh erhalten, stehen, was wieder abhängig von Qualität und Menge der Viehfütterung ist. Sind die Enzyme dagegen nur zufällige Bestandteile, so müßte ihre Quantität sehr schwankend sein und in keiner Beziehung zur Milchqualität, ebenso indirekt auch nicht zur Kuhfütterung stehen. Auf Grund dieser Betrachtung haben wir beschlossen, folgendes zu prüfen:

1. Hat die Kuhfütterung einen Einfluß auf die Anwesenheit und Menge der Enzyme in der Milch?
2. Kann man eine gegenseitige quantitative Beziehung der einzelnen Milchenzyme finden?

Um dieses festzustellen, haben wir bei unseren Versuchen hauptsächlich mit Milch von 12 Kühen vom Universitätsgut Golecin gearbeitet. Die Untersuchungen wurden vom 9. Dezember 1925 bis 10. Juli 1926 ausgeführt. Die Oberaufsicht von Fütterung, Melken und Milchproben haben anfangs Ing. *Wickel* und *Sedzimir*, später Ing. *M. Janinicki* Verwalter der Universitätsgüter, gehabt.

¹⁾ *H. Haehn* und *A. Pütz*, Wochenschr. f. Brauerei 1925, Jahrg. 42, S. 115.

Tabelle I.

Kuh Nr.	1	2	17	27	32	33	38	42	50	51	52	53
gab durchschnittlich täglich Milch												
vor d. Untersuchungen v. I.—9. XII. 1925, kg	12,75	13,50	15	15	6	8,75	12,20	10,50	5	12,75	9,25	17,75
während der Untersuchungen vom I. I. bis I. III. 1926 . . kg	12,90	13,20	9,80	12,10	8,70	8,90	—	—	7,50	10,10	9,50	10,90
während der Untersuchungen v. 30. V. bis 30. VI. 1926 . kg	10,25	11,75	10	—	6,10	7,75	14	4,20	7,50	9,25	8,25	9,50

Während der Winteruntersuchungen bekamen die Kühe auf je 1000 kg Lebendgewicht: 40 kg Rüben, 5 kg Kartoffeln, 2 kg Kuchen, verschiedene Mengen Kleie von 0 bis 10 kg und 9 kg Hafer- oder Gerstenstroh bzw. Heu; während der Frühlingsuntersuchungen: je 15 kg Kartoffeln und 100 kg Grünfutter, außerdem haben wir während einer Woche nur Grünfutter oder nur Kartoffeln verfüttert.

Von dem erhaltenen großen Zahlenmaterial geben wir hier nur so viel, wie zur Klärung der gestellten Fragen notwendig ist, wieder.

Diastase.

Bei früheren ausführlichen Untersuchungen über Milchdiastase¹⁾ trachteten wir, eine Erklärung über Anwesenheit, Menge und Wirkung dieses Enzyms in der Milch zu geben. Den Einfluß der Fütterung auf das Vorhandensein der Diastase erklärten wir ganz anders als *Spolverini*, der der stärkehaltigen Nahrung hierbei eine große Bedeutung zuschreibt²⁾. Da wir bei früheren Untersuchungen diesen Punkt nur gelegentlich besprochen haben, kommen wir jetzt näher darauf zurück. Zunächst wollen wir aber erst noch einmal den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration, Temperatur und Melkzeit auf die Wirkung der Milchdiastase feststellen.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Die elektrometrische Bestimmung der Milchreaktion zeigt $p_H = 6,3$ bis $6,59$ (Tabelle X und XI). In Ausnahmefällen, wo wir von Milch erkrankter Kühe sprechen, kann das $p_H =$ bis $6,9$ steigen. Diese Zahlen geben einen Unterschied mit denen von *Davidsohn*, der ein $p_H = 6,57$ findet³⁾, und auch mit *Svanbergs* $p_H = 6,51$ ⁴⁾. Diesen Unterschied erklären wir dadurch, was deutlich durch unsere Zahlen ersichtlich ist, daß die erstermolkenen Milchpartie ein etwas höheres p_H als die letztermolkene hat, daher wohl auch die kleinen Zahlenunterschiede bei den Angaben der beiden Autoren. Die p_H -Differenz der erst- und letztermolkene Milchpartie zeigt sich manchmal sogar bis $0,25$, gewöhnlich ist dieselbe kleiner als $0,1$. Da die erstermolkenen Milch meist durch Bakterien infiziert ist, so glauben wir, das etwas höhere p_H darauf zurückführen zu können. Wir bemerken hier noch kurz, daß der Begriff „erst- und letztermolkene Milchpartie“ relativ

1) T. Chrzęszcz und C. Goralówna, diese Zeitschr. **166**, 172, 1925.

2) *Spolverini*, Revue d'hygiene et de med. **1**, 3, 1902.

3) *Davidsohn*, Zeitschr. f. Kinderheilk. **9**, 11, 1913.

4) *Svanberg*, Dissertation Stockholm 1918.

aufzunehmen ist; zur Ausführung der Bestimmung brauchten wir immer etwa 100 ccm Milch, und da man im voraus nicht genau weiß, wieviel Milch die Kuh geben wird, haben wir, um sicher zu gehen, das Abnehmen der sogenannten letzten Milchpartie wohl manchmal etwas zu früh vorgenommen. Hier ist wohl auch der Grund der Unterschiede bzw. der Schwankungen derselben, die wir bei den Untersuchungen der letzt- und erstermolkenen Milch finden, zu suchen.

Bei unseren früheren Arbeiten haben wir mittels Acetaten die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Milchdiastase bei $p_H = 6$ gefunden. Es geht uns jetzt darum, ob es mit anderen Puffersubstanzen nicht bequemer wäre, die optimale Wasserstoffionenkonzentration zu erreichen, und dann damit die gleichen Resultate zu erzielen. Zur Ausführung haben wir einerseits Acetate, andererseits Phosphate verwendet, wobei zu 20 ccm Milch 10 ccm Puffersubstanzen + Wasser und 1 ccm 2proz. Stärkelösung genommen werden. Als Temperaturwirkung wird 30°C angenommen.

Tabelle II.

20 ccm Milch mit Fettgehalt von					
	2,9 Proz.	3,0 Proz.	3,3 Proz.	2,9 Proz.	3,5 Proz.
p_H	versetzt mit Puffern				
	Phosphate			Acetate	
dextrinierten 1 ccm 2proz. Stärkelösung in Minuten					
5,4	170	155	150	135	108
5,6	150	140	130	125	96
5,8	140	135	120	118	93
6,0	135	130	115	115	92
6,2	132	120	108	117	93
6,4	130	115	105	125	98
6,6	131	120	105	135	105
6,8	135	130	110	—	—
7,0	142	140	120	—	—
7,2	160	—	140	—	—

Aus dem Vergleich geht hervor, daß Acetate besser sind, da man durch dieselben viel deutlichere Resultate erzielt. Weiter zeigt sich, daß das optimale p_H hier nicht gleich ist. Bei Acetaten sehen wir ein Übereinstimmen mit unseren früheren Untersuchungen $p_H = 6$. bei Phosphaten dagegen ist das optimale $p_H = 6,4$. Wir weisen noch auf den schnelleren Verlauf der Dextrinierung bei Gebrauch von Acetaten und den langsameren bei Phosphaten, als bei nicht gepufferter Milch, hin. Man sollte daher zur Pufferung nur Acetate verwenden.

Temperatureinfluß.

Der Unterschied zwischen Acetaten und Phosphaten bei der optimalen Wasserstoffionenkonzentration wirft uns die Frage auf: ist die durch uns festgestellte Temperatur von 30°C für die durchschnittliche Milch unabhängig von den Puffersubstanzen? Zur Feststellung haben wir Milch mit Acetaten bei $p_H = 6$ und mit Phosphaten bei $p_H = 6,4$, sonst aber bei gleichen Bedingungen, untersucht.

Tabelle III.

Temperatur ° C	20 ccm Milch mit Fettgehalt von		
	3,0 Proz.	2,9 Proz.	3,4 Proz.
	versetzt mit Puffern		
	Acetaten	Phosphaten	
	dextrinierten 1 ccm 2proz. Stärkelsg. in Minuten		
25	114	125	120
30	113	125	118
35	116	135	125
40	125	150	145

Die optimale Temperatur der Milchdiastase ist, gleich unseren früheren Untersuchungen, bei einer durchschnittlichen Milch 30° C, unabhängig von den verwendeten Puffern. Diese optimale Temperatur verschiebt sich in der Richtung nach 25° C bzw. 35° C hin, abhängig von der Diastase-menge der Milch¹⁾.

Einfluß der Melkzeit.

Die Menge der Milchdiastase steht in einem Zusammenhange mit dem prozentualen Fettgehalt der Milch, und dieser wiederum mit der Milch-quantität. Je mehr Milch die Kuh gibt, gewöhnlich desto fettarmer und weniger Diastase enthält dieselbe; je fettreicher dagegen die Milch, desto mehr Diastasegehalt. Bei dem täglich dreimaligen Melken finden wir bei der Mittags- und Abendmilch einen größeren Fettgehalt als bei der Frühmilch. Daher sollte eigentlich die meiste Diastase in der Mittags- und Abendmilch, die wenigste in der Morgenmilch enthalten sein. Dieses Übereinstimmen haben wir bei unseren früheren Arbeiten nicht festgestellt, im Gegenteil, wir fanden damals, als wenn die Frühmilch mehr Diastase als die später gemolkene enthält. Erst nach Veröffentlichung haben wir den Fehler bemerkt, welchen wir jetzt richtigstellen.

Tabelle IV.

Tägliches Milchquantum von Kühen kg	Melkzeit	Fettgehalt Proz.	20 ccm Milch, $p_H = 6,0$, dextrinieren 1 ccm 1proz. Stärkelösung bei 30° C in Minuten
5.0	Morgens	3.2	100
	Mittags	4.0	80
	Abends	4.0	70
9.8	Morgens	3.0	108
	Mittags	3.5	90
	Abends	3.7	85
14.2	Morgens	2.8	145
	Mittags	3.0	115
	Abends	3.4	100

¹⁾ l. c.

Diese und ähnliche Versuche zeigen den Zusammenhang des Fett- und Diastasegehalts der Milch. Je größer der Zeitabstand des einzelnen Melkens, desto geringer ist meist der Diastase- und prozentische Fettgehalt.

Einfluß der Fütterung.

Gestützt auf unsere erwähnten Beobachtungen, kommen wir auf den Fütterungseinfluß. Die Untersuchungen zerfallen in drei Serien: Einfluß der Kleie bei Winterfütterung und Zugabe von Stroh oder Heu (Tabelle IX). Dieselbe Winterfütterung, um den Einfluß auf die erst- und letztermolkene Milch festzustellen (Tabelle X). Und der Einfluß des Grün- bzw. gemischten Futters (Tabelle XI).

Wir bestimmten die Diastasemenge, indem wir die Zeitdauer der Dextrinierung von 1 ccm 2proz. Stärkelösung durch 20 ccm Milch bei 30° C und $p_H = 6$ beobachteten.

Aus den obigen Untersuchungen ist zu ersehen, daß die Fütterung auf die Diastasemenge nur so weit eine Wirkung ausübt, sofern diese Nahrung die Menge und Qualität der Milch und besonders den Fettgehalt beeinflusst, wobei auch die Individualität der Kuh mitspricht, unter Berücksichtigung von nur gesunden Tieren. Die Individualität der einzelnen Kühe charakterisiert sich dadurch, daß die Milch der einen stets mehr bzw. weniger Diastasegehalt aufweist, als die der anderen Kühe. Das Milchquantum einer Kuh hat Einfluß auf ihre prozentische Diastasemenge. Haben wir durch entsprechende Fütterung das Milchquantum vergrößert, so zeigt sich in gewissem Maße eine Verringerung des prozentischen Diastasegehalts, vermindert sich das Milchquantum dagegen, so wird gewöhnlich die Diastase größer. Dieses trifft nicht zu, wenn im Organismus irgendwelche Veränderungen vor sich gehen, Trächtigkeit, die Zeit nach dem Kalben oder Krankheitszustände.

Es bleibt uns jetzt noch, den prozentischen Fettgehalt näher zu ersehen. Da bei Vergrößerung der Milchmenge, erzielt durch entsprechende Fütterung, der prozentische Fettgehalt oft vermindert wird, so findet man auch dabei ein Verringern des prozentischen Diastasegehalts. Prozentische Vergrößerung des Fettgehalts dagegen, die man ebenfalls durch entsprechende Fütterung erhalten kann, bewirkt oft auch einen größeren prozentischen Diastasegehalt. Diesen Einfluß sieht man auch deutlich bei der erst- und letztermolkene Milch; die letztermolkene, als fettreichste, hat auch mehr Diastase als die vorher gemolkene Milch.

Der Einfluß von größerer oder kleinerer Kleiezugabe bei unserer Fütterung, ebenso auch die Art der Stroh- oder Heufütterung hat keine besonders spezielle, sondern nur eine allgemeine Wirkung auf den Diastasegehalt, die im Zusammenhang mit der Milchmenge steht.

Eine vollständige Futteränderung, z. B. Übergang zum Grünfutter, bewirkt eine zeitliche Steigerung der Diastase, die auch mit Milchmenge bzw. Fettgehalt in näherer Beziehung steht. Dieser Zustand ist aber nicht von langer Dauer, denn bald vergrößert sich das Milchquantum, der Diastasegehalt wird kleiner. Die Behauptung *Spolverinis*, daß bei stärkehaltiger Fütterung der Organismus der Diastase benötigte und dieselbe daher nicht oder nur in geringem Maße in die Milch ausgeschieden wird, erweist sich auf Grund unserer Beobachtungen als nicht richtig, ganz andere Einflüsse sprechen hier mit und verursachen die Menge der Diastase. Wir bemerken hier noch, daß wir in keinem Falle und trotz der verschiedensten Fütterungs-

bedingungen diastaselose oder besonders diastasearme Milch getroffen haben. Es kann sogar vorkommen, daß, wie Tabelle X zeigt, bei so einseitiger stärkehaltiger Fütterung, wie nur Kartoffeln, die Milch fast ebensoviel Diastase aufweist als bei Grünfütterung.

Unsere Untersuchungen über die Diastase führen uns zu den Schlußfolgerungen:

1. Bestätigung unserer früheren Untersuchungen über die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Diastasewirkung, die bei Gebrauch von Acetatpuffern bei $p_H = 6$ liegt, bei Phosphatgemischen bei $p_H = 6,4$; Acetate geben deutlichere Resultate.

2. Die Acidität der erstermolkenen Milchpartie ist etwas höher als die der letzttermolkenen. Erstere zeigt ein $p_H = 6,30$ bis $6,48$, letztere $p_H = 6,51$ bis $6,59$.

3. Die optimale Temperatur ist unabhängig von den verwendeten Puffern und stellt sich gleich unseren früheren Beobachtungen. Bei Milch mit einem durchschnittlichen Diastasegehalt ist die günstigste Temperatur $30^\circ C$, neigend zu $25^\circ C$ hin.

4. Der Einfluß der Melkzeit steht in einem Zusammenhange mit ermolkenener Milchquantität und Fettgehalt. Je mehr Milch, und ist dieselbe noch fettarm, desto weniger Diastase. Morgenmilch, als fettarm, enthält die wenigste Diastase, Abendmilch gewöhnlich die meiste.

5. Der Einfluß der Fütterung auf den Diastasegehalt steht im Zusammenhange mit Menge und prozentischem Fettgehalt der Milch. Fütterung, die auf das Vergrößern der Milchmenge wirkt, wobei sich aber der prozentische Fettgehalt verringert, beeinflusst die Verminderung des prozentischen Diastasegehalts. Eine vollständige Fütterungsänderung bewirkt eine zeitliche Steigerung der Diastase. Neben Milchquantität und prozentischem Fettgehalt hat auch die Individualität der Kuh einen Einfluß auf die Diastase-menge.

6. Die Diastase ist ein fester Bestandteil der Milch, ausgeschieden durch den tierischen Organismus.

Aldehydrase.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration und Temperatur.

Zuerst haben wir den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Aldehydrasewirkung und daraufhin die optimale Temperatur beobachtet. Zu diesen Untersuchungen haben wir Acetate, Phosphate, Glykokoll und Borat verwendet. Es wurde festgestellt, in welcher Zeit 0,5 cem Methylblauformalin bei $60^\circ C$ durch 19,5 cem Milch, 10 cem Puffersubstanz + Wasser entfärbt wird, auch bestimmten wir die Menge der durch Milch reduzierten Nitrate.

Aus Tabelle V ist deutlich zu ersehen, daß die Methylblaufärbung bei Verpufferung mit Boraten oberhalb $p_H = 11$ am besten verläuft, mit Glykokoll bei $p_H = 11,4$ bis $11,6$. Dieses Optimum ist nicht identisch mit der Nitratreduktion der Milch-aldehydrase. Bei Phosphatgemischen liegt hier das Optimum unterhalb $p_H = 5,4$, bei Acetaten $p_H = 5$. Hahn und Pütz¹⁾ lenken daraufhin, daß Methylblau bei Anwesenheit von Glykokoll und Phosphaten auch ohne Aldehydrase am besten

¹⁾ l. c.

Tabelle 1.

Puffer.	Phosphate	Bozate	Ohne Puffer
19,6 cem Milch mit 3,6 Proz. Fettgehalt + 10 cem Puffer und Wasser bei pH	5,6	9,8	11
entfärbt b. $60^{\circ}C$ $\frac{1}{2}$ cem Methylenblau-Formalin in	20'-40"	10'-25"	4'-40"
	20'-05"	7'-25"	4'-35"
	16'-10"	5'-25"	20'
	7,2	10,6	11
	9,2	10,8	6,5

Puffer:	Glykokoll												
Milch mit 3 Proz. Fettgehalt usw. bei pH	9,0	9,8	10,6	10,8	11	11,2	11,4	11,6	11,8	12	12,4	12,6	13
entfärbt b. $60^{\circ}C$ $\frac{1}{2}$ cem Methylenblau-Formalin in	10'-50"	7'-30"	5'-15"	4,50"	4'-35"	4'-20"	4'-10"	4'-08"	4'-15"	4'-40"	5'-10"	6	8'-30"

Puffer:	Phosphate											Glykokoll	
Milch mit 3 Proz. Fettgehalt usw. bei $65^{\circ}C$ und pH	5,4	5,6	5,8	6	7	8	9	10	11	0,002			
reduzierte Nitrate mg N_2O_3	0,047	0,046	0,046	0,045	0,040	0,030	0,015	0,005					

Puffer:	Acetate												
Milch mit 3 Proz. Fettgehalt usw. bei $65^{\circ}C$ und pH	4,5	4,8	5	5,2	5,4	5,6	5,8	6	0,045				
reduzierte Nitrate mg N_2O_3	0,045	0,049	0,050	0,049	0,048	0,047	0,046						

bei $p_H = 7,56$ entfärbt wird. Da sich unter den Bestandteilen der Milch auch Phosphate und Glykokoll befinden, so sollte man annehmen, daß die Methylenblaufärbung nicht nur unter Einfluß der Aldehydrase, sondern auch durch Miteinwirkung obiger Salze verläuft. Kann die Entfärbung des Methylenblaus auf Grund dieser Beobachtungen als Reaktionsbestimmung der Milchaldehydrasemenge gleichwertig der Nitratmethode gelten? Unsere diesbezüglichen Untersuchungen bestätigen derartige nicht.

Die günstigste Aldehydrasewirkung verläuft laut Tabelle VI bei 60°C bis 62°C .

Tabelle VI.

Milch bei Temperatur:	55°	58°	60°	62°	65°	70°
entfärbt bei $p_H = 11,4$						
Methylenblau . . .	5'-70"	4'-53"	4'-30"	4'-35"	4'-55"	6' 40"
reduziert bei $p_H = 5,0$						
Nitrate mg N_2O_3 . .	0,039	0,044	0,048	0,049	0,045	0,017

Einfluß der Fütterung.

Der Fütterungseinfluß auf die Aldehydrasemenge in Milch wurde bei den gleichen Bedingungen wie bei der Diastase durchgeführt. Mit den beiden erwähnten Reaktionen bestimmten wir bei 60°C und p_H -Optimum die Aldehydrase. Die Schwankungen bei der Aldehydrasemenge sind viel kleiner als bei der Diastase; am deutlichsten ist dieses durch kräftigeres Hervortreten der Aldehydrase in der letzt- im Vergleich zur erstermolkenen Milchpartie zu erkennen. Manchmal treten auch ohne besondere Ursache in der erstermolkenen Milch größere Aldehydrasemengen auf, wir glauben dieses auf Infektion bzw. auf die physiologische Disposition zurückführen zu können.

Die verschiedene Melkzeit hat keine besondere Wirkung auf die Aldehydrase. Die Schwankungen, die wir hier finden, gestatten es nicht, direkte Schlußfolgerungen zu ziehen.

Auch der Fütterungseinfluß gibt uns kein klares Bild über die erzielte Aldehydrasemenge in der Milch. Ganz deutlich übt dagegen, ebenso wie bei der Diastase, die verschiedene Individualität der Kühe eine Wirkung aus. Die kleinen Unterschiede bei der Aldehydrase, die *Michlin*¹⁾ nur mit 5 bis 6 Proz. angibt, stimmen mit unseren Untersuchungen, da wir sogar manchmal ziemlich große Unterschiede finden, nicht überein (Tabelle IX bis XI).

Der Einfluß von Milchquantität und Fettgehalt, der mit der Diastasemenge in so engem Zusammenhange steht, zeigt sich hier im Gegensatz sehr gering. Die Unterschiede zwischen den *Michlinschen* und unseren Untersuchungen wollen wir darauf zurückführen, daß *Michlin* seine Bestimmungen nicht bei der optimalen Wasserstoffionenkonzentration ausgeführt hat. Auch kann hier eine Infektion vorliegen, denn weder *Michlin* noch wir haben mit einer ganz bakterienfreien Milch gearbeitet.

Aldehydrase ist in normaler Milch immer vorhanden, wird also durch den tierischen Organismus ausgeschieden, die Menge hängt allerst von der Individualität des Tieres ab.

¹⁾ l. c.

Katalase.*Einfluß der Fütterung.*

Den Einfluß der Fütterung auf die Katalasemenge haben wir volumetrisch durch Feststellen der sich entwickelnden Sauerstoffmenge bei 16° C aus 15 ccm Milch + 5 ccm 1proz. Perhydrol innerhalb 2 Stunden bestimmt und auf 100 ccm Milch umgerechnet (Tabelle IX, X, XI).

Die Katalase gehört zu den empfindlichsten Milchenzymen. Infektion, wie auch jegliche Störung des Organismus zeigt sich durch Vergrößern der Katalasemenge. Manchmal haben wir aber, trotz festgestellten krankhaften Zustandes des Tieres, diese Vergrößerung nicht gefunden. Bei letzterem sind wohl irgendwelche antikatalytischen Vorgänge im Spiele. Die Menge des aus Perhydrol ausgeschiedenen Sauerstoffs, also die Milchkatalasemenge, hängt von den ziemlich gleichen Bedingungen wie die der Diastase ab. Die Katalase ist immer in Milch vorhanden, tritt aber in wechselnden Mengen auf. In der erstermolkenen Milch ist die Katalasemenge geringer als in der letztermolkenen. In Fällen, wo in der erstermolkenen Milchpartie größere Katalasemenge vorhanden ist, zeigt die Milch oft nicht normale Eigenschaften, die beim Erhitzen zum Gerinnen führt. Weiter steht die größere Katalasemenge im Zusammenhang mit dem vergrößerten Fettgehalt der Milch. Da auf die Menge der Katalase verschiedene Bedingungen physiologischer und pathologischer Natur einen großen Einfluß ausüben, so können hier dieselben viel stärker wirken als diejenigen, die mit der Fettmenge in Beziehung stehen, dadurch wird letzterer Einfluß verdeckt und entzieht sich der Beobachtung.

Änderung der Trockennahrung im Rahmen der rationellen Fütterung zeigt keine nennenswerte Wirkung auf die Katalasemenge, Grünfütter dagegen vergrößert dieselbe. Überhaupt haben wir in den Sommermonaten mehr Katalase in der Milch gefunden als während der kälteren Jahreszeit.

Peroxydase.

Peroxydase ist, was von einer Reihe Autoren festgestellt wurde, immer in der Milch vorhanden.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration und Temperatur.

Zur Bestimmung der Peroxydase haben wir alkoholische Guajakharzlösung benutzt. Die blaue Farbe und ihre Intensität, welche bei Zusatz von Perhydrol hervortritt, zeigt die Anwesenheit und Menge der Peroxydase. Diese Reaktion erscheint sofort, sobald sie annähernd die optimale Temperatur erreicht hat. Zur Untersuchung wurden 5 ccm Milch versetzt mit 5 ccm Acetaten bzw. Phosphaten, 8 Tropfen Guajakharzlösung und 2 Tropfen 1proz. Perhydrol verwandt. Das Resultat zeigt Tabelle VII.

Daraus geht hervor, daß die günstigste Wasserstoffionenkonzentration der Peroxydasewirkung bei $p_H = 5.6$ bis 6.4 liegt. Eigentlich könnte man die Skala noch verkürzen, aber die minimalen Abstufungen der Farbenintensität sind so gering und variieren nach einer bzw. anderer Richtung so, daß es genauer ist, hier eine breitere Skala anzuwenden. Auch nicht verpufferte Milch mit $p_H = 6.5$ gibt eine intensiv blaue Farbenreaktion, dieses zeigt, daß die Peroxydasebestimmung auch ohne Puffer durchzuführen ist.

Tabelle VII.

Milch versetzt mit Guajakharz + H₂O₂ bei Gegenwart von Puffern

		Acetate	Phosphate
		gaben Farbenreaktionen	
bei p_H	5,0	blaß graublau	—
	5,2	" " "	—
	5,4	blaß blau	—
	5,6	intensiv blau	intensiv blau
	5,8	" "	" "
	6,0	" "	" "
	6,2	" "	" "
	6,4	—	" "
	6,6	—	blaß blau
	6,8	—	" "
7,0	—	" "	
7,2	—	graublau	
Ohne Puffer		intensiv blau	

Tabelle VIII.

Milch + Acetate bei $p_H = 6$ zeigte Reaktion mit Guajakharz bei Temperaturen:

25°	30°	35°	40°	45°	50°
schmutzig blau	hellschmutzig blau	blaß blau		intensivblau	
				etwas	
				kräftiger	

Die günstigste Temperatur bei $p_H = 6$ ist 45° C, in den Grenzen von 40 bis 49° C.

Einfluß der Fütterung.

Am wenigsten charakteristisch von allen Enzymen ist die Peroxydase; nur in einem Falle — bei der ertermolkenen Milchpartie — tritt dieselbe kräftiger hervor. Manchmal treffen wir aber auch solche Milch, die eine deutlichere Reaktion auf die Peroxydase in der letztermolkenen aufweist. Weder Einfluß der Fütterung noch des Fettgehalts bzw. Milchquantums, auch der Melkzeit geben dagegen ein klares Bild, denn die Reaktion auf die Peroxydase zeigt sich fast ebensooft schwächer als kräftiger. Dieses ungleiche Auftreten weist darauf hin, daß hier noch andere Bedingungen mitprechen, die die Reaktion teils fördern, teils hindern (Tabelle IX bis XI).

Schlußfolgerung.

Die Untersuchungen über den Fütterungseinfluß auf die Menge der Milchenzyme und ihre Abhängigkeit voneinander führen uns zu den Schlußfolgerungen:

1. Die Enzyme Diastase, Aldehydrase, Katalase und Peroxydase treten in jeder normalen Milch auf. Die drei ersten Enzyme sind in größerer Menge in der letztermolkenen Milchpartie vorhanden, also in dem fetthaltigen Teil, die Peroxydase findet sich dagegen gewöhnlich

Tab. 11. I. N.

Datum	Kuh-Nr.	Tgl. Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	Bemerkungen	Diastase		Aldhydrase		Katalase Sauerstoff- menge ccm	Peroxydase Farbintensität	Kleie kg	Fütterung
					Dextrin- mischung Min.	Methylenblau- entfärbung Min.	Nitratmenge mg N ₂ O ₃	Nitratmenge				
11. I.	2	16,4	2,4		175		0,042		21,0	blau	9,7	Gerste Hafer
	52	9,6	2,9		135		0,054		21,0	dunkelblau	5,9	
12. I.	2	15,5	2,5		170		0,050		29,0	hellblau	9,7	Gerste Hafer
	52	9,5	3,1	Abendmilch	120		0,062		7,5	blau	5,9	
13. I.	2	15,7	2,6		150		0,042		28,0	hellblau		Gerste Hafer
	52	9,4	2,9	"	120		0,052		14,0	dunkelblau		
14. I.	2	15,0	2,7		160		0,047		21,0	blau	9,7	Gerste Hafer
	52	9,5	2,8		125		0,041		7,0	"	5,9	
15. I.	2	14,8	2,7		170		0,041		30,0	dunkelblau	9,7	Gerste Hafer
	52	9,9	2,6		125		0,041		15,5	hellblau	5,9	
16. I.	2	15,6	2,6		160		0,043		7,0	blau	9,5	Gerste Hafer
	52	9,7	2,8		140		0,055		10,5	kräftig blau	6,0	
29. I.	2	14,4	2,8	Morgenmilch	165		0,047		19,5	hellblau	9,5	Gerste Hafer
	52	10,8	2,8	"	135		0,047		18,0	blau	6,0	
27. I.	2	16,3	2,4	Morgenmilch	155		0,045		1,4	hellblau	10,0	Gerste
	17	8,6	3,3	"	105		0,040		2,8	blau	7,4	
17	2	3,0	3,0	Mittagsmilch	155		0,040		2,8	—		Gerste
	17	3,5	3,5	"	120		0,053		1,1	—		
					170		0,040		1,4	hellblau	9,7	Gerste
					120		0,036		2,1	blau	5,8	
					155		0,040		1,4	hellblau		Gerste
					120		0,042		2,7	blau		

Tabelle IX (Fortsetzung).

Datum	Kuh-Nr.	Tägl. Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	Bemerkungen	Diastase		Aldhydrase		Katalase Sauerstoffmenge ccm	Peroxidase Farbintensität	Fütterung	
					Dextranierung Min.	Methylenblau- entfärbung Min.	Nitratmenge mg N ₂ O ₃	Kleie kg			Strohart	
28. I.	2	14,8	2,7	Morgensmilch	165		0,037	7,0	dunkelblau	9,7	Gerste	
	17	9,0	2,8	"	135		0,043	2,8	"	5,8	"	
	2		3,0	Mittagsmilch	140		0,040	2,8	hellblau			
	17		3,5	"	105		0,046	5,4	dunkelblau			
18. I.	1	14,5	2,9		150		0,030	9,8	kräftig blau	9,8	Hafer	
	51	10,2	2,9		140		0,041	14,0	"	7,4	"	
19. I.	1	14,6	2,8		145		0,042	5,2	"	9,8	"	
	51	9,7	3,0		135		0,040	5,8	blau	7,4	"	
20. I.	1	14,9	2,8		150		0,032	9,8	"	9,8	"	
	51	9,5	3,3		130		0,042	7,0	hellblau	7,4	"	
21. I.	1	14,7	3,0		150		0,035	5,6	blau	9,8	"	
	51	9,4	3,2		130		0,049	5,6	hellblau	7,4	"	
22. I.	1	14,6	2,8		150		0,035	11,2	blau	9,4	"	
	51	9,6	3,0		135		0,050	7,0	hellblau	7,2	"	
23. I.	1	14,4	2,8		145		0,036	8,4	kräftig blau	9,4	"	
	51	9,3	3,1		140		0,048	7,0	"	7,2	"	
25. I.	51	9,6	3,4	Morgensmilch	130		0,042	5,6	"	7,2	"	
	53	10,6	3,0	"	120		0,031	7,0	blau	7,5	"	
	51		3,7	Mittagsmilch	115		0,050	5,6	hellblau			
	53		3,2	"	125		0,031	5,6	blau			

Datum	Kuh-Nr.	Milchmenge kg	Fetthalt		pH	Bemerkungen	Dextrin- mierung Mln.	Aldehydfase		Katalase- Sauerstoff- menge ccm	Peroxylase- wert internat.	Kleie kg	Fütterung
			er- molkene Proz.	in- er- molkene Proz.				Methylblau- entfärbung in	Nitratmenge mg N ₂ O ₅				
1. II.	2	11,7	1,1	5,4			185	3' 20"	1,4	kräftig blau	9,9	Hafer	
	2	9,8	0,7	5,0			130	2 30	7,0	blau	5,8	"	
	17		0,7	5,0			145	4 10	2,7	kräftig blau		"	
5. II.	17		1,1	4,4			115	2 50	5,6	blau		Heu	
	2	14,5	1,1	4,4			160	5 20	1,8	kräftig blau		"	
	2	10,5	0,9	4,6			145	2 40	6,0	blau		"	
6. II.	17		0,9	4,6			112	6 40	11,2	kräftig blau	6,1	"	
	17		1,7	4,0			49,0	3 00	4,2	hellblau		"	
	2	13,9	1,7	4,0			8,4	2 20	8,4	"		"	
12. II.	2	9,9	0,8	4,7			135	1 00	14,0	"	6,1	"	
	17		1,0	3,9		gerinnt b. 60°	145	3 20	60,2	blaß blau		"	
	17	13,9	1,0	3,9			100	5 00	103,0	blau	9,1	"	
13. II.	2	10,1	0,7	6,3			—	2 00	5,6	hellblau	7,4	"	
	17		0,7	6,3			145	2 35	15,8	blau		"	
	17	10,5	1,1	5,1		undisponiert	105	6 45	42,0	hellblau	9,1	"	
15. II.	2	13,8	1,1	4,9			140	2 40	35,0	blau	7,4	"	
	2	10,5	0,5	5,1			19,2	4 00	19,2	hellblau		"	
	17		0,5	4,7			100	3 20	1,4	blau	7,4	"	
16. II.	17		1,1	4,7			145	6 00	14,0	hellblau	9,1	"	
	17		0,6	5,4		gerinnt b. 60°	120	3 20	107,5	blau		"	
	2	13,5	1,1	4,7			—	1 18	15,4	hellblau	7,4	"	
17. II.	17	10,8	0,6	5,4	6,47		140	2 20	2,0	kräftig blau		Gerste	
	17	12,9	0,8	5,3	6,52		115	5 45	4,6	hellblau		"	
	17	10,0	0,9	5,7	6,40	gerinnt b. 60°	180	2 20	2,8	kräftig blau	8,7	"	
17. II.	51	10,0	0,9	5,7	6,52		135	6 45	14,0	blau	7,3	"	
	51	12,8	1,0	5,1	6,37		—	3 00	84,0	hellblau		"	
	1	9,9	1,0	5,8	6,51		100	1 50	16,8	"	8,7	"	
17. II.	1		1,0	5,1	6,45		160	3 00	0,7	blau		"	
	1		1,0	5,8	6,45		145	2 20	1,4	hellblau		"	
	51		1,0	5,8	6,59		150	nicht entfärbt	1,2	kräftig blau	7,3	"	
	51		1,0	5,8	6,59		125	3' 06"	16,4	hellblau		"	

Tabelle X (Fortsetzung).

Datum	Kuh-Nr.	Fettgehalt		pH	Bemerkungen	Diastase Dextrin- nierung Min.	Aldehydase		Katalase Sauerstoff- menge ccm	Peroxydase Farben- intensität	Fütterung	
		erst- ermolkene Proz.	letz- ermolkene Proz.				Methylenblau- entfärbung in	Nitratmenge mg N ₂ O ₃			Kleie kg	Strohart
18. II.	1	13,2	0,8			165	6' 20''		1,4	hellblau	8,7	Gerste
	1			5,1		135	1 25		28,0	"		
	51	10,0	1,2	5,4		145	nicht entfärbt		1,4	"	7,3	"
	51			5,4		130	6' 00''		5,4	blau		
25. II.	1	13,1	1,0			160	3 50		0,7	"	8,7	"
	1			5,6		135	1 30		7,0	hellblau		
	51	10,1	0,9	5,2		145	nicht entfärbt		1,4	blau	7,3	"
	51			5,2		130	6' 50''		7,0	hellblau		
26. II.	1	12,5	0,8			160	4 55		7,0	blau	8,6	"
	1			5,3		135	2 20		11,2	hellblau		
	51	9,8	0,9			145	3 15		7,0	blau	7,2	"
	51			5,9		120	2 10		2,8	hellblau		
4. II.	1	13,3	1,3		undisponiert	135	5 25		86,2	blau	9,7	"
	1			6,0		105	2 40		14,0	"		
	51	9,8	2,0	6,48		135	3 20		20,0	kräftig blau	7,4	"
	51			6,7		100	1 20		40,0	blau		
19. II.	2	13,3	1,3			165	5 00		1,4	kräftig blau	8,9	Heu
	2			4,0		135	4 20		28,0	hellblau		
	27	11,4	0,5	6,30		150	6 45		1,4	kräftig blau	8,1	"
	27			4,8		130	3 55		5,6	hellblau		
20. II.	2	13,7	1,1			160	3 30		0,7	kräftig blau	8,9	"
	2			3,4		140	2 00		3,5	hellblau		
	27	11,7	1,1	2,4		145	6 00		1,4	"	8,1	"
	27			2,4		140	3 20		7,0	"		
22. II.	2	14,0	1,3			170	5 00		5,6	kräftig blau	8,9	"
	2			3,3		145	1 00		2,8	hellblau		
	27	11,8	1,2	6,45		145	nicht entfärbt		1,4	kräftig blau	8,1	"
	27			4,7		125	1' 25''		5,4	hellblau		
24. II.	2	13,8	1,2			165	3 20		0,7	"	8,9	"
	2			3,0		145	1 45		1,4	"		
	27			4,45		140	4 25		1,4	"	8,1	"

Tab. II. X I.

Datum	Kuh-Nr.	Tägl. Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	pH	Bemerkungen	Dextrose-Dextrinmischung Min.	Methylenblau-entfärbung Min.	Aldehydase-Nitratmenge mg N ₂ O ₃	Katalase-Sauerstoffmenge ccm	Peroxydase-Farbenintensität	Fütterung
24. VI.	50	8,0	3,0	6,55		135		0,060	10,5	kräftig blau	Grün
	32	5,6	3,6	6,50		120		0,054	5,2	"	Kartoffel
25. VI.	50	7,6	3,2			130		0,042	28,0	"	Grün
	32	5,4	3,7			120		0,048	28,0	"	Kartoffel
26. VI.	50	7,5	3,1			130		0,050	56,0	hellblau	Grün
	32	5,5	3,4			120		0,042	28,0	"	Kartoffel
28. VI.	50	7,5	3,2			130		0,039	63,0	kräftig blau	"
	32	5,8	3,5			125		0,049	70,0	"	Grün
1. VII.	50	7,4	2,9			130		0,044	50,0	"	Kartoffel
	32	5,6	3,6			120		0,050	68,0	hellblau	Grün
3. VII.	50	7,6	2,9			130		0,040	30,0	"	Kartoffel
	32	5,8	3,3			135		0,040	56,0	"	Grün
28. V.	1	10,0	3,4			105		0,056	58,0	"	Gemischtes Grün
	2	11,5	2,6			160		0,030	21,0	"	"
	32	6,0	3,2			110		0,054	58,7	blau	"
	33	7,7	3,0			115		0,055	31,0	kräftig blau	"
	38	14,0	2,7			160		0,041	38,0	"	"
	43	4,0	3,4			100		0,041	42,0	"	"
	50	7,5	3,1			110		0,046	50,4	hellblau	"
	51	9,8	2,7			150		0,040	27,4	blau	"
	53	12,0	2,7			165		0,045	18,0	"	"

in größerer Menge in der erstermolkenen Milch. Nur das ungleiche Auftreten der Peroxydase, was nicht näher zu erklären ist, gibt den Anschein der Zufälligkeit.

2. Aldehydrase, bestimmt durch die Nitratmethode, ist in der Milch in Mengen, die verhältnismäßig kleine Schwankungen aufweisen.

3. Die Katalasemenge hängt von dem verschiedenen physiologischen und pathologischen Zustande des Tieres ab. Die Katalase stellt ein sehr empfindliches Enzym dar, ihre Menge ist von verschiedenen Einflüssen abhängig. Bei Grünfütterung erscheint die Katalase in der Milch in größerer Menge.

4. Die größte Regelmäßigkeit und die Ursache über die Größe der Milchenzymmenge zeigt die Diastase; auch hier spricht die Individualität der Kuh mit. Die Art der Nahrung wirkt auf die Menge der Diastase nur insofern, soweit dieselbe auf Quantität und Qualität der Milch einen Einfluß ausübt. Abend- und Mittagmilch haben gewöhnlich mehr Diastase als Morgenmilch.

5. Die Art der Fütterung übt auf die Enzymmenge einen verhältnismäßig kleinen Einfluß aus. Die größte Wirkung sehen wir auf die Katalasemenge, kleinere auf die Diastase, fast keine auf Aldehydrase und Peroxydase.

6. Die gegenseitig quantitative Beziehung zueinander kann man nur bei Diastase und Katalase feststellen.

7. Die Acidität der erstermolkenen Milchpartie ist gewöhnlich etwas höher. $p_H = 6,30$ bis $6,48$, als die der letztermolkenen. $p_H = 6,51$ bis $6,59$.

Über die Diastasemenge der Kuhmilch unter pathologischen Bedingungen.

Von
T. Chrzaszcz und C. Goralówna.

(Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Universität
Poznań.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Unsere Untersuchungen über die Diastase¹⁾ und auch die über den Einfluß der Fütterung auf die Enzymmenge in Kuhmilch²⁾ zeigen, daß die Menge der Enzyme eine individuelle Eigenschaft der einzelnen Organismen ist, und daß verschiedene Einflüsse, die besonders auf Quantität und Fettgehalt der Milch wirken, auch für die Enzymmenge von großer Bedeutung sind. Am wenigsten charakteristisch erweist sich in dieser Beziehung die Peroxydase, ein wenig besser die durch die Nitratmethode bestimmte Aldehydrase; am einflußreichsten ist die Katalase, die Diastase zeigt sich dagegen bei allen Einflüssen am charakteristischsten. Es liegt hier nahe, daß ein so großer Einfluß, wie Krankheitszustand des Tieres, sich auf die Enzymmenge bemerkbar machen müßte. Diese Meinung bestätigt auch die ausführliche Arbeit von Koning³⁾. Schon dabei und bei weiteren diesbezüglichen Untersuchungen, besonders bei denen von Spindler⁴⁾, finden wir, daß der Katalase außerordentliche Bedeutung beigemessen wird. Unsere Beobachtungen führen uns zu anderer Ansicht. Zur Feststellung haben wir den Ausbruch der Maul- und Klauenseuche auf dem Universitätsgut Gołęcin benutzt und die Milchenzymmenge der Diastase, Aldehydrase, Katalase und Peroxydase mittels der bei früherer Arbeit angegebenen Methoden bestimmt⁵⁾. Der Krankheitszustand wurde durch die Ärzte Prof. Dr. Runge bzw. dessen Assistenten Godlewicz fest-

¹⁾ T. Chrzaszcz und C. Goralówna, diese Zeitschr. 166, 172, 1925.

²⁾ Dieselben, ebendasselbst 180, 247, 1927.

³⁾ C. J. Koning, Biologische und biochemische Studien über Milch, 1908.

⁴⁾ F. Spindler, diese Zeitschr. 30, 384, 1910.

⁵⁾ l. c.

gestellt und die Tiere unter ständiger Beobachtung gehalten. Nach jeder ärztlichen Untersuchung wurde die Milch möglichst aseptisch abgemolken.

Die Untersuchungen über den Einfluß der Maul- und Klauen-
seuche auf die Milch haben wir in zwei Serien ausgeführt. Bei der
ersten Serie wurde die Milch acht kranker Kühe bis zum normalen
Gesundheitszustand beobachtet, bei der zweiten, vier gesunde Kühe,
in den Seuchenstall gestellt und die Milch geprüft.

Erste Serie (Tabelle 1). Zustand der Kühe am:

2. März. Nr. 16. In der Mundhöhle zahlreiche Bläschen; hier und da
Eiterungen und narbenhafte Heilstellen. Das Euter im letzten Stadium der
Entzündung, schmerzhafte Verhärtungen verschwinden. Die Veränderungen
an den Klauen vermindern sich. Zurückgehen der Krankheitserscheinungen.

Nr. 18. In der Mundhöhle leichte Rötung der Schleimhäute, besonders
an dem zahnlosen Rande des Oberkiefers und an der Zunge. Speichel-
absonderung spärlich; Mangel von Seuchenerscheinungen an Klauen und
Euter.

Nr. 23. In der Mundhöhle spärliche Bläschen; Mangel an Eiterungen,
Verminderungen und Narben der Schleimhäute. Euterentzündung. An
den Klauen starke charakteristische Veränderungen. Mittelstadium der
Krankheit.

Nr. 26. In der Mundhöhle keine Veränderungen, ebenso an Klauen
und Euter. Inkubationsstadium der Krankheit. Kalbte vor dem Aus-
bruch der Seuche, 24. Februar. Kalb gesund.

Nr. 42. Schleimhaut der Zunge stark mit Eiter und Bläschen bedeckt.
Schleimhaut des zahnlosen Randes des Oberkiefers mit Eiter und Narben
besät. Euterentzündung. Zwischen Klauen Eiterungen. Krankheit nahe
dem Ende; teilweise rezidivische Erscheinungen.

Nr. 55. In der Mundhöhle zeigt die Schleimhaut spärliche durchsichtige
Bläschen. An der Schleimhaut kleine Eiterungen und Verminderungen.
Euter nicht entzündet; Klauen entzündet. Anfangsstadium der Krankheit.

Nr. 56. In der Mundhöhle große Blasen und Eiterungen, ebenso an
der Schleimhaut der Zunge und an dem zahnlosen Rande des Oberkiefers.
Schmerzhafte Euterentzündung. An den Klauen keine Seuchenerscheinung.

Nr. 58. In der Mundhöhle Schleimhaut gerötet. Schleimhaut der Zunge
und Innenseite der Backen mit spärlichen Blasen und zahlreich ineinander-
laufenden Eiterungen. Verminderungen der Schleimhaut. Starke Schleim-
absonderung, keine Veränderung des Euters. Klauenentzündung. Das
Tier völlig apathisch. Starker Krankheitszustand.

4. März. Nr. 16. Ohne Änderung.

Nr. 18. Ganz kleine Besserung.

Nr. 23. Hier und da kleine Eiterungen; Mittelstadium der Krank-
heit.

Nr. 26. Macht den Eindruck eines gesunden Zustandes.

Nr. 42 und 55. Ohne deutliche Veränderung.

Nr. 56. Blasenfrei. Die Eiterungen gehen in Narben über.

Nr. 58. Kleine Besserung.

6. März. Alle Kühe fühlen sich viel besser. Die Krankheit hat fast ihr Ende erreicht. Keine Krankheitserscheinung an den Schleimhäuten der Mundhöhle. Vereinzelt Verminderungen und Narben. Temperatur bei allen Kühen normal. Appetit fast wieder normal. Milchabsonderung stark vergrößert. Auch beim Euter und an den Klauen fehlen Krankheitserscheinungen.

8. März. Alle Kühe sind gesund. Krankheitserscheinungen fehlen. Milchabsonderung steigt täglich mehr.

23. März. Alle Kühe gesund. Milchabsonderung normal.

Aus der Zusammenstellung der Krankheitsbilder einerseits und der Menge der einzelnen Milchenzyme andererseits ersehen wir, daß der Krankheitszustand und ihre Intensität am deutlichsten durch die Diastase charakterisiert wird, weniger durch die Katalase, am geringsten aber durch Aldehydrase und Peroxydase. Die Außensymptome der Krankheit stimmen nicht mit denen, die aus der Milchdiastasemenge zu ersehen sind, überein. Man muß jedoch annehmen, daß die Diastasemenge besser und genauer die einzelnen Krankheitsstadien angibt als die Außensymptome, die bisher als maßgebend für den Krankheitsverlauf galten. Den Beweis dieser Meinung ersieht man in Tabelle I; die Diastase vermindert sich dort ebenso stufenweise, wie die Krankheit wohl abnimmt.

Zur weiteren Nachprüfung und Feststellung, daß wirklich die Milchdiastasemenge den Krankheitszustand bzw. die biochemischen Vorgänge im Organismus kennzeichnet, kommen wir zur zweiten Serie unserer diesbezüglichen Untersuchungen. Das Resultat zeigt Tabelle II.

Zweite Serie. Zustand der Kühe am:

2. März. Nr. 2, 23, 51 und 53, völlig gesund, wurden in den Seuchenstall gebracht.

3. März. Dieselben wurden mit dem Speichel der erkrankten Kühe infiziert. Nr. 2 und 51 außerdem noch 40 ccm Milch der erkrankten Kühe überimpft.

6. März. Alle Kühe machen einen gesunden Eindruck.

8. März. Nr. 2. Anzeichen der Maul- und Klauenseuche treten am Euter deutlich auf.

12. März. Nr. 2. Temperatur normal, Appetit schwankend, Milchabsonderung vermindert. Krankheitsanzeichen verhältnismäßig nicht besonders deutlich.

Nr. 33. Appetit schwankend, Temperatur normal. Krankheitsanzeichen fehlen.

Nr. 51. Temperatur normal, Appetit schwankend, Milchabgabe stark vermindert; liegt oft und ist apathisch. Schleimhaut weist keine Krankheits-symptome auf.

Nr. 53. Dasselbe wie Nr. 33.

Daraus entnehmen wir, daß die Krankheitserscheinung erst am sechsten Tage auftrat und am zehnten Tage sogar noch nicht besonders deutlich zu erkennen war. Durch die enzymatische Milchuntersuchung erkannte man

Tabelle I.

Datum	Kuh Nr.	Art der Krankheit	Bemerkungen	Temperatur °C	Melkzeit	Tägliche Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	Diaztase. Dextrinert in	Aldehydase, Methylblauenärb. in	Katalase, Sauerstoffmenge ccn	Peroxydase, Farbenintensität
2. III.	16	Krankheitsausbruch: 24. II.		38,5	10 bis 11h morgens	7,7	2,6	36'	7' 05"	126	kräftig blau
	18			38,4		12,5	3,2	29	7 00	63	blau
	23			38,6		4,7	3,0	16	9 00	105	kräftig blau
	26			38,2		14,0	2,9	29	7 00	65	blau
	42			38,3		9,5	2,4	24	8 50	14	"
	55			39,0		8,2	2,8	20	8 20	98	"
	56			39,5		10,5	3,9	32	9 05	41	kräftig blau
	58			40,1		5,0	3,6	19	1 50	120	"
4. III.	16	Maul- und Klauenseuche	Milch teilw. geronnen ebenso	38,7			2,9	36	2 00	210	dunkelblau
	18			39,0			2,7	25	2 00	140	"
	23			38,6			3,0	31	2 07	135	blau
	26			38,4			2,9	43	5 00	80	dunkelblau
	42			39,4			2,3	43	3 20	42	"
	55			38,4			2,5	53	4 30	43	"
	56			38,9			2,5	50	5 20	36	"
	58			39,1			3,5	12	1 00	280	"
6. III.	16	Maul- und Klauenseuche	Milch teilw. geronnen	38,7			3,0	33	3 00	280	blau
	18			39,1			3,1	49	4 10	82	dunkelblau
	23			38,2			3,2	27	6 50	238	"
	26			38,4			2,9	61	4 50	56	"
	42			38,4			2,6	48	4 00	77	blau
	55			38,9			2,9	53	5 20	112	"
	56			39,0			3,0	96	4 40	30,5	"
	58			39,1			3,6	48	4 10	70	dunkelblau
8. III.	16			38,7			3,0	64	4 00	72	blau
	18			39,0			2,9	66	5 10	31	dunkelblau
	23			38,4			3,4	70	4 20	26	blau
	26			38,9			2,8	68	4 30	20	"

Tabelle I. (Fortsetzung).

Datum	Kuh Nr.	Art der Krankheit	Bemerkungen	Temperatur °C	Melkzeit	Tagliche Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	Diastase, Dextrin in	Aldehydase, Methylenblaufärb. in	Katalase, Sauerstoffmenge ccm	Peroxydase, Farbenintensität
8. III.	42	Maul- u. Klauenseuche			10 bis 11 morgens		3,0	62'	5' 00"	42	dunkelblau
	55						3,0	120	4 50	18	"
	56						3,6	80	5 10	14	blau
	58						3,3	74	3 50	36	"
23. III.	16	Maul- u. Klauenseuche				2,9	150				
	18					3,0	118				
	26					3,0	120				
	42					2,8	142				
	55					2,9	130				
	56					2,8	145				
58	3,2	112									

Tabelle II.

Datum	Kuh Nr.	Art der Krankheit	Bemerkungen	Temperatur °C	Melkzeit	p _H	Tagliche Milchmenge kg	Fettgehalt Proz.	Diastase, Dextrin in	Aldehydase, Nitratmenge mg N ₂ O ₃	Katalase, Sauerstoffmenge ccm	Peroxydase, Farbenintensität
3. III.	2	Maul- u. Klauenseuche	Milch eingespritzt		mittags		13	3,4	130'	0,045	0,7	blau
	33						10	2,8	150	0,047	0,7	dunkelblau
	51						8	3,0	140	0,040	4,5	blau
	53						14	2,9	145	0,042	0,7	hellblau
	2						38,8	3,4	130	0,045	66,0	blau
	33						38,2	2,8	145	0,050	31,5	dunkelblau
4. III.	51	Maul- u. Klauenseuche	Milch eingespritzt		abends		3,1	140	0,039	70,0	hellblau	
	53						38,6	3,0	140	0,041	21,5	blau
	2						38,7	3,0	140	0,040	140,0	hellblau
	33						39,0	2,8	145	0,045	23,0	dunkelblau
	51						38,8	3,0	140	0,036	5,6	blau
	53						38,9	2,8	135	0,039	7,0	"

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Kuh Nr.	Art der Krankheit	Bemerkungen	Temperatur ° C.	Melkzeit	pH	Tägliche Milchmenge kg	Fettegehalt Proz.	Diastringe Dextrin in	Aldehydase, Nitratmenge m ₂ N ₂ O ₃	Katalase, Sauerstoffmenge ccm	Peroxydase, Farbenintensität			
4. III.	2	Maul- und Klauenseuche	Milch eingespritzt	38,2	mittags			3,2	120'	0,050	24,5	hellblau			
	33		—	38,2				3,1	135	0,049	8,4	dunkelblau			
	51		Milch eingespritzt	38,6				2,9	130	0,039	7,0	hellblau			
	53		—	38,8	3,0			120	0,042	1,4	blau				
5. III.	2		Milch eingespritzt	—	—			morgens			3,0	105	0,060	4,2	dunkelblau
	33		—	—	2,8						145	0,044	77,0	blau	
	51		Milch eingespritzt	—	—			3,1			136	0,040	8,4	dunkelblau	
	53		—	—	—			2,9			115	0,045	16,8	"	
	2		Milch eingespritzt	—	—			2,9			85	0,046	7,0	blau	
	33		—	—	—			3,0			129	0,040	2,8	dunkelblau	
6. III.	51		Milch eingespritzt	—	—			mittags			3,0	95	0,040	5,6	"
	53		—	—	3,3						80	0,047	0,7	"	
	2	Milch eingespritzt	—	—	2,9	85	0,046	14,0			blau				
	33	—	—	—	3,1	125	0,048	44,8			dunkelblau				
	51	Milch eingespritzt	—	—	3,2	90	0,039	14,5			blau				
	53	—	—	—	3,2	75	0,043	36,4			"				
8. III.	2	Milch eingespritzt	—	—	morgens			2,7	100	0,046	21,0	dunkelblau			
	33	—	—	2,9				130	0,042	7,0	blau				
	51	Milch eingespritzt	—	—	2,9			110	0,042	7,7	dunkelblau				
	53	—	—	—	2,7			104	0,038	4,2	blau				
	2	Milch eingespritzt	—	—	3,0			65	0,046	14,0	hellblau				
	33	—	—	—	3,0			110	0,040	7,0	dunkelblau				
8. III.	51	Milch eingespritzt	—	—	mittags			2,9	90	0,039	3,5	hellblau			
	53	—	—	2,9				72	0,040	49,0	blau				
	2	Milch eingespritzt	—	—	2,7			65	0,045	7,8	hellblau				
	33	—	—	—	2,9			110	0,047	9,8	blau				
	51	Milch eingespritzt	—	—	2,9			95	0,036	7,0	dunkelblau				
	53	—	—	—	2,7			80	0,040	12,6	blau				

Tabello II (Fortsetzung).

Datum	Kuh Nr.	Art der Krank- heit	Bemerkungen	Tempe- ratur ° C	Melkzeit	pH	Tägliche Milch- menge kg	Fettgehalt Proz.	Diastase, Dextrin in	Aldehyd- nitramenge mg N ₂ O ₃	Katalase- Sauerstoff- menge ccm	Peroxydase, Farbenintensität
8. III.	2	Maul- und Klauenseuche	Milch eingespritzt	}	mittags	}	}	3,0	65'	0,047	14,0	hellblau
	33		Milch eingespritzt					3,0	105	0,050	7,0	dunkelblau
	51		Milch eingespritzt					3,1	85	0,035	22,4	blau
10. III.	53		Milch eingespritzt	3,4	55	0,039	84,0	"				
	2		Milch eingespritzt	3,2	60	0,047	22,4	hellblau				
	33		Milch eingespritzt	3,4	95	0,045	42,0	blau				
12. III.	51		Milch eingespritzt	3,3	75	0,039	21,0	hellblau				
	53		Milch eingespritzt	3,2	50	0,042	37,8	blau				
	2		Milch eingespritzt	3,1	60	0,046	21,0	"				
15. III.	33		Milch eingespritzt	3,2	90	0,061	21,7	dunkelblau				
	51		Milch eingespritzt	3,3	70	0,040	26,6	hellblau				
	53		Milch eingespritzt	3,0	55	0,041	63,0	blau				
17. III.	2		Milch eingespritzt	3,4	80	0,041	46,2	"				
	33		Milch eingespritzt	3,1	115	0,050	14,0	dunkelblau				
	51		Milch eingespritzt	3,6	100	0,041	42,5	blau				
19. III.	53	Milch eingespritzt	3,6	105	0,032	10,5	hellblau					
	2	Milch eingespritzt	3,5	90	0,047	128,0	blau					
	33	Milch eingespritzt	3,4	125	0,041	59,0	"					
22. III.	51	Milch eingespritzt	3,5	107	0,042	207,0	dunkelblau					
	53	Milch eingespritzt	3,5	105	0,041	70,0	"					
	2	Milch eingespritzt	3,1	105	0,045	14,0	hellblau					
22. III.	33	Milch eingespritzt	3,2	140	0,041	35,5	dunkelblau					
	51	Milch eingespritzt	3,3	120	0,045	70,0	blau					
	53	Milch eingespritzt	3,2	108	0,040	14,5	"					
22. III.	2	Milch eingespritzt	3,0	140	0,050	2,0	hellblau					
	33	Milch eingespritzt	2,9	155	0,050	7,8	blau					
	51	Milch eingespritzt	3,1	140	0,039	14,8	dunkelblau					
53	Milch eingespritzt	3,0	145	0,035	0,8	"						

Tabelle III.

Datum	Kuh Nr.	Art der Krankheit	Bemerkung	Melkzeit	Fettgehalt Proz.	Diastase, Dextrinerung in	Aldehydrase, Methylenblaufärbung, in	Katalase, Sauerstoffmenge cum	Peroxydase, Farbensintensität
5. II.	53	Euterstrichentzündung	—	morgens	2,9	65'	5' 00"	252	dunkelblau
6. II.	53	—	kräftiges Stadium	—	3,3	25	5 07	212	—
16. IV.	3	Paralyse	schäumige Milch	mittags	—	12	4 10	420	blau
18. IV.	14	Epilepsie	—	"	—	75	6 20	280	—
18. IV.	15	Klauentzündung	—	"	—	65	5 00	18,2	dunkelblau

bereits schon am dritten Tage aus der Diastase-menge, daß im Organismus deutliche Störungen vorhanden seien. Am stärksten zeigte sich dieses bei Kuh Nr. 2, desgleichen bei Nr. 53, welche aber auf Grund der Außerscheidung gesund zu sein schien. Am vierten Tage, also am 6. März, zeigte die Diastase die Erkrankung aller Kühe, dauerndes Fortschreiten der Krankheiten und, daß dieselbe ihren Höhepunkt zwischen dem achten und zehnten Tage erreicht. Am 15. März trat eine Besserung ein; Temperatur normal, Appetit viel besser, Milchabsonderung noch gering. Am 19. März fehlten alle Krankheitssymptome. Appetit und Milchabsonderung noch schwankend. Erst am 22. März hatten die Kühe wieder guten Appetit, Milchabsonderung normal. Diese Rekonvaleszenz ist ganz besonders deutlich durch die Menge der Milchdiastase zu erkennen. Vom 15. bis 21. März veränderte sich die Diastasemenge stufenweise und kam am 22. März wieder auf ihren normalen Gehalt. Auch diese Tabelle zeigt wieder deutlich, daß Krankheitserscheinungen und überhaupt Störungen im Organismus nur durch die Menge der Milchdiastase festzustellen und genau zu prüfen ist. Die Katalase, auf die von verschiedenen Seiten auch zur Erkennung des Krankheitszustandes hingewiesen wird, ist, wie aus den Tabellen ersichtlich, nicht maßgebend. Dort, wo besonders große Krankheitserscheinungen oder Erkrankung der Euterstriche auftreten, reagiert die Katalase oft ganz besonders kräftig, aber auch in diesen Fällen weist die Diastasemenge auf diese Erscheinungen hin. (Siehe Tabelle III).

Ein ähnliches Bild, worüber wir bereits in früherer Arbeit gesprochen haben, zeigt die Milch hochtragender Kühe und die nach dem Kalben.

Schlußfolgerungen.

Die Untersuchungen über die Abhängigkeit der Milchenzyme von dem Krankheitszustand der Kuh führen uns zu folgendem Schluß:

1. Alle Störungen im Organismus der Kuh, pathologischer oder physiologischer Natur, sind durch die Milchdiastasemenge zu erkennen. Je mehr Diastase in der

Milch, je stärker also die Verzuckerung, desto größer die Störung im Organismus.

2. Milchkatalase reagiert auch sehr stark auf Krankheitszustände, ihre Menge vergrößert sich gewöhnlich mit Zunahme der Störung. Jedoch sieht man hier nicht die Regelmäßigkeit des Zu- bzw. Abnehmens, wie das bei der Diastasemenge, die den Krankheitsverlauf kennzeichnet, zu finden ist. Bei kleinen Störungen ist der Krankheitsverlauf durch die Katalasemenge nicht deutlich zu erkennen.

3. Die Diastasemenge gibt besser und genauer die einzelnen Krankheitsstadien an als die Außensymptome, die bisher als maßgebend für den Krankheitsverlauf galten. Die Katalase kann dagegen hier nur als Hilfe zur Mitbeobachtung dienen.

4. Aldehydrase und Peroxydase sind zur Erkennung von Störungen im Organismus nicht zu verwenden.

Die Milchsäurebildung in roten und weißen und funktionell verschiedenen Muskeln der Vögel¹⁾.

Von
Constanze Schmitt-Krahmer.

(Ausgeführt mit teilweiser Unterstützung der Notgemeinschaft der
deutschen Wissenschaft.)

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Berlin.)

(Eingegangen am 9. November 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Im Anschluß an bereits veröffentlichte Arbeiten über die Milchsäurebildung bei der Totenstarre der glatten Muskulatur des Tauben-²⁾ und Hühnermagens³⁾ wurde die postmortale Milchsäurebildung auch bei den quergestreiften Muskeln dieser Vögel systematisch untersucht. Dabei wurde besonderer Wert darauf gelegt, rote und weiße, sowie auch funktionell verschiedene Muskeln zu verarbeiten; denn es lag dieser Arbeit nicht nur die Absicht zugrunde, angesichts der hohen Bedeutung der Milchsäure für die Theorie der Muskelkontraktion und Totenstarre den bisherigen Mangel einschlägiger Untersuchungen an Vogelskelettmuskeln auszugleichen, sondern es sollte auch geprüft werden, ob und welcherlei Beziehungen sich zwischen der postmortalen Milchsäurebildung sowohl zur Muskelfarbe als auch zur Muskelfunktion nachweisen ließen. Gerade hierfür schienen die Vögel als Versuchstiere besonders geeignet, da hier bekanntlich nicht nur zwischen verschiedenen Muskeln der gleichen Tierart, z. B. Brust- und Beinmuskulatur beim Huhn, sondern auch zwischen gleichnamigen Muskeln verschiedener Arten, z. B. dem Brustmuskel von Huhn und Taube, bedeutende Unterschiede in Farbe und Funktion bestehen.

¹⁾ Vorläufig mitgeteilt auf dem 12. internationalen Physiologenkongreß, Stockholm 1926; siehe Skandinav. Arch. f. Physiol. 1926.

²⁾ E. Mangold und C. Schmitt-Krahmer, diese Zeitschr. **167**, 1, 1926.

³⁾ Dieselben, ebendasselbst **169**, 186, 1926.

Der Farbunterschied in den Muskeln hat schon öfter Anlaß dazu gegeben, die weißen und roten Anteile auf ihre physikalische und chemische Verschiedenheit hin zu prüfen.

Im allgemeinen wird der zuerst von *Ranvier*¹⁾ und *Grützner*²⁾ angedeutete funktionelle Unterschied zwischen roten und weißen Muskeln heute in physiologischen Betrachtungen und Zusammenfassungen viel zu sehr schematisiert und rot mit sarkoplasmareich und langsam, weiß mit sarkoplasmaarm und flink identifiziert, obwohl schon *Wörtz*³⁾ darauf hinwies, daß z. B. bei der Taube der dunkelrote *Musc. pect. major* schneller arbeitet als der blässere *Musc. pect. tertius*. Auf Grund umfassender Untersuchungen, unter anderem an verschiedenen Vogelarten, gelang auch *Knoll*⁴⁾ der Nachweis, daß flinke und träge Zuckung weder zum Farbstoff noch zum Protoplasmagehalt des Muskels in bestimmter Beziehung stehen. Aus all diesen wechselnden und noch sehr wenig genau erforschten Befunden und Zusammenhängen hebt sich aber doch mit ziemlich allgemeiner Gültigkeit hervor, daß die roten Muskeln meist für die anhaltenden Arbeitsleistungen bestimmt sind [*Knoll, Biedermann*⁵⁾].

In chemischer Hinsicht sind die roten und weißen Muskeln in früheren Jahren von *Fletcher*⁶⁾ untersucht worden. Er fand im roten *Soleus* des Frosches nach 3 und 6 Stunden geringere Mengen Milchsäure als im weißen *Gastrocnemius*. Auch *Gleiss*⁷⁾, der noch vor *Fletcher* die weißen und roten Anteile verschiedener Säugetiere in bezug auf ihr Säurebildungsvermögen miteinander verglichen hat, hatte stets die weißen Muskeln stärker sauer gefunden als die roten. *Fletcher* hat gleichzeitig sein Augenmerk darauf gerichtet, ob das Einsetzen der Totenstarre in roten und weißen Muskeln zu derselben Zeit vor sich geht. *Bierfreund*⁸⁾ hatte nämlich angegeben, daß die Starre bei den roten Muskeln *sehr viel später* beginnt als bei den weißen. Dies konnte von *Fletcher* nicht in vollem Maße bestätigt werden. Bei seinen Versuchen setzte die Starre bei den weißen Muskeln zwar meistens etwas früher ein als bei den roten, doch war der Unterschied in der Zeit für beide Muskelarten oft verschwindend klein. Sowohl *Bierfreund* als auch *Fletcher* fanden jedoch, daß die durch die Starre bewirkte Verkürzung des Muskels bei den roten Anteilen viel größer ist als bei den weißen.

Auch *Emden* und *Adler*⁹⁾ haben, und zwar am Kaninchen, ebenso *Lyding*¹⁰⁾ am Huhn charakteristische Unterschiede zwischen der weißen

¹⁾ *Ranvier*, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1874.

²⁾ *Grützner*, Breslauer ärztl. Zeitschr. 1887, S. 1; Recueil zool. Suisse Nr. 4, 1, 1884.

³⁾ *Wörtz*, Ein Beitrag zur Chemie der roten und weißen Muskeln. Med. Dissertation, Tübingen 1889.

⁴⁾ *Knoll*, Sitz.-Ber. Wien. Akad., math.-nat. Kl., Abt. 3, S. 98, 1889; 101, 315, 481, 1892; Denkschrift d. Wiener Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., 58, 633, 1891.

⁵⁾ *Biedermann*, Elektrophysiologie. Jena, G. Fischer.

⁶⁾ *Fletcher*, Journ. of Physiol. 47, 375, 1913.

⁷⁾ *Gleiss*, Pflügers Arch. 41, 69, 1887.

⁸⁾ *M. Bierfreund*, ebendasselbst 43, 195, 1888.

⁹⁾ *G. Emden* und *E. Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 113, 201, 1921.

¹⁰⁾ *G. Lyding*, ebendasselbst 113, 223, 1921.

und roten Muskulatur festgestellt. Es handelt sich dabei um das Lactacidogen, welches in den weißen Muskeln viel höhere Werte erreicht als in den roten.

Etwas anders verhält es sich bei den Taubenmuskeln. Hier ist gewissermaßen ein Analogon zu der oben erwähnten Arbeit von *Wörtz* vorhanden. *Lyding* fand nämlich den Lactacidogengehalt des Taubenbrustmuskels wesentlich höher als den der Oberschenkelmuskulatur, obgleich letztere eher heller gefärbt ist als der Brustmuskel. Er bringt den hohen Lactacidogengehalt des Brustmuskels in Zusammenhang mit der Fähigkeit zu rascher Kontraktion und kommt zu dem Schluß: „Ebensowenig wie die rote Färbung immer mit langsamer Beschaffenheit des Muskels verbunden ist, muß danach der Lactacidogengehalt eines roten Muskels stets ein niedriger sein“. Mit den Ergebnissen von *Emden* und seinen Mitarbeitern lassen sich auch die vorliegenden Untersuchungen über die postmortale Milchsäurebildung der Vögel in beste Übereinstimmung bringen, wie weiter unten gezeigt werden wird.

B. Methodik.

Als Versuchsmaterial wurde von Tauben und Hühnern sofort nach der Tötung durch Dekapitieren die Brust- und Beinmuskulatur entnommen und, durch glatte Scherenschnitte in möglichst gleichmäßige Stücke zerteilt, in die einzelnen, bereitgestellten Wägegläschen gebracht. Die weitere Verarbeitung bis zur quantitativen Milchsäurebestimmung, sowie diese selbst, wurde in genau derselben Art durchgeführt, wie dies früher beschrieben worden ist¹⁾.

C. Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse sind hier zunächst für die verschiedenen Muskelarten getrennt wiedergegeben. Im zweiten Abschnitt findet sich der Vergleich der Milchsäurebildung bei diesen Muskelarten.

I. Die Milchsäurebildung in den verschiedenen Arten der quergestreiften Vogelmuskeln²⁾.

1. Taubenmuskeln.

a) Brustmuskulatur.

Es gelangten 11 Brustmuskeln von ebensoviel Tauben zur Untersuchung. Anfangs wurde nur der halbe, später, um möglichst lange und kontinuierliche Versuchsreihen zu erhalten, der ganze *Musc. pect. major* verarbeitet. Dabei ließen sich irgendwelche typischen Unterschiede im Verlauf der postmortalen Milchsäurebildung ebensowenig zwischen dem rechten und linken Brustmuskel feststellen, wie auch zwischen Ursprung und Ansatz desselben Muskels. Die entweißten Filtrate waren stets gelb gefärbt und enthielten oft Fetttröpfchen.

¹⁾ *E. Mangold* und *C. Schmitt-Krahmer*, diese Zeitschr. **167**, 5, 1926.

²⁾ Beim Ansetzen der Versuche wurde ich in dankenswerter Weise von Frau *H. Poschmann* unterstützt.

Aus der Tabelle I ist zu erkennen, daß, abgesehen von einem einzigen Falle (Tauben 8), stets gleich nach dem Tode eine erhebliche Milchsäurebildung einsetzt. Nach 3 bis 4 Stunden wird im allgemeinen der erste Höhepunkt erreicht, der oft schon um 100 Proz. höher liegt als der Anfangswert. Dann folgt ein schwaches oder auch stärkeres Absinken der Milchsäurewerte, das jedoch nach 1, spätestens nach 2 Stunden einem erneuten Anstieg weicht. Diejenigen Brustmuskeln, deren Untersuchung mit der siebenten Stunde p. m. ihren Abschluß fand, zeigten um diese Zeit (außer Tauben 5) stets ihren maximalen Wert. Wurde die Milchsäurebestimmung auch noch auf spätere Stunden ausgedehnt, so fand sich das Maximum zwischen der achten bis zehnten Stunde, wobei zu bemerken ist, daß auch hier der Erreichung des größten Wertes ein Absinken vorausgeht. In einem Falle (Tauben 7) wurde das Maximum erst 24 Stunden p. m. festgestellt.

b) Beinmuskulatur.

Von allen Tauben wurde gleichzeitig mit der Brustmuskulatur auch die der Beine untersucht und dabei so verfahren, daß Ober- und Unterschenkel stets getrennt verarbeitet wurden. In der Tabelle II zeigen die Buchstaben „o“ und „u“, ob es sich um einen Ober- oder Unterschenkel handelt. Wie zu ersehen ist, ist der Unterschied zwischen den Milchsäurewerten der Ober- und Unterschenkelmuskulatur nicht größer als die Schwankungen in ein und derselben Muskelart.

Die Milchsäurebildung steigt auch hier gleich zu beträchtlichen Werten an, und einen ersten Höhepunkt finden wir schon nach 2 bis 3 Stunden. Das absolute Maximum wird aber auch hier erst nach einem zweiten bzw. dritten Anstieg der Milchsäurewerte erreicht, je nach der Länge der Zeit, über die der Versuch ausgedehnt wurde.

2. Hühnermuskeln.

a) Brustmuskulatur.

Von 6 unter den 12 zur Untersuchung dienenden Hühnern wurde der halbe Brustmuskel verarbeitet, der infolge seiner Größe genügend Anteile liefert, um auch auf dem längeren Zeitraum von 14 Stunden kontinuierlich von Stunde zu Stunde eine Bestimmung auszuführen.

Wie die Tabelle III erkennen läßt, zeigen die Hühnermuskeln ausnahmslos den auch bei den Tauben beobachteten steilen Anstieg der Milchsäurebildung gleich nach dem Tode. Der erste Höhepunkt wird nach 4 bis 8 Stunden p. m., das absolute Maximum zwischen der 4. und 13. Stunde erreicht. In allen Versuchsreihen ist ein mindestens dreimaliges Absinken und Ansteigen der Werte zu beobachten.

Tabelle I.
 Prozent Milchsäure in der Brustmuskulatur der Taube.

Zeit nach dem Tode	Taube										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
10 — 17'	0,328	0,359	0,301	0,386	0,314	0,420	0,232	0,461	0,221	—	0,281
1h	0,341	0,491	0,336	0,468	0,497	0,579	0,329	0,356	—	0,356	0,323
2	—	—	0,543	0,548	—	0,695	0,512	0,430	0,529	0,532	0,425
3	0,581	0,586	0,577	0,580	0,475	0,705	0,601	0,554	0,538	0,661	0,557
4	0,600	0,593	0,724	0,655	0,652	0,463	—	0,506	0,519	0,715	0,677
5	—	0,440	0,570	0,504	0,686	0,619	0,700	0,543	0,699	0,694	0,686
6	0,504	0,421	0,638	0,521	0,682	0,641	0,684	0,585	0,778	0,667	0,709
7	0,668	0,611	0,805	0,654	0,546	0,579	0,703	0,528	0,703	0,737	0,714
8	—	—	—	—	—	0,662	0,728	0,678	0,685	0,663	—
9	—	—	—	—	—	0,741	0,702	0,713	0,696	0,734	0,778
10	—	—	—	—	—	0,670	0,667	0,616	0,806	0,759	0,734
11	—	—	—	—	—	—	—	—	0,790	0,693	0,756
12	—	—	—	—	—	—	—	—	0,685	0,668	0,681
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,694	0,717
14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,590	0,701
24	—	—	—	—	—	0,731	0,748	0,668	0,734	0,740	0,707

Tabelle II.
Prozent Milchsäure in der Beinmuskulatur der Taube.

Zeit nach dem Tode	Taube										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
19-28'	0,255 o	0,241 o	0,188 o	0,167 u	—	0,175 u	—	0,172 o	0,209 o	0,199 u	0,226 o
1 15'	0,373 o	0,381 o	0,267 o	0,299 u	0,291 u	—	—	—	—	—	—
2 5	0,349 u	0,389 u	0,436 u	0,368 o	—	0,430 u	—	—	0,399 o	—	—
3 5	0,488 u	—	0,374 u	0,451 o	0,431 o	—	—	0,482 o	—	—	—
4 5	0,483 o	0,432 o	0,444 o	0,443 u	0,389 o	0,439 o	—	—	0,357 u	—	—
5 5	0,552 o	0,472 o	0,447 o	0,455 u	0,491 u	0,525 o	—	0,466 u	—	—	—
6 5	0,668 u	0,509 u	0,442 u	0,480 o	0,400 u	0,474 u	—	0,562 u	0,433 u	—	—
7 5	0,493 u	—	0,565 u	0,420 o	0,516 o	0,587 u	—	—	—	0,481 u	0,524 o
8 5	—	—	—	—	—	0,444 o	0,437 u	0,553 o	0,449 o	0,516 u	0,445 o
9 5	—	—	—	—	—	0,518 o	0,497 u	0,577 o	0,500 o	0,545 u	0,515 o
10 5	—	—	—	—	—	—	0,433 o	0,548 u	—	0,499 o	0,537 u
11 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,595 o	0,610 u
12 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,515 o	0,531 u
24 5	—	—	—	—	—	—	0,382 o	0,613 u	0,436 u	0,595 o	0,589 u

Tabelle III.

Prozent Milchsäure in der Brustmuskulatur des Huhnes.

Zeit nach dem Tode	Huhn					
	6	7	8	9	11	12
12—20'	0,191	0,404	0,232	0,647	—	0,505
1h	0,284	0,528	0,271	0,670	—	0,582
2	0,327	0,517	0,322	0,804	0,880	0,839
3	0,353	0,572	0,350	0,835	0,939	0,967
4	0,454	0,657	0,443	0,950	1,034	1,037
5	0,493	0,784	0,468	0,869	0,989	1,031
6	0,575	0,636	0,707	1,017	0,878	1,037
7	0,662	0,697	0,713	1,030	0,823	1,092
8	0,743	0,780	0,739	1,041	0,889	1,060
9	0,667	0,793	0,682	1,038	1,011	0,964
10	0,684	0,815	0,960	1,103	0,970	0,957
11	0,873	0,691	0,779	1,229	0,908	1,038
12	0,622	0,705	1,004	1,143	0,959	1,068
13	0,677	0,674	1,025	1,182	0,999	1,074
14	0,648	0,637	0,993	0,897	0,891	1,047
24	0,731	0,754	0,760	0,935	0,970	1,080

b) Beinmuskulatur.

Bei den ersten Untersuchungen, die ich an quergestreiften Vogelmuskeln vornahm, um zunächst Aufschluß über die Größe ihrer postmortalen Milchsäurebildung im Vergleich zu der der glatten zu erhalten, wurden die Beinmuskeln von Huhn 1 bis 5 benutzt und Ober- und Unterschenkel nicht voneinander geschieden. Weiterhin wurde, mit Ausnahme von Huhn 10, nur die Muskulatur je eines Beines verarbeitet, und zwar wurde diese bei Huhn 6 bis 8 nach Ober- und Unterschenkel getrennt untersucht, bei Huhn 9 bis 12 dagegen getrennt nach roten und weißen Anteilen, auf deren Vorkommen in mancherlei Abstufungen von Weiß nach Rot für die untere Extremität des Haushuhnes schon *Knoll*¹⁾ hingewiesen hat.

Auch hier (Tab. IV) finden wir, genau wie bei den anderen bisher untersuchten Muskelarten, eine stark zunehmende Milchsäurebildung unmittelbar nach dem Tode (nur in zwei Fällen, bei Huhn 7 und 12 w, nicht deutlich ausgeprägt) und ebenso auch ein mehrmaliges Ansteigen und wieder Abnehmen der Milchsäurewerte. Der erste Höhepunkt wird zwischen der ersten und fünften Stunde p. m. erreicht, das Maximum, falls die Versuche nach der neunten Stunde abgebrochen wurden, zwischen der fünften und siebenten Stunde p. m. Wurden die Untersuchungen bis zur 10. bzw. 12. Stunde p. m. durchgeführt, so liegt der höchste Wert zwischen der 8. und 11. Stunde p. m.

¹⁾ *Ph. Knoll*, Literatur s. S. 273.

Tabelle 11.
Prozent Milchsäure in der Beinmuskulatur des Huhnes.

Zeit nach dem Tode	Huhn													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
21-35'	0,213	0,166	0,232	0,290	0,270	0,075	0,356	0,290	0,222	0,381	0,125	0,213	0,232	0,490
1h5'	0,326	0,246	0,342	0,392	0,321	0,156	0,342	0,375	—	—	0,270	0,279	—	0,318
2 5	0,471	0,331	0,350	0,379	0,304	0,224	0,443	0,381	0,288	0,580	0,346	—	0,634	0,533
3 5	0,301	0,486	0,400	0,443	—	0,398	0,395	0,558	—	—	0,333	0,339	—	—
4 5	0,420	0,438	0,409	0,386	0,427	0,417	0,527	0,593	0,554	0,567	0,266	0,392	0,542	0,545
5 5	0,363	0,515	—	0,428	0,383	0,382	0,590	0,515	0,660	0,753	0,330	0,377	0,619	0,683
6 5	0,428	0,705	0,445	0,519	0,426	0,393	0,503	0,355	0,609	0,694	0,321	0,551	0,568	0,693
7 5	0,582	0,431	0,634	0,465	0,451	0,343	0,496	0,564	0,511	0,678	0,501	0,564	—	0,406
8 5	—	—	—	—	—	0,641	0,523	0,604	0,583	0,623	0,582	0,482	0,386	0,720
9 5	—	—	—	—	—	0,536	0,572	0,491	—	—	0,428	0,618	—	—
10 5	—	—	—	—	—	0,571	0,537	0,419	—	—	0,241	—	0,645	0,702
11 5	—	—	—	—	—	0,562	0,592	0,613	—	—	—	—	—	—
12 5	—	—	—	—	—	0,567	0,499	0,571	—	—	—	—	—	—
24 5	—	—	—	—	—	0,500	0,562	0,536	—	—	0,346	0,572	0,566	0,670
														0,567
														0,716

*) Die hellen Muskelanteile wurden je 10' nach der vollen Stunde p. m. verarbeitet.

Betrachtet man Tabelle IV (Huhn 6 bis 8) etwas genauer, so läßt sich leicht feststellen, daß auch hier, gerade so wie nach Tabelle II an der Beinmuskulatur der Taube, ein charakteristischer Unterschied für die postmortale Milchsäurebildung zwischen der Ober- und Unterschenkelmuskulatur nicht besteht. Dasselbe gilt auch für deren Vergleich mit der gemischten Beinmuskulatur (Huhn 1 bis 5).

II. Vergleich der Milchsäurebildung bei den verschiedenen Muskelarten.

Nach der unter I. gegebenen Übersicht über die einzelnen Versuchsreihen sollen nun die Unterschiede und Übereinstimmungen zwischen den verschiedenen Muskelarten hinsichtlich ihrer postmortalen Milchsäurebildung hervorgehoben werden.

Das vorliegende Material gestattet zu vergleichen:

1. Muskeln verschiedener Färbung.

Dabei können gegenübergestellt werden: Beim Huhn rote und helle Beinmuskeln und der noch hellere Brustmuskel; bei Huhn und Taube der weiße und rote Brustmuskel; bei der Taube der dunkelrote Brustmuskel und die weniger stark rote Beinmuskulatur.

2. Muskeln gleicher und verschiedener Funktion.

Hierbei sind zu vergleichen: Beinmuskulatur von Huhn und Taube; Hühner- und Taubenbrustmuskel; Brust- und Beinmuskulatur (sowohl beim Huhn als bei der Taube).

3. Quergestreifte und glatte Vogelmuskulatur.

4. Muskeln verschiedener Tierarten.

1. Muskeln verschiedener Färbung.

Wie aus Tabelle IV hervorgeht, zeigen die hellen Anteile der Hühnerbeinmuskeln, abgesehen von Huhn 11, gleich nach dem Tode schon größere Milchsäurewerte als die roten und in ihrem weiteren Verlauf ausnahmslos ein deutliches Überwiegen der Milchsäurebildung. Der Unterschied trat um so deutlicher hervor, je blasser die helle und je dunkler die rote Muskulatur erschien. Der höchste beobachtete Wert beträgt für die hellen Muskeln 0,753 Proz., für die roten dagegen 0,660 Proz. (Huhn 9).

Der im Vergleich mit der hellen Beinmuskulatur noch blässere Brustmuskel des Huhnes, den man wirklich als weißen Muskel bezeichnen kann, bildet, wie die Tabellen III und IV zeigen, bei ein und demselben Tiere (vgl. Huhn 9 und 12) schon anfänglich bedeutend mehr Milchsäure als die hellen Beinmuskeln. Die übrigen Frischwerte für den Brustmuskel liegen nicht so hoch. Verfolgt man jedoch die einzelnen Versuchsreihen weiter, so sieht man, daß der Brustmuskel

in vier Fällen (Huhn 7, 9, 11, 12) schon 5 Stunden p. m. einen Milchsäurewert zeigt, der das Maximum der hellen Beinmuskeln übersteigt, und auch Huhn 6 sowohl als Huhn 8 überschreiten dieses Maximum noch wesentlich, wenn auch erst in späteren Stunden.

Die größte Menge Milchsäure, die von dem weißen Hühnerbrustmuskel gebildet wurde, beträgt 1,229 Proz. (Huhn 9, 11 Stunden p. m.); sie ist um mehr als 50 Proz. größer als das Maximum der hellen und fast doppelt so groß wie das der dunklen Beinmuskeln.

Ungefähr den gleichen Unterschied in bezug auf die Größe der Milchsäurebildung, wie wir ihn zwischen dem weißen Brustmuskel und der hellen Beinmuskulatur des Huhnes gefunden haben, sehen wir auch beim Vergleich des weißen Hühnerbrustmuskels mit dem roten Taubenbrustmuskel, bei dem der höchst beobachtete Wert allerdings etwas größer ist als der der hellen Hühnerbeinmuskulatur. Er beträgt 0,806 Proz. (Tauben 9, 10 Stunden p. m.).

Ferner ist hinzuweisen auf den Farbunterschied von Brust- und Beinmuskulatur der Taube. Er ist nicht immer sehr stark ausgeprägt, im allgemeinen kann man aber doch von dem dunkelroten *Musc. pect. major* und der weniger stark roten Beinmuskulatur sprechen. Was man nach dem oben Gesagten auch für diese Taubenmuskeln erwarten sollte, nämlich größere Milchsäurewerte für die rote Bein- als für die dunkelrote Brustmuskulatur, trifft nun aber nicht zu. Der Brustmuskel zeigt stets gleich nach dem Tode stärkere Milchsäurebildung als der dazu gehörige Beinmuskel, und dasselbe gilt auch für die späteren Stunden, wenn man absieht von den wenigen Ausnahmefällen, in denen die Milchsäurewerte des Beinmuskels die des Brustmuskels eben erreichen oder vorübergehend etwas überschreiten (vgl. Tabellen I und II: Taube 1, 6 Stunden p. m.; Taube 2, 5 und 6 Stunden p. m.; Taube 6, 7 Stunden p. m.).

In der Abb. 1 sind als Beispiel für die postmortale Milchsäurebildung der verschieden gefärbten Muskeln die Durchschnittskurven der Hühnerbeinmuskeln gegeben. Weitere Durchschnittskurven heller und dunkler Muskeln sind aus Abb. 2 zu ersehen (Huhn: Brust-

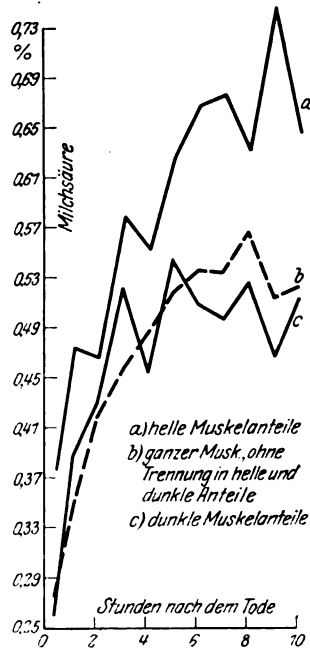


Abb. 1.
Huhn, Beinmuskulatur.

muskulatur; Taube: Brust-, Beinmuskulatur). Auch ein Vergleich der beiden Kurvenbilder (1 und 2) bestätigt das, was im einzelnen schon ausgeführt wurde.

Vergleicht man sowohl in den Tabellen wie auch auf den Abbildungen die Milchsäurebildung der verschieden gefärbten Muskeln gleich nach dem Tode, so ist nicht zu erkennen, daß eine der beiden Muskelarten früher mit der Milchsäurebildung einsetzt als die andere. Zieht man in Betracht, daß die ersten Bestimmungen bei den gut miteinander vergleichbaren Muskeln des Hühnerbeins erst 21 bis 35 Minuten p. m. ausgeführt wurden, so ist es allerdings möglich, daß ein in dieser Zeit vorhanden gewesener Unterschied der Untersuchung entgangen ist.

Anscheinend stimmt hier das Einsetzen der Milchsäurebildung überein mit den anfangs erwähnten Versuchen von *Fletcher* über den Beginn der postmortalen Starreverkürzung.

Während jedoch beim Kaninchen der rote Sol. durch die Starre in viel stärkerem Maße verkürzt wird als der weiße Gastroc. (*Bierfreund*, *Fletcher*), ist die Milchsäurebildung in den hellen Anteilen des Hühnerbeins bedeutend größer als in den roten.

Nach Abschluß meiner Untersuchungen kam mir eine erst kürzlich erschienene Arbeit von *D. Moyle-Needham*¹⁾ in die Hände. Die Verfasserin berichtet unter anderem über frühere, unveröffentlichte Arbeiten, die sich auch auf die Milchsäurebildung in Hühner- und Taubenmuskeln beziehen. Was die Milchsäurebildung in roten und weißen Hühnermuskeln anbelangt, so kann ich in den Versuchen von *Moyle-Needham* eine Bestätigung meiner eigenen Resultate finden. Anders verhält es sich bei der Taube. Ihre Werte für die hellroten Taubenmuskeln fallen fast zusammen mit denjenigen der blassen Hühnermuskeln, und bei dem tiefroten *Musc. pect. major* der Taube findet sie Milchsäuremengen, die teilweise doppelt so groß sind. Leider gibt die Verfasserin keine Zahlenwerte an und macht auch keine Mitteilung über die Lebensbedingungen ihrer Tauben.

2. Muskeln gleicher und verschiedener Funktion.

Da unsere Tauben sich nur im Schlage aufhielten, ohne auszufliegen, so kann die vitale Betätigung der Beinmuskeln unserer Versuchstauben und -hühner wohl als ziemlich gleichartig angenommen werden.

Vergleicht man nun die Milchsäurewerte auf den Tabellen II und IV miteinander, so findet man, daß die Anfangswerte für die Milchsäurebildung in der Beinmuskulatur des Huhnes nur in drei Fällen (Huhn 4, 7, 8) wesentlich größer sind als die der Taube, und wenn auch der höchst beobachtete Wert für die Milchsäurebildung in der Tauben-

¹⁾ *D. Moyle-Needham*, *Physiol. Rev.* **6**, 1, 1916.

beinmuskulatur nur 0,668 Proz. (Taube 1, 6 Stunden p. m.) beträgt, dagegen der des Hühnerbeins 0,705 Proz. (Huhn 2, 6 Stunden p. m.), so liegen alle übrigen maximalen Werte des Huhnes in den Grenzen, die auch von der Taube erreicht werden. Alles in allem läßt sich sagen, daß die postmortalen Milchsäurewerte für die funktionell gleichartigen Hühner- und Taubenbeinmuskeln von derselben Größenordnung sind.

Anders verhält es sich bei den *Muskeln verschiedener Funktion*. Vergleichen wir erst einmal Tauben- und Hühnerbrustmuskel (Tabelle I mit Tabelle III). Selbst diejenigen Versuchsreihen der Hühnerbrustmuskulatur, deren Frischwerte sich nicht wesentlich unterscheiden von denjenigen des Taubenbrustmuskels, weisen in späteren Stunden Milchsäuremengen auf, wie sie vom Taubenbrustmuskel nicht erreicht werden (Tabelle III: Huhn 6, 11 Stunden p. m.; Huhn 7, 10 Stunden p. m.; Huhn 8, 10 und 12 bis 14 Stunden p. m.). Auf die als höchste beobachteten Werte in der Brustmuskulatur beider Vögel ist schon beim Vergleich dieser Muskeln auf Grund ihrer verschiedenen Färbung (s. S. 280) hingewiesen worden. Der mehr ruhende Brustmuskel des Huhnes zeigt also die höheren Milchsäurewerte.

Die naheliegende Annahme, daß der Unterschied in der Milchsäurebildung zweier Muskeln desto größer sein muß, je mehr sie in der Arbeitstätigkeit voneinander abweichen, wird bestätigt durch den Vergleich von Brust- und Beinmuskulatur des Huhnes; ein Blick auf die Tabellen III und IV läßt ohne weiteres erkennen, wie die postmortalen Milchsäuremengen des Hühnerbeins zurückbleiben gegen diejenigen des Hühnerbrustmuskels.

Aber auch beim Vergleich von Brust- und Beinmuskulatur der Taube (Tabellen I und II), auf dessen Einzelheiten schon im ersten Abschnitt dieses Kapitels eingegangen wurde, läßt sich feststellen, wie die größere Tätigkeit des Muskels mit der geringeren Milchsäurebildung einhergeht. Denn wenn der Brustmuskel unserer Tauben, die nie den Schlag verlassen, auch nicht ganz untätig sein wird, so sind doch jedenfalls die Beinmuskeln durch Sitzen und Umherlaufen mehr angestrengt.

Nach alledem möchte man vermuten, daß auch der Unterschied in der Milchsäurebildung der roten und hellen Anteile des Hühnerbeinmuskels, von dem früher die Rede war (s. S. 280), der Ausdruck einer funktionellen Verschiedenheit der verschieden gefärbten Muskeln des Hühnerbeins ist.

Abb. 2 gibt eine gute Vorstellung von dem, was hier über die Milchsäurebildung in Muskeln gleicher und verschiedener Funktion gesagt wurde.

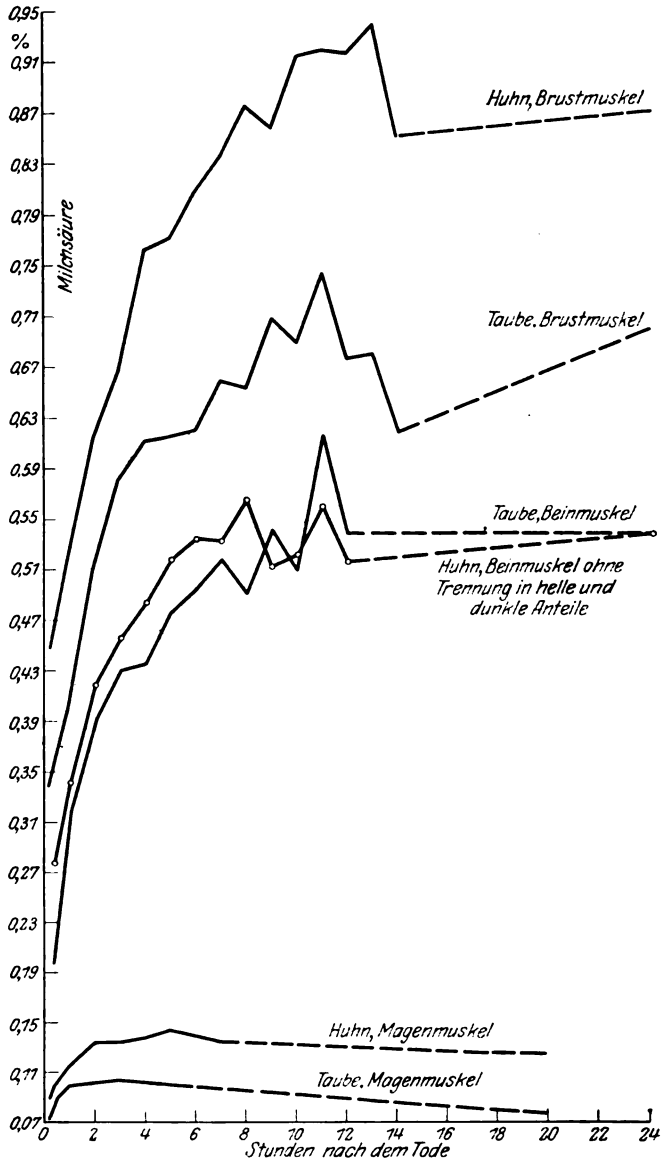


Abb. 2.

Alle Kurven (Abb. 1 und 2) wurden, wie es auch schon früher¹⁾ beschrieben worden ist, auf einen jeder Muskelart zur bestimmter Stunde gemeinsamen Wert reduziert. Es sollten hiermit die Ungleich

¹⁾ E. Mangold und C. Schmitt-Krahmer, diese Zeitschr. 167, 7, 1920

heiten etwas beseitigt werden, die dadurch entstehen, daß die Anzahl der ausgeführten Bestimmungen zu den verschiedenen Zeiten nicht immer die gleiche war. Die Schwankungen im Verlauf der Milchsäurebildung, die sowohl im einzelnen Versuch (s. Tabellen I bis IV), wie auch in den Zacken der Durchschnittskurven hervortreten, möchte ich dadurch erklären, daß im Muskelbrei dem Prozeß der Milchsäurebildung vielleicht ein anderer Vorgang entgegenläuft, der die gebildete Milchsäure wieder zerstört¹⁾.

Auf der Abb. 2 sind zum Vergleich auch noch die postmortalen Milchsäurekurven der glatten Magenmuskulatur²⁾ herangezogen. Auch hier finden wir Unterschiede zwischen Huhn und Taube, die sich nach der Funktion zu richten scheinen. Der Taubenmagen, der nur hartes Körnerfutter zerkleinert, also mehr Arbeit leistet als der Hühnermagen, dem auch Weichfutter zugeführt wird, bildet die kleineren Milchsäuremengen.

Aus der Gesamtheit der hier gezogenen Vergleiche läßt sich der allgemeine Schluß ziehen, daß die *postmortale Milchsäurebildung nicht unbedingt abhängig ist von der Farbe der Muskeln, dagegen offenbar in weitem Maße von der Funktion*. Die vitale funktionelle Betätigung der Muskeln und ihre postmortale Milchsäurebildung stehen anscheinend in umgekehrtem Verhältnis zueinander.

Diese Ergebnisse stehen, wie schon oben angedeutet wurde, in bester Übereinstimmung mit den Versuchen von *Lyding* über den Lactacidogengehalt von Hühner- und Taubenmuskeln³⁾.

Vergleichen wir nun weiter auch noch

3. Quergestreifte und glatte Vogelmuskulatur.

Tabelle V gibt eine Zusammenstellung der postmortalen Milchsäurewerte für Hühner und Tauben, in der die frei stehenden Zahlen die Durchschnittswerte, die eingeklammerten die Schwankungen angeben, und in der nicht nur die quergestreifte, sondern auch die glatte Muskulatur berücksichtigt ist.

Es läßt sich erkennen, daß die Milchsäurewerte der glatten Muskeln nicht alle kleiner sind als die der quergestreiften. Auch die glatte Magenmuskulatur ist also imstande, Milchsäuremengen zu bilden, die schon im Bereich der Skelettmuskeln liegen.

In der letzten Spalte der Tabelle sind noch die frühesten und spätesten Zeiten p. m. angegeben, innerhalb deren bei den verschiedenen

¹⁾ Siehe auch *Emlden, Schmitz und Meincke*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **113**, 10, 1921.

²⁾ Vgl. *E. Mangold* und *C. Schmitt-Krahmer*, diese Zeitschr. **167**, 7, 1926; **169**, 189, 1926.

³⁾ *G. Lyding*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **113**, 223, 1921.

Tabelle V.

Muskelart	Proz. Milchsäure		Stdn. p. m. für die Erreichung der Maxima
	Anfangswerte	Maxima	
Huhn			
Brustmuskel	0,396 (0,191 — 0,647)	1,011 (0,815 — 1,229)	4 — 13
Beinmuskel	0,277 (0,075 — 0,436)	0,607 (0,451 — 0,707)	5 — 11
" weiß	0,374 (0,213 — 0,490)	0,706 (0,618 — 0,753)	5 — 9
" rot	0,260 (0,125 — 0,461)	0,615 (0,572 — 0,660)	5 — 10
Magenmuskel	0,089 (0,059 — 0,135)	0,150 (0,087 — 0,184) *)	2 — 7
Taubе			
Brustmuskel	0,330 (0,221 — 0,461)	0,723 (0,611 — 0,806)	4 — 10
Beinmuskel	0,204 (0,167 — 0,255)	0,544 (0,480 — 0,668)	6 — 10
Magenmuskel	0,075 (0,049 — 0,098)	0,102 (0,073 — 0,140)	1 — 5

*) Vereinzelter Wert 0,323 Proz.

Muskelarten das Maximum erreicht wurde. Während bei der glatten Muskulatur das Maximum schon 1 bis 2 Stunden p. m. auftreten kann, ist dies für die quergestreifte frühestens nach 4 Stunden der Fall. Im übrigen geht aus dieser Tabelle auch ohne weitere Erläuterung hervor, daß zwischen der Größe der Milchsäurebildung und der bis zur Erreichung des Maximums verstrichenen Zeit kein Zusammenhang besteht.

4. Muskeln verschiedener Tierarten.

Zum Schluß seien noch in der Tabelle VI einige, in der Literatur bereits veröffentlichte Milchsäurewerte von Frosch- und Säugermuskeln¹⁾ zusammengestellt.

Tabelle VI.

Tierart	Proz. Milchsäure	Autor
Froschmuskeln	0,03 — 0,04	Hirsch-Kauffmann
	0,015 — 0,018	Bürgi
Starre Frosch- u. Säugermusk.	0,29 — 0,65	Röhmann
Kaninchen	0,3 — 0,5	Fletcher und Hopkins
Maxima verschiedener Säuger	0,3 — 0,6	Verschiedene Autoren
	0,4 — 0,9	Mondschein

¹⁾ Vgl. E. Mangold, *Ergebn. d. Physiol.* 25, 81, 1926.

Vergleicht man die Tabellen V und VI miteinander, so ergibt sich, daß die glatte Muskulatur von Huhn und Taube im allgemeinen schon höhere Milchsäurewerte erreicht als die quergestreiften Froschmuskeln, und daß die Milchsäurebildung in den quergestreiften Muskeln der Vögel die bisher bekannten Werte der Säugermuskeln nicht nur erreicht, sondern auch überschreiten kann.

D. Zusammenfassung.

1. Die postmortale Milchsäurebildung wurde bei den quergestreiften Muskeln der Vögel untersucht, wobei sowohl rote und weiße, als auch funktionell gleiche und verschiedene Muskeln von Huhn und Taube zur Verwendung kamen.

2. Unter diesen erreicht der Hühnerbrustmuskel als der hellste von allen die höchsten, die ausgesprochen roten Muskeln des Hühnerbeins dagegen die niedrigsten maximalen Milchsäurewerte.

3. Die Größe der postmortalen Milchsäurebildung ist jedoch nicht ohne weiteres abhängig von der Farbe des Muskels.

4. Denn der dunkelrote Brustmuskel der Taube zeigt höhere Werte als ihre heller rote Beinmuskulatur und den gleichen Verlauf der Milchsäurebildung wie die ausgesprochen hellen Muskeln des Hühnerbeins.

5. Die Größe der postmortalen Milchsäurebildung steht vielmehr allem Anschein nach im Zusammenhang mit der Funktion, und zwar wahrscheinlich im umgekehrten Verhältnis zur Funktion des betreffenden Muskels, indem die im Leben am wenigsten tätigen Muskeln die höchste postmortale Milchsäurebildung aufweisen.

6. Ein zeitlicher Unterschied im Beginn der Milchsäurebildung bei roten und hellen Muskeln konnte nicht festgestellt werden.

7. Die postmortalen Milchsäurewerte der quergestreiften Muskeln der Vögel liegen erheblich höher als diejenigen für ihre glatte Muskulatur; sie übertreffen die der Froschmuskeln und erreichen, übersteigen sogar zum Teil, die bisher bekannten Milchsäurewerte von Säugermuskeln.

Zur Frage der Abhängigkeit der Komplementbindung und Komplementwirkung von der Kolloidlabilität des Serums.

Von

H. Sachs.

(Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Durch die Untersuchungen von *Klopstock*, *Weil* und mir¹⁾ ist erwiesen worden, daß die zur *Wassermannschen* Reaktion und zu den übrigen Methoden des serologischen Luesnachweises dienenden Extrakte Lipoidantigene enthalten, die in Kombination mit einem geeigneten Schlepper (z. B. artfremdem Serum) im tierischen Organismus zur immunisatorischen Funktion gelangen und derart eine Blutveränderung entstehen lassen, die der syphilitischen durchaus entspricht. Es ist daher kein Raum mehr für einen Zweifel, daß die syphilitische Blutveränderung der Ausdruck einer vorangegangenen Bildung von Lipoidantikörpern ist bzw. daß der serologische Luesnachweis eine Antikörperreaktion darstellt. Wenn ich trotzdem sowohl vor als nach der Erkennung dieser Tatsachen den Standpunkt vertreten habe, daß die Komplementbindung bei der *Wassermannschen* Reaktion auf einer Dispersitätsvergrößerung der Globuline beruht, so steht das zu der Auffassung der *Wassermannschen* Reaktion als Antikörperreaktion nicht im Widerspruch. Das, was ich in dem erörterten Zusammenhange unter einer Dispersitätsvergrößerung der Globuline verstehe, bezieht sich nicht etwa isoliert nur auf die *Wassermannsche* Reaktion, sondern auf die Komplementbindungserscheinungen im allgemeinen.

Zu einem besonderen Hinweis auf meine Betrachtungsweise in diesem Sinne veranlaßt mich eine vor kurzem an dieser Stelle erschienene sehr interessante Arbeit von *Forssman*²⁾ über die Abhängigkeit der *Wassermannschen* Reaktion von den Globulinen. *Forssman* folgert nämlich, daß auf Grund meiner Ansicht, nach der die *Wassermannsche* Reaktion auf einer Dispersitätsveränderung der Globuline beruht, eine Körperflüssigkeit nur dann wassermannspositiv reagieren könnte, wenn sie Globuline enthielte. Nun konnte aber *Forssman* zeigen, daß Lumbalflüssigkeiten bei der *Wassermannschen* Reaktion auch dann stark positiv reagieren, wenn sie sich bei der Nonnereaktion vollkommen negativ verhalten. Er schließt daraus, daß der Globulingehalt der Untersuchungsflüssigkeit nicht wesentlich

¹⁾ H. Sachs, A. Klopstock und A. J. Weil, Deutsch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 15 und 25.

²⁾ J. Forssman, diese Zeitschr. 177, 243, 1926.

für das Zustandekommen der *Wassermannschen* Reaktion sein kann. Die Versuche zeigen nach seiner Auffassung „zur vollen Evidenz, daß die Globuline für die *Wassermannsche* Reaktion keinerlei Rolle spielen und daß demnach die *Wassermannsche* Reaktion weder durch eine Labilitätssteigerung der Globuline *in vivo*, wie *Weissbach* glaubt, oder *in vitro*, wie *Sachs* annimmt, bedingt wird“. Soweit es sich um die Labilitätssteigerung der Globuline *in vivo* handelt, stimme ich mit *Forssman* in dieser Betrachtung durchaus überein. Ich habe wiederholt betont, daß die Labilitätssteigerung der Globuline nicht die Ursache für die syphilitische Blutveränderung sein kann, weil gerade die Labilitätsfällungsreaktionen, die einen Indikator für die Labilitätssteigerung darstellen, vorwiegend nicht syphilitische Sera (Gravidität, Geschwülste usw.) treffen.

Was aber die bei der *Wassermannschen* Reaktion zustande kommende Globulinveränderung anlangt, so habe ich eigentlich nicht von einer Labilitätssteigerung, sondern von einer Dispersitätsvergrößerung der Globuline gesprochen. Meine Auffassung geht aber dahin, daß durch die Antigen-Antikörperreaktionen im allgemeinen und so auch bei dem besonderen Falle des Zusammenwirkens von Extrakt und Syphilitikerserum ein Einfluß auf die Globuline im Sinne einer Vergrößerung, einer Fällung, ausgeübt wird. Diese „Ausfällung“ der Globuline¹⁾ bedeutet nach meiner Auffassung das Wesentliche bei der Komplementbindung. Durch den Fortfall dieses Faktors aus dem komplettierenden Meerschweinchenserum hat nämlich das letztere seine lytische Funktion eingebüßt.

Es ergibt sich schon hieraus, daß auf Grund dieses Standpunktes keineswegs die alterierbaren Globuline im Syphilitikerserum gelegen sein müssen. Sie werden bei der Komplementbindung im wesentlichen durch den Globulin Gehalt des als Komplementträger fungierenden Meerschweinchenserums dargeboten, eine Anschauung, die ich bereits im Jahre 1909 vertreten habe²⁾. Ich habe damals die Komplementinaktivierung bei der *Wassermannschen* Reaktion mit derjenigen im salzarmen Medium nach den Untersuchungen von mir und *Teruuchi* verglichen. Aus dem Zusammenwirken der beiden Komponenten (Antigen und Antikörper bzw. Extrakt und Syphilitikerserum) entsteht erst der globulinverändernde Einfluß, und ich habe erst vor wenigen Jahren darauf hingewiesen³⁾, daß sich der letztere „sowohl auf die Globuline des Patientenserums als auch auf diejenigen des als Komplementträger fungierenden Meerschweinchenserums erstrecken kann“. Ich schrieb damals zugleich: „Für die Dispersitätsvergrößerung in meinem Sinne genügt es, das als Komplement beteiligte Meerschweinchenserum verantwortlich zu machen“.

Von diesem Gesichtspunkte aus ist es ohne weiteres verständlich, daß die Komplementbindung oder Komplementinaktivierung als Folge der Globulinalteration auch eintreten kann, wenn die antikörperhaltige Flüssigkeit, wie das nach den Untersuchungen von *Forssman* und anderen unter

¹⁾ Ich verstehe dabei unter Globulinen natürlich nicht die gesamte Globulinfraktion, sondern nur die labileren Anteile der Globuline.

²⁾ *H. Sachs* und *K. Altmann*, Handb. d. pathol. Mikroorganismen, II. Erg.-Band, S. 542, 1909; vgl. auch diese Zeitschr. 78, 46, 1916; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 26, 460, 1917.

³⁾ *H. Sachs*, Med. Klinik 1923, Nr. 35, S. 1200; vgl. auch Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 34.

Umständen für Lumbalflüssigkeiten zutrifft, keinen nachweisbaren Gehalt an Globulinen besitzt. In diesem Sinne stimme ich mit *Forssman* vollkommen überein, wenn er den Umstand, daß sich die *Sachs-Georgi*-Reaktion in der Lumbalflüssigkeit als weniger verlässlich erweist als im Serum, darauf zurückführt, „daß die Lumbalflüssigkeit, verglichen mit dem Serum ärmer, oft sehr arm oder sogar frei von Globulinen ist“. Für die *Sachs-Georgi*-Reaktion, an der das Meerschweinchenserum nicht teilnimmt, kann eben in der Tat ein gewisser Globulingehalt der Flüssigkeit die Vorbedingung sein. Für die *Wassermannsche* Reaktion aber ist die Anwesenheit der Globuline im Serum oder in der Lumbalflüssigkeit nicht unbedingt erforderlich, weil der globulinverändernde Einfluß der Antigen-Antikörperreaktion sich auf die Globuline des Meerschweinchens erstreckt, gleichgültig, ob er sie unmittelbar trifft, oder ob er indirekt durch die Globuline des Patientens erum übertragen wird.

Das Wesentliche in der von mir gekennzeichneten Richtung ist also, daß an und für sich die *Wassermannsche* Reaktion wie jede echte Antikörperreaktion in einer Komplexbildung zwischen Antigen und Antikörper besteht. Um diesen Komplex aber sinnfällig zu machen, sind, so möchte ich annehmen, in jedem Falle Globuline erforderlich. Ihre Interferenz äußert sich einerseits in dem Zustandekommen der Flockungserscheinung, andererseits in der Komplementinaktivierung. Für die Komplementinaktivierung sind aber die Globuline des komplettierenden Meerschweinchens erum ausreichend, ja sogar wesentlich; denn erst die *Globulinalteration im Meerschweinchenserum* bedeutet *Komplementinaktivierung* und damit *positive Komplementbindung*.

In unmittelbarem Zusammenhange mit dieser Betrachtung steht die Frage nach den *Beziehungen zwischen Wesen der Komplementwirkung und Komplementbindung*. Es wird heute wohl allgemein angenommen, daß die früher von *Ehrlich* und *Morgenroth* aufgestellte Ambozeptortheorie der cytolytischen Serumwirkung dem Tatsachenmaterial nicht mehr gerecht wird. Vor allem war es die Teilung der Komplementfunktion in mehrere Fraktionen (Mittelstück, Endstück, dritte Komponente), die mit der älteren Auffassung nicht mehr vereinbar erschien. Das Wesen der lytischen Komplementwirkung ist letzten Endes freilich bis heute keineswegs geklärt, aber in bezug auf das *primum movens*, das die Komplementfunktion vermittelt, hat die experimentelle Analyse im Laufe der Jahre doch zu einem weitgehenden Einblick geführt. Man darf danach annehmen, daß die an die labilen Globuline gebundene und früher dem sogenannten „Mittelstück“ zugeschriebene Funktion auf die Labilität der Globuline zu beziehen ist, daß also dieser Teil der Komplementwirkung, wenn man so sagen will, mehr auf einen Zustand, als auf einen bestimmten Stoff zurückzuführen ist. Ich habe seit langer Zeit¹⁾ [vgl. hierzu auch *Hirschfeld* und *Klinger*²⁾ und andere] zum Ausdruck gebracht, daß von diesem Gesichtspunkte aus die Thermolabilität der Komplementfunktion keineswegs einem labilen wirksamen Stoff zur Last zu schreiben ist, daß die Inaktivierung durch thermische oder andere Eingriffe vielmehr als der Ausdruck der Stabilisierung der Labilglobuline aufzufassen ist. Die Labilglobuline werden gewissermaßen starr, und damit ist die Komplementfunktion erloschen.

¹⁾ Siehe insbesondere *H. Sachs*, Berl. klin. Wochenschr. 1916, Nr. 52; Kolloid-Zeitschr. 24, 113, 1919.

²⁾ *L. Hirschfeld* und *R. Klinger*, Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 25.

Zahlreiche experimentelle Erfahrungen sprechen dafür, daß ein *Parallelismus besteht zwischen Komplementbindung bzw. Komplementinaktivierung und lytischer Komplementfunktion*. Für beide scheinbar antagonistisch gerichtete Funktionen ist das Maßgebende *die Labilität der Serumglobuline*. Im Falle der Cytolyse wird durch ihre Labilität ihre Übertragung auf die Ambozeptorbeladenen Zellen vermittelt. Im Falle der Komplementinaktivierung tritt die gleiche Dispersitätsvergrößerung ein, die aber, nachdem sie entstanden ist und nicht in statu nascendi Gelegenheit hatte, auf empfindliche Zellelemente übertragen zu werden, nunmehr die Unwirksamkeit der Komplementfunktion bedingt. Von diesem Gesichtspunkte aus *stellt sich die Antikörperfunktion grundsätzlich dar als Beeinflussung der Globuline durch die Antigenverbindung der Antikörper*.

Es ist verständlich, daß unter Umständen auch Faktoren, die nichts mit Antikörpern im engeren Sinne zu tun haben, wie z. B. salzarmes Medium, kolloidale Kieselsäure, Schlangengifte, gewisse Suspensionen gleichartig sowohl die Komplementhämolyse vermitteln als auch zur Komplementinaktivierung führen können. Das Gemeinsame ist nur darin zu erblicken, daß auf die labilen Globuline ein geeigneter Einfluß ausgeübt wird, der dann, wenn ein geeigneter „Akzeptor“, das empfindliche Zellelement, zugegen ist, zur Cytolyse, im anderen Falle zur antikomplementären Wirkung führt. Zahlreiche experimentelle Erfahrungen, auf die ich an dieser Stelle nur verweise, sind mit dieser Vorstellung gut vereinbar.

Die sich derart ergebende Auffassung läßt die Komplementwirkung als eine Funktion des *Zustandes* des komplettierenden Serums erscheinen, womit allerdings, wie nochmals hervorgehoben sei, nur der einleitende Akt der Komplementwirkung, nicht der Endeffekt dem Verständnis zugänglich wird. In dem Sinne, daß für das Komplement als besonders wirkende Substanz kein Raum mehr bleibt, daß „vielmehr die bisher als Komplementwirkung bezeichneten Erscheinungen der Lösungsfähigkeit der Gesamtheit der Serumstoffe (Lösungsmittel + sämtliche oder die meisten in bestimmten Verhältnissen gelösten Substanzen des Serums)“ zuzuschreiben sein dürften, hat sich schon früher *Morgenroth*¹⁾ geäußert. Die inzwischen ausgeführten und oben gestreiften Experimentaluntersuchungen haben ein Ergebnis gezeigt, das dieser Hypothese insofern zustrebt, als eben der physikochemische Zustand des Serums für die Auslösung der Komplementwirkung verantwortlich zu machen ist. Es entspricht durchaus diesen älteren Befunden und Betrachtungen, wenn *F. Klopstock*²⁾ neuerdings einer kolloidalen Zustandsform des Serums für die Komplementwirkung eine ausschlaggebende Rolle zuzuschreiben sucht. Dieser Zustand ist eben, wie wir wissen, bedingt durch die *Reaktionsfähigkeit*, d. h. die Labilität der Serumglobuline. Wenn daher *F. Klopstock* seine Auffassung dahin präzisiert, daß „die Komplementwirkung nicht an einen chemisch greifbaren und isolierbaren Körper geknüpft ist, sondern an eine kolloidale Zustandsform gebunden ist“, so deckt sich diese Definition grundsätzlich mit den Deduktionen, die sich aus der erörterten langjährigen Experimentalanalyse ergeben haben.

Wenn auch der Ausdruck „Ambozeptor“ in der sprachlichen und bildlichen Darstellung der Literatur allgemein beibehalten worden ist, so muß man sich doch auf Grund des tieferen Eindringens in den Mechanismus

¹⁾ *J. Morgenroth*, Therap. Monatsh., 26. Jahrg., 1912, S. 95.

²⁾ *F. Klopstock*, Deutsch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 35 und 51; 1925, Nr. 15.

der Ambozeptor-Komplement-Wirkung bewußt sein, daß die Konstitution des Ambozeptors keineswegs im alten *Ehrlich*schen Sinne aufzufassen ist. Denn für eine komplementophile Gruppe bleibt in der Tat kein Raum mehr, und die Versuche, die früher im Sinne des Vorhandenseins einer solchen komplementophilen Gruppe angesprochen worden sind, sind leicht andersartiger Deutung zugänglich. So sind gegen die Auffassung der sogenannten *Neisser-Wechsberg*schen Komplementablenkung im Sinne einer Bindung des Komplements durch freie Ambozeptoren schon früher von *Burton, Gay* u. a. Einwände erhoben worden, die die Erscheinung einfach als den Ausdruck einer Komplementbindung durch Antigen-Antikörperkomplexe erscheinen ließen, wie das neuerdings auch *F. Klopstock* vertritt¹⁾.

Eine Annahme von besonderen Ambozeptoren im alten Sinne dürfte heute um so weniger Berechtigung haben, als man ja dazu neigt, überhaupt nur eine einheitliche Veränderung im Serum für die verschiedenartigen Antikörperfunktionen verantwortlich zu machen. Es genügt dabei, wie auch *Doerr* hervorgehoben hat, als wesentliches Merkmal des Antikörpers die spezifische Affinität zum Antigen zu betrachten. Die dadurch bedingte Reaktionsfähigkeit mit dem Antigen führt durch kolloidchemischen Einfluß zu Globulinalterationen, die sich je nach der Beschaffenheit des Antigens und des Mediums in Flockungserscheinungen (Agglutination, Präzipitation) oder Komplementbindung bzw. Cytolyse dokumentieren. So liegt in der Tat aller Anlaß zu der wiederholt vertretenen, neuerdings auch von *F. Klopstock* zum Ausdruck gebrachten Betrachtungsweise vor, nach der die Ambozeptornatur des Antikörpers nicht durch eine besondere komplementophile Gruppe begründet ist, und nach der die Komplementfunktion wenigstens in ihrer ersten auslösenden Phase durch den kolloidalen Zustand des Serums (die Labilität der Bluteiweißkörper) verursacht erscheint.

¹⁾ *F. Klopstock*, Centralbl. f. Bakt., I. Abtlg., Orig.-Bad. **100**, 90, 1926.

Beiträge zur Cholesterinbestimmungsmethode nach Surányi und Korényi.

Von

L. Surányi.

(Aus dem bakteriologischen Institut der königl. ungar. Pásmány-Péter-Universität zu Budapest.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Jenes Verfahren zur Cholesterinbestimmung, welches in dieser Zeitschr. 160, 178, 1925 von mir und *Korényi* mitgeteilt wurde, hat alle Erwartungen in vollkommenem Maße erfüllt, wie dies sowohl aus eigenen Untersuchungen, wie auch mündlichen Mitteilungen anderer, wie auch aus Literaturangaben hervorgeht. Es entspricht den klinischen Bedürfnissen ausgezeichnet, weil seine Resultate vollkommen zuverlässig sind, aber auch weil es in den einfachsten Laboratorien ohne Neubeschaffungen ausgeführt werden kann und der Preis der dazu nötigen Chemikalien ein relativ mäßiger ist.

Bei Anwendung der Methode für Massenuntersuchungen ergaben sich vom Standpunkt der Zweckmäßigkeit einige Modifikationen, welche zwar das Wesen des Verfahrens keineswegs berühren, jedoch seine Sicherheit und Zuverlässigkeit erhöhen und seine Ausführung ökonomischer gestalten. So stellte sich heraus, daß bei der Verseifung die Anwendung von Kalilauge zweckmäßiger ist, da die Verseifung einerseits in viel kürzerer Zeit beendet ist, sogar bei der Prüfung von hämoglobinhaltigen Seren, andererseits lieferten solche Blutseren, mit Natronlauge behandelt, nicht immer kristallklare Alkoholauszüge. Daß im Falle einer Massenuntersuchung das Verseifen von einer beinahe beliebigen Anzahl von Proben gleichzeitig ausführbar ist, versteht sich zwar von selbst, es ist aber doch nicht ganz überflüssig, zu erwähnen, daß in diesem Falle statt der Verwendung des Zerstörungskolbens die Destillierkolben sich brauchbarer erwiesen haben, weil durch ihren

Gebrauch der Gang des Verseifens einerseits viel leichter kontrollierbar ist, andererseits bei Verwendung eines improvisierten Wasserbades die Befestigung der Kolben auch besser gelingt. Statt Einengung des Äther- bzw. Chloroformauszuges erwies sich wegen Zeit- und Materialersparnis die Abdestillierung des Lösungsmittels als zweckmäßiger. Dieses Verfahren verursacht weder Schwierigkeiten, noch ist es gefährlich; seine Verwendung bedeutet aber doch eine ziemliche Vereinfachung und große Ersparnis. Eine weitere unwesentliche Modifikation betrifft jene nicht seltenen Fälle, wo die nach Entfernung des Chloroforms gewonnene Alkohollösung nicht ganz klar ist. In diesem Falle kann man das Zentrifugieren unterlassen, besonders wenn die Vollendung der Titration nicht dringend ist, und statt dessen die Lösung etwa eine halbe Stunde an einem kühlen Orte stehen lassen. Während dieser Zeit setzt sich die die Trübung verursachende Substanz, und so kann man mit kristallklarer Lösung arbeiten.

Was die Natur der die fragliche Trübung verursachenden Substanz betrifft, so ergaben die darauf gezielten Untersuchungen, daß diese Substanz mit jenem von *Friboes* (1) beschriebenen „Saponid“ derart gemeinsame Eigenschaften besitzt, daß sie als mit letzterem identisch bezeichnet werden darf. Sie ist unverseifbar, wie diese Eigenschaft auch von *Kumagawa* und *Suto* beschrieben wurde, in Äther unlöslich (die Ursache hiervon ist, daß die nach der Äthermethode gewonnenen alkoholischen Lösungen auch ohne Zentrifugierung oder Sedimentierung kristallklar sind), in Chloroform, Methylalkohol und Wasser gut, in Alkohol dagegen kaum löslich. Sie gibt weder Eiweiß- noch Kohlehydratreaktionen, und ihre Lösungen sind schäumend. Diese Substanz verursacht die gelbliche Farbe des nach der Chloroformmethode gewonnenen Residuums, welches absolut nicht die Beschaffenheit des Cholesterins zeigt, wogegen der durch die Äthermethode gewonnene Rest schneeweiß ist und aus charakteristischen Kristallen besteht.

Mit besonderem Nachdruck muß auch diesmal die Forderung der Reinheit bzw. die Reinigung der Glasgeräte betont werden. Man muß sich streng an die früher mitgeteilten diesbezüglichen Vorschriften halten. Es ist sogar wünschenswert, daß die Reinigung von dem Untersucher selbst vorgenommen wird oder wenigstens unter seiner Aufsicht stattfindet, um im Laufe der Untersuchungen selbst alle Unannehmlichkeiten von dieser Seite vermeiden zu können, wie etwa die Gewinnung von unsicheren Ergebnissen oder die Ergebnislosigkeit der Bemühungen. Wenn das Verfahren Nachteile überhaupt aufweist, so sind sie einzig und allein dem Mangel absoluter Reinlichkeit zuzuschreiben. In Anbetracht dessen, daß mit Hilfe dieses Verfahrens noch so minimale Cholesterinwerte feststellbar sind, die mit anderen Verfahren, ins-

besondere aber mit kolorimetrischen, wenn überhaupt, so doch sehr schwer nachweisbar sind, darf man die Mühe der peinlichen Reinigung der Geräte nicht ungünstig beurteilen. Bezüglich des niedrigen Grades der Cholesterinwerte sei mir erlaubt, mich auf die Befunde von *Jarnó* (2) berufen zu können. *Jarnó* hat im Laufe seiner Versuche festgestellt, daß der Cholesterinspiegel des Blutserums bei Magengeschwüren, wo entweder die Gefahr der Perforation besteht oder letztere schon eingetreten ist, einen sehr niedrigen Wert (0,02 bis 0,03 Proz.) aufweist. Ich selbst habe auch ziemlich oft ähnlich niedere Werte angetroffen, so bei der Untersuchung des Blutserums von immunisierten Kaninchen. Ich erhielt aber noch niedrigere Werte als die oben angeführten, und es kam sogar vor, daß die Menge des Cholesterins im Blutserum von Immuntieren so minimal war, daß sie überhaupt nicht meßbar gewesen ist. In den Blutseren von Kaninchen dagegen, welche mit Cholesterin gefüttert worden sind, habe ich bei der Untersuchung festgestellt, daß die nach der Abdestillierung des Chloroforms zurückbleibende Cholesterinmenge in einer Alkoholmenge, die der Menge des untersuchten Serums entspricht, nicht löslich war. Die Kenntnis dieser außerordentlich niedrigen bzw. sehr hohen Cholesterinwerte war der Grund, weshalb ich mich in der Einleitung dieser Zeilen nur darauf berufen konnte, daß unser Verfahren nach den ursprünglichen Vorschriften nur die klinischen Bedürfnisse im vollen Maße befriedigen kann.

Es ist selbstverständlich, daß ich, im Besitz obiger Daten, nach jenen Bedingungen fahndete, unter welchen man auch bei der angegebenen Versuchstechnik, nämlich bei der künstlichen Verminderung des Cholesterins im Blute ad minimum oder bei ihrer Vermehrung ad maximum, das methodische Prinzip, also die Verwendung jener Eigenschaft des Cholesterins, daß es in Wasser unlöslich, in Alkohol dagegen relativ gut löslich ist, aufrecht erhalten könnte. Um diesem Prinzip folgen zu können, bot sich nur die Möglichkeit, bei der Untersuchung von Blutseren mit hohem Cholesteringehalt zur Lösung des Cholesterinrückstandes mindestens so viel Alkohol zu verwenden, als zur Aufnahme der betreffenden Cholesterinmenge nötig ist, bei der Untersuchung von Blutseren mit minimalem Cholesteringehalt aber mindestens so viel vom betreffenden Blute zu verarbeiten, daß der Cholesterinrückstand, in 2 ccm Alkohol gelöst und mit 0,1 ccm destillierten Wassers vermischt, nicht nur Opaleszenz, sondern ausgesprochene Trübung aufweise. Die Befolgung dieser Forderung ist durchaus nicht schwer und auch die prozentuale Feststellung des Cholesteringehaltes stößt auf keine Schwierigkeiten. Werden nämlich die alkoholischen Lösungen x -mal konzentrierter oder verdünnter gemacht als vorgeschrieben, so braucht man einfach die mit diesen Lösungen erhaltenen

Prozentwerte mit dem Grade der Konzentrierung oder Verdünnung zu dividieren oder multiplizieren. Die Berechnung des Klärungswertes verhält sich aber nicht so einfach. Würde man aus den Klärungswerten obiger Lösungen die Klärungswerte der sich nach der Originalvorschrift ergebenden Lösungen so berechnen, wie die Prozentwerte bestimmt werden, so wären die so gefundenen Zahlen grundfalsch, wovon man sich leicht überzeugen kann, wenn man unter Zuhilfenahme der Tabelle die mit dem Konzentrations- oder Verdünnungsverfahren verbundenen Berechnungen theoretisch durchführt. Durch Versuche mit Cholesterinlösungen bekannter Konzentration ist es gelungen, jene Bedingungen der Berechnung zu ermitteln, auf Grund welcher der ursprüngliche Klärungswert der Lösungen auch im Falle ihrer Verdünnung oder Einengung genau feststellbar ist. Es hat sich nämlich gezeigt, daß 0,15 ccm 96proz. Alkohols mit 0,1 ccm destillierten Wassers vermischt zur Cholesterinaufnahme vollkommen unfähig sind. Diese Alkoholmenge ist demnach als Nullpunkt in der Klärungsskala zu betrachten, so daß diese Quantität noch vor der Ausführung der Multiplikation oder Division von dem gewonnenen Werte abzuziehen ist und nach Ausführung derselben zu dem Resultat addiert werden muß. Wenn wir nun die Berechnung nach dieser Methode vollziehen, so beträgt bei einer 0,50proz. Lösung nach fünffacher Verdünnung der Klärungswert 0,35 ccm. Daraus der Klärungswert der Originallösung: $0,35 - 0,15 = 0,20$ ccm, $0,20 \times 5 = 1,00$ ccm, $1,00 + 0,15 = 1,15$ ccm, also ein der Originallösung zugehöriger Klärungswert. Bei einer 0,01proz. Lösung, wenn wir diese bis zu 0,05 Proz. einengen, bekommen wir als Klärungswert 0,25 ccm. Die Berechnung lautet folgendermaßen: $0,25 - 0,15 = 0,10$ ccm, $0,10 : 5 = 0,02$ ccm, $0,02 + 0,15 = 0,17$ ccm.

Die Ausführung der Cholesterinbestimmungen wird infolgedessen gegenüber der ursprünglichen Vorschrift dahin modifiziert, daß man in jenen Fällen, die hohe Cholesterinwerte erwarten lassen, den Cholesterinrückstand nicht in einer mit der Blutmenge gleichen Quantität von Alkohol, sondern in einer mehrfachen löst; erwartet man dagegen sehr niedrige Cholesterinwerte, so werden nicht 2 ccm Blut (Serum), sondern eine mehrfache Menge desselben verarbeitet, der Cholesterinrückstand aber trotzdem nur in 2 ccm Alkohol gelöst.

Auf diese Weise und mit Zuhilfenahme der vorhin skizzierten Berechnungsmethode ist die genaue Bestimmung des Cholesterins auch in extremen Fällen vollständig gelungen. Bei längere Zeit hindurch mit Cholesterin gefütterten Kaninchen habe ich sehr hohe, oft beinahe bis 2 Proz. reichende Cholesterinwerte erhalten. Für diese Fälle sowie für ganz niedrige Werte hat die früher publizierte Tabelle gar keine Daten enthalten, und so erschien ihre Ergänzung nach beiden Richtungen hin unerläßlich.

Tabelle I.

Destilliertes Wasser ccm	Die Klärung erfolgt auf Zugabe von ccm alkoholischer Cholesterinlösung	Dieser Menge entsprechen Proz. Cholesterin
0,1	0,16	0,005
0,1	0,17	0,01
0,1	0,19	0,02
0,1	0,21	0,03
0,1	0,23	0,04
0,1	0,25	0,05
0,1	0,35	0,10
0,1	0,55	0,20
0,1	0,75	0,30
0,1	0,95	0,40
0,1	1,15	0,50
0,1	1,35	0,60
0,1	1,55	0,70
0,1	1,75	0,80
0,1	1,95	0,90
0,1	2,15	1,00
0,1	2,35	1,10
0,1	2,55	1,20
0,1	2,75	1,30
0,1	2,95	1,40
0,1	3,15	1,50
0,1	3,35	1,60
0,1	3,55	1,70
0,1	3,75	1,80
0,1	3,95	1,90
0,1	4,15	2,00

Es ist aber die neuerliche Mitteilung der Tabelle auch, abgesehen von der Erweiterung, deshalb notwendig geworden, weil die Ermittlung des Nullpunktes der Klärungsskala zu einer Formel führte, welche die Benutzung einer Tabelle zwar überflüssig macht, von der Stichhaltigkeit der Formel aber kann der Leser sich nun mittels der tabellarischen Daten überzeugen. Die Formel lautet:

$$C = \frac{K - 0,15}{2}$$

wobei C die Cholesterinkonzentration in Prozenten, K die Zahl der bis zur Klärung verbrauchten Menge in Kubikzentimetern der betreffenden alkoholischen Cholesterinlösung bedeutet; z. B. ist $K = 1,15$, so ist $C = 1,15 - 0,15 = 1,00$, $1,00 : 2 = 0,50$ Proz. Cholesterin.

Bei vielen mit Cholesterin ausgeführten Tierversuchen, welche teilweise in das Bereich der Pathologie gehören, teilweise für die Immunitätslehre bedeutsam sind, ergab sich bei Bestimmung der Cholesterinwerte die Frage von selbst, ob außer den Veränderungen betreffs des Gesamtcholesterins auch im Verhältnis des sogenannten freien Cholesterins zum gebundenen Änderungen eingetreten sind? Als ich die Methoden zur gleichzeitigen Bestimmung beider Werte studierte, war schon auf Grund der Literaturangaben feststellbar, daß zuverlässliche Resultate nur mit Hilfe des *Windausschen* Verfahrens zu erhalten sind. Schon im ersten Artikel wurde erwähnt, daß die *Windaussche* Methode den Nachteil hat, daß ihre Ausführung ziemlich lange dauert und teure Geräte benötigt. Auch das Arbeiten mit Digitoninlösung erfordert nach dieser Methode große Vorsicht, und es gibt Autoren, welche bei den durch das Molekulargewicht des Cholesterindigitonins berechneten Cholesterinwerten Korrekturen für notwendig erachten. Die Aufgabe war demnach, die Nachteile des *Windausschen* Verfahrens auszuschalten, ihre Vorteile beizubehalten und letztere mit dem *Surányi-Korényi* Verfahren zu vereinigen. Alles dieses ist gelungen mit Hilfe jener Angabe, daß die sonst gegenüber organischen Lösungsmitteln außerordentlich feste Cholesterindigitoninverbindung mit siedendem Xylol (3) wieder trennbar ist. Die Frage war nur, ob das Cholesterin aus dem Cholesterindigitonid im Xylol quantitativ aufzufinden ist. Nachdem Versuche mit Cholesterinlösungen von bekannter Konzentration eine positive Antwort ergaben, stieß die Feststellung der weiteren Modalitäten auf keine wesentlichen Hindernisse mehr.

Das Verfahren, welches zur gleichzeitigen Ermittlung des sogenannten freien und gebundenen Cholesterins dient, ist kurz gefaßt das folgende: Aus dem Blute (Serum) werden sämtliche Lipide extrahiert (z. B. mit Petroläther), das freie Cholesterin wird durch alkoholische Digitoninlösung gefällt (das Maß des Digitoninüberschusses kommt hier nicht in Betracht). Der Niederschlag wird in einer Extraktionshülse aufgenommen und das Cholesterin mit siedendem Xylol freigelegt; das Xylol wird abdestilliert und das zurückgebliebene Cholesterin nach dem *Surányi-Korényi* Verfahren in einer entsprechenden Menge 96proz. Alkohols gelöst und gegen destilliertes Wasser titriert. Nach Entfernung des freien Cholesterins wird das gebundene Cholesterin durch Verseifung aus der Esterverbindung freigelegt und das so frei gewordene Cholesterin auf die vorher beschriebene Weise bestimmt. Das Verhältnis des freien und gebundenen Cholesterins kann man natürlich auch derart bestimmen, daß man zuerst das Gesamtcholesterin ermittelt, dann die Menge des freien Cholesterins bestimmt und letztere aus dem ersteren subtrahiert.

Versuche zur Bestimmung des Verhältnisses des freien und gebundenen Cholesterins wurden zwar bisher in größerem Maßstab noch nicht ausgeführt, da sich aber bisher keine störenden Momente ergaben, ist zu hoffen, daß im Laufe der fortgesetzten Versuche sich auch keine solchen ergeben werden, welche Annahme auch durch die theoretischen Überlegungen verstärkt wird. Wenn eine genügende Anzahl von Versuchen dieser Art zur Verfügung stehen wird, soll außer Versuchsergebnissen auch über die Methode in ihren Einzelheiten berichtet werden.

Literatur.

1) *Friboes*, Deutsch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 12. — *Jarnó*, Arch. f. Verdauungskrankh. 38, H. 1/3. — *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, S. 326.

Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element.

V. Mitteilung¹⁾:

Fütterungsversuch mit abnehmenden Jodgaben zu Milchziegen.

Von

A. Strobel und K. Scharrer.

(Aus dem agrikulturchemischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weihenstephan bei München.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Während bei dem früheren Versuch mit Ziegen, über den an dieser Stelle bereits berichtet wurde²⁾, die Wirkung steigender „massiver“ Jodgaben Gegenstand der Untersuchung war, sollte bei diesem zweiten Versuch der Einfluß abnehmender und an sich schon relativ niedrigerer Jodgaben geprüft werden.

A. Die Grundlagen der Versuchsanstellung.

Die gesamte Anordnung dieses Versuchs stimmt in ihren Grundzügen — abgesehen von der Höhe der Jodgabe — mit der des ersten überein. Es muß deshalb zwecks Vermeidung unliebsamer Wiederholungen des öfteren auf die in dieser Zeitschrift erschienenen früheren Ausführungen hingewiesen werden. Die Versuchsanstellung baute sich auch auf der gleichen Fragestellung auf, nämlich, welchen Einfluß haben die jeweiligen Jodgaben:

1. auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere,
2. auf den Milchertrag,
3. auf den Fettgehalt der Milch?

Diese Art der Fragestellung ließ während der ganzen Dauer des Versuchs nachstehenden Versuchsplan für zweckentsprechend erscheinen:

Gruppe A: Grundfutter ohne Jod während der ganzen Versuchsdauer.

Gruppe B: Vorfütterung: Grundfutter ohne Jod,

I. Periode: Grundfutter + 15 mg Jod.

II. Periode: Grundfutter + 7,5 mg Jod.

¹⁾ Vgl. I. Mitteilung: diese Zeitschr. **170**, 265, 1926; II. Mitteilung: ebendasselbst **170**, 277, 1926; III. Mitteilung: ebendasselbst **170**, 300, 1926. IV. Mitteilung: ebendasselbst **178**, 161 (1926).

²⁾ Vgl. II. Mitteilung: ebendasselbst **170**, 277, 1926.

Der Versuch wurde demnach auch diesmal gleichzeitig nach dem Gruppen- und Periodensystem in der Weise durchgeführt, daß von zwei Gruppen zu je sechs Tieren die eine Gruppe nur Grundfutter erhielt, während der zweiten Gruppe neben der gleichen Menge Grundfutter als Beigabe Jod in verschiedenen Mengen innerhalb gleichlanger Perioden verabreicht wurde. Auf eine Periode entfielen 15 Versuchstage. Eigene Übergangszeiten zu den einzelnen Perioden wurden nicht eingelegt, um eine nachteilige Einwirkung des Rückganges der Lactation der Versuchstiere auf das Versuchsergebnis nach Möglichkeit zu vermeiden. Dem Versuch selbst ging eine 14tägige Vorfütterung voraus. Zwischen diesem vorliegenden zweiten Versuch und dem ersten wurden die zwölf Tiere 34 Tage außer Versuch, aber sonst unter gleichen Bedingungen gehalten.

Die Daten der einzelnen Versuchsabschnitte waren wie folgt festgesetzt:

- Vorfütterung 30. Juli bis 12. August.
- I. Periode 13. bis 27. August.
- II. Periode 28. August bis 11. September.

Zu dem Versuch fanden die nämlichen Tiere wie beim ersten¹⁾ Verwendung. Während jedoch in diesem jede Gruppe fünf Tiere umfaßte, wurden neuerdings jeder Gruppe sechs Tiere zugeteilt. Es sei erwähnt, daß die beiden neuen Tiere schon seit Beginn des ersten Versuchs unter den gleichen Bedingungen wie die übrigen Tiere und mit diesen zusammen gehalten worden waren. Sie wurden während der Dauer des ersten Versuchs zu Untersuchungen über die Methodik der Bestimmung des Jods in der Milch benötigt und zwecks Vermeidung von Störungen damals nicht mit einbezogen.

Die Einteilung der Tiere in die beiden Versuchsgruppen mit und ohne Jod wurde am 9. August an Hand des Durchschnitts des Milchertrags aus den Tagen vom 30. Juli bis 9. August in der Weise vorgenommen, daß sich am gleichen Platz jeder Gruppe ein Tier mit annähernd gleichem Milchertrag gegenüberstand.

Bezüglich der Beschreibung der wiederverwendeten Tiere sei auf den ersten Bericht verwiesen. Über die beiden hinzugekommenen Tiere können nachstehende Angaben gemacht werden:

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Tier Nr. u. Gruppe	Alter des Tieres	Gelammt am	Stückzahl	Abgesetzt am	Beschreibung des Tieres
1	II A	3 Jahre	24. III.	2	2. IV.	Weiß, kurzhaarig, gehörnt.
2	VIII B	3 "	17. III.	3	2. IV.	Schwarz, weiß gefleckt, ungehörnt.

Es herrschte also hinsichtlich Lammzeit und Lactationsstand der beiden Tiere eine gute Übereinstimmung mit denen des ersten Versuchs. Ihrer Einbeziehung stand demzufolge nichts im Wege.

Das Versuchsfutter wurde sämtlichen Tieren gleichmäßig verabreicht und betrug pro Kopf und Tag 1,5 kg Heu, 1 kg Kleie und 0,25 kg Erdnußkuchen. Ferner erhielt jedes Tier pro Tag 10 g Salz und 5 g phosphorsauren Kalk in Form von Dicalciumphosphat mit 34,45 Proz. P₂O₅. Tränkwasser wurde den Tieren nach jeder Mahlzeit ohne Beschränkung der Menge

¹⁾ l. c., S. 279 und 280.

gereicht. Die Qualität des verabreichten Futters war die gleiche wie beim ersten Versuch, ebenso wurde die Verabreichung des Futters in derselben Weise gehandhabt, weswegen der Raumersparnis halber auf die einschlägige Mitteilung hingewiesen sei¹⁾.

Das Jod wurde den Tieren auf die nämliche Art, wie früher beschrieben, verabreicht, und zwar als Natriumjodid in Tablettenform. Die Tabletten setzten sich zusammen aus:

I. Gabe (15 mg Jod): 17,5 mg NaJ = 15 mg Jod, 3,3 mg Natriumbicarbonat, 16,6 mg Kochsalz fein zerrieben, Milchzucker und Maisstärke bzw. Talkum bis zum Gesamtgewicht einer Tablette von 0,7 g.

II. Gabe (7,5 mg Jod): 8,75 mg NaJ = 7,5 mg Jod, 1,65 mg Natriumbicarbonat, 8,3 mg Kochsalz fein zerrieben, Milchzucker und Maisstärke bzw. Talkum bis zum Gesamtgewicht einer Tablette von 0,7 g.

B. Die Versuchsergebnisse.

I. Der Einfluß der jeweiligen Jodgabe auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere.

Die Messungen der Körpertemperatur der Tiere im Mastdarm erfolgte jeden Tag in der Zeit von $\frac{1}{2}$ 5 bis $\frac{1}{2}$ 6 Uhr nachmittags, also zur Zeit des Temperaturmaximums, und hatten folgende Ergebnisse:

1. Vergleich der Durchschnitte von Gruppe A und B innerhalb der einzelnen Versuchsabschnitte:

Vorfütterung	Gruppe A: 39,16° C
	„ B: 39,10 – 0,06° C
I. Periode	„ A: 39,22° C
	„ B: 39,14 – 0,08° C
II. Periode	„ A: 38,95° C
	„ B: 39,04 + 0,09° C

2. Die Einzeldurchschnitte der Tiere während der jeweiligen Versuchsperioden sind aus Tabelle II ersichtlich:

Tabelle II.

Laufende Nr.	Tier Nr.	Vorfütterung	I. Periode	II. Periode
Gruppe A ohne Jod.				
1	VI	39,03	39,33	38,84
2	X	39,40	39,44	39,31
3	IX	39,09	39,05	38,88
4	V	39,28	39,29	39,11
5	VII	39,20	39,13	38,84
6	II	38,95	39,11	38,79
Gruppe B mit Jod.				
1	XII	39,35	39,43	39,23
2	I	38,98	39,04	38,00
3	IV	38,86	38,85	38,88
4	XI	39,21	39,31	39,16
5	III	38,91	38,89	38,88
6	VIII	39,30	39,35	39,16

¹⁾ l. c., S. 281.

Wie aus beiden Zusammenstellungen zu entnehmen ist, überschreiten die Durchschnitte der Temperaturen, sowohl der beiden Gruppen, als auch der einzelnen Tiere, in keinem Falle die Normaltemperatur, die bei Ziegen 39,0 bis 40,5° C beträgt. Die Durchschnitte der Temperaturen von Gruppe B waren in der Vorfütterung und ersten Periode kaum niedriger als die von Gruppe A. In den übrigen Versuchsabschnitten hielten sich die Durchschnitte der Temperaturen von Gruppe B etwas höher als die von Gruppe A. Da auch sonstige gesundheitliche Störungen nicht festgestellt wurden, decken sich die Ergebnisse mit denen des ersten Versuchs durchaus.

II. Der Einfluß der verschiedenen Jodgaben auf den Milchertrag.

Den besten Überblick geben die Tabellen IIIa für die Milcherträge der Gruppe A und Tabelle IIIb für die der Gruppe B.

Tabelle III a. Gruppe A.

Versuchsabschnitt	Täglicher Durchschnitt kg	Steigerung (+) oder Verminderung (-) gegenüber			
		Vorfütterung		I. Periode	
		kg	Proz.	kg	Proz.
Vorfütterung	10,55	—	—	—	—
I. Periode	10,21	- 0,34	- 3,22	—	—
II. Periode	10,36	- 0,19	- 1,80	+ 0,15	+ 1,47

Danach ging der durchschnittliche Milchertrag von Gruppe A in der ersten und zweiten Periode gegenüber der Vorfütterung etwas zurück. Doch liegt dieser Rückgang noch innerhalb der Fehlergrenzen und dürfte wohl ganz allgemein mit der fortschreitenden Lactationszeit zusammenhängen.

Tabelle III b. Gruppe B.

Versuchsabschnitt	Täglicher Durchschnitt kg	Steigerung (+) oder Verminderung (-) gegenüber			
		Vorfütterung		I. Periode	
		kg	Proz.	kg	Proz.
Vorfütterung	10,47	—	—	—	—
I. Periode	10,57	+ 0,10	+ 0,96	—	—
II. Periode	10,44	- 0,03	- 0,29	- 0,13	- 1,23

Der durchschnittliche Milchertrag der Gruppe B stieg in der ersten Periode gegenüber der Vorfütterung bei einer Jodgabe von 15 mg um 0,10 kg oder 0,96 Proz. Auch diese Unterschiede sind sehr gering.

In der zweiten Periode wurde die Jodgabe um die Hälfte herabgesetzt (7,5 mg Jod pro Tier und Tag). Der Milchertrag ging im Vergleich mit den vorhergehenden Versuchsabschnitten zurück, ebenfalls innerhalb der Fehlergrenzen.

Vergleicht man nach dieser Sonderbetrachtung jeder Versuchsgruppe den einzelnen Versuchsabschnitt der einen Gruppe mit dem dazugehörigen der anderen Gruppe, so erhält man nachstehende Ergebnisse:

Fütterung	Gruppe	Ertrag kg	Rein zahlenmäßiger Unterschied d. Gruppe B gegenüber Gruppe A		Mehrertrag der Gruppe B unter Berücksichtigung d. Unterschiedes in der Vor- fütterung	
			kg	Proz.	kg	Proz.
Vorfütterung .	A	10,55				
	B	10,47	— 0,08	— 0,76	—	—
I. Periode . .	A	10,21				
	B	10,57	+ 0,36	+ 3,53	+ 0,44	+ 4,31
II. Periode . .	A	10,36				
	B	10,44	+ 0,08	+ 0,77	+ 0,16	+ 1,54

In der *Vorfütterung* war der Milchertrag von Gruppe B um 0,08 kg oder 0,76 Proz. geringer als der von Gruppe A, in der *ersten Periode* mit 15 mg Jod je Tier und Tag um 0,44 kg oder 4,31 Proz. höher, wobei der Unterschied der beiden Gruppen in der Vorfütterung berücksichtigt ist.

In der *zweiten Periode* wurde die Jodgabe auf 7,5 mg pro Tier und Tag herabgesetzt. Der Milchertrag von Gruppe B senkte sich hierauf, doch nicht vollkommen, auf die Höhe der Milchmenge von Gruppe A.

Auf Grund der beiden Betrachtungsweisen kann die Wirkung der einzelnen Jodgaben dahingehend zusammengefaßt werden, daß, obwohl die Gaben von 15 bzw. 7,5 mg Jod pro Tier und Tag geringe, aber an sich genau abgestufte Erhöhungen der Milchmenge zeigten, diese Steigerungen als nicht unbedingt sicher angesehen werden können, sondern noch innerhalb der Fehlergrenzen liegend betrachtet werden müssen.

III. Wirkung der Jodgaben auf den Fettgehalt der Milch.

Die Bestimmung des Fettgehalts der Ziegenmilch (nach Gerber) wurde durch das milchwirtschaftliche Institut vom Morgen- und Abendgemelk jedes einzelnen Tieres gesondert vorgenommen. Als Grundlage der Berechnungen diente der tägliche Durchschnittsfettgehalt der Milch jedes Tieres, berechnet aus dem Fettgehalt vom Morgen- und Abendgemelk.

Tabelle IV.

Versuchsabschnitt	Gruppe	Durchschnitts-	Unterschied	Durchschnittl.	Unterschied
		fettgehalt		absolute Fett-	
		Proz.	Proz.	menge	g
Vorfütterung . .	A	2,55		269,0	
	B	2,82	+ 0,27	295,3	+ 26,3
I. Periode . . .	A	2,72		277,7	
	B	2,92	+ 0,20	308,6	+ 31,1
II. Periode . . .	A	2,82		292,0	
	B	2,89	+ 0,07	301,6	+ 9,6

Demnach erfuhr der prozentische Fettgehalt der Milch durch die beiden Jodgaben von 15 und 7,5 mg eine geringe Verminderung, allerdings im umgekehrten Verhältnis zur Höhe der Jodgabe. Die absolute Fettmenge ging nach unwesentlichem Ansteigen der ersten Periode wieder zurück.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

1. Die jeweiligen Jodgaben blieben ohne Einfluß auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere.

2. Die Gaben von 15 und 7,5 mg Jod vermochten nur innerhalb der Fehlergrenzen liegende Steigerungen der Milchmenge, die aber nach der Höhe der Gaben genau abgestuft waren, hervorzurufen.

3. Der prozentische Fettgehalt der Milch erfuhr durch die beiden Jodgaben eine geringe Verminderung.

4. Die absolute Fettmenge ging nach anfänglich unbedeutendem Ansteigen ebenfalls zurück.

Anhang.

Gesamtmilcherträge in Kilogrammen je Gruppe und Tag in den einzelnen Versuchsabschnitten.

Vorfütterung.

	30. VII.	31. VII.	1. VIII.	2. VIII.	3. VIII.	4. VIII.	5. VIII.	6. VIII.
Gruppe A .	10,60	11,10	10,65	10,75	10,35	9,85	10,10	10,80
Gruppe B .	10,35	10,30	9,80	10,30	10,30	10,25	10,30	11,15

	7. VIII.	8. VIII.	9. VIII.	10. VIII.	11. VIII.	12. VIII.	Summe	Durchschnitt
Gruppe A .	10,85	11,00	11,10	10,15	9,95	10,45	147,70	10,55
Gruppe B .	10,70	10,50	11,45	9,90	10,45	10,80	146,55	10,47

I. Periode.

	13. VIII.	14. VIII.	15. VIII.	16. VIII.	17. VIII.	18. VIII.	19. VIII.	20. VIII.	21. VIII.
Gruppe A .	10,10	10,30	10,40	10,60	10,15	10,10	9,85	9,25	10,15
Gruppe B .	10,30	10,70	11,10	11,10	10,20	10,40	9,75	10,05	10,25

	22. VIII.	23. VIII.	24. VIII.	25. VIII.	26. VIII.	27. VIII.	Summe	Durchschnitt
Gruppe A .	10,70	10,50	10,15	10,30	10,15	9,90	152,60	10,17
Gruppe B .	10,80	10,90	10,65	10,80	10,70	10,30	158,00	10,53

II. Periode.

	28. VIII.	29. VIII.	30. VIII.	31. VIII.	1. IX.	2. IX.	3. IX.	4. IX.	5. IX.
Gruppe A .	10,00	10,40	10,40	9,85	10,40	10,30	9,85	10,30	10,30
Gruppe B .	10,50	10,50	10,30	10,15	9,95	10,70	9,80	10,60	10,85

	6. IX.	7. IX.	8. IX.	9. IX.	10. IX.	11. IX.	Summe	Durchschnitt
Gruppe A .	10,50	11,15	10,35	10,60	10,65	10,95	156,00	10,40
Gruppe B .	10,50	10,95	10,35	10,60	10,75	10,85	157,35	10,49

Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element.

VI. Mitteilung¹):

Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels.

Von

K. Scharrer und J. Schwaibold.

Aus dem agrikulturehemischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weißenstephan bei München.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die perorale Verabreichung anorganisch gebundenen Jods, wie sie in der II. Mitteilung (1) geschildert wurde, wäre vor wenigen Jahren bezüglich ihrer Dosierung als mäßig bezeichnet worden. Unsere früheren chemischen Untersuchungen (2) ergaben jedoch, daß die durch diese Jodfütterung bewirkte Jodierung der Milch den Jodgehalt der normalen Milch um das 100- bis 300fache steigerte. Dies war der hauptsächlich Grund dafür, daß bei den in der V. Mitteilung geschilderten Versuchen die Höhe der Joddosierung auf etwa den zehnten Teil heruntersetzt wurde.

Wie unsere III. Mitteilung (2), hat auch diese einen größer angelegten Fütterungsversuch zu Ziegen als experimentelle Grundlage. Da Fragestellung, Versuchstiere und Versuchsanordnung in der V. Mitteilung (3) eingehend beschrieben sind, darf an dieser Stelle davon abgesehen werden, auf nähere Einzelheiten einzugehen.

Von zwölf Versuchstieren wurden je sechs als Gruppe der Kontrolltiere und als Gruppe der Versuchstiere benutzt. Wie schon in unserer III. Mitteilung (2) in Aussicht genommen war, wurde bei diesen Untersuchungen eine horizontale Beobachtungsweise gewählt in der Art, daß zu verschiedenen charakteristischen Zeitpunkten der Versuchsperioden die Milch sämtlicher Tiere zur Untersuchung kam.

¹) I. Mitteilung: diese Zeitschr. 170, 265, 1926; II. Mitteilung: ebendasselbst 170, 277, 1926; III. Mitteilung: ebendasselbst 170, 300, 1926; IV. Mitteilung: diese Zeitschrift 178, 161, 1926; V. Mitteilung: ebendasselbst 180, 300, 1927.

1. Normaler Milchjodspiegel.

Im Verlauf des Tierversuchs, der sich auf die Zeit vom 30. Juli 1925 bis 16. September 1925 erstreckte, wurde am 25. August und 10. September die Milch (Tagesgemisch) der sechs Kontrolltiere der Untersuchung unterworfen. Das Resultat brachte insofern nichts Neues, als die früheren Ergebnisse (2) hinsichtlich des beobachteten normalen Milchjodgehalts bestätigt wurden. Dessen dort gegen Ende des Sommers eingetretene Erniedrigung erstreckte sich auf alle Tiere und war anhaltend. In Abb. 1 sind die Ergebnisse im Kurvenbild und in Tabelle I in Zahlen wiedergegeben.

Das Bild des Normalmilchjodspiegels ist des Maßstabes wegen ungenau, vermittelt jedoch eine gute Übersicht über sein Verhältnis zu dem Jodspiegel, der bei den Resorptionsversuchen zutage kam.

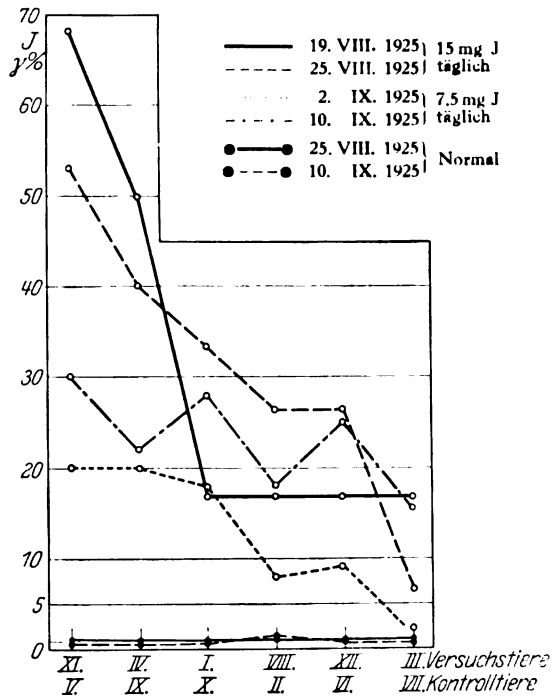


Abb. 1.

Verlauf der Jodierung der Milch einer Kontroll- und einer Versuchsgruppe zu je sechs Tieren.

2. Milchjodspiegel bei Resorptionsversuchen.

Die sechs Versuchstiere erhielten während der Zeitabschnitte 13. bis 27. August und 28. August bis 11. September 1925 15 mg bzw. 7,5 mg J als NaJ in Tablettenform. Die Wirkung dieser Jodzufuhr wurde in beiden Perioden je zweimal untersucht. Es zeigte sich auch noch bei diesen geringen Dosen ein gegenüber der normalen Milch beträchtlich erhöhter Jodgehalt. Bemerkenswert ist ferner, daß nach anfänglich bedeutende

individuellen Unterschieden bei weiterer gleichmäßiger Jodbehandlung eine Nivellierung des Jodspiegels der verschiedenen Tiere stattzufinden scheint. Während nach der ersten Untersuchung kurz nach Beginn des Versuchs eine Einheitlichkeit der Milch hinsichtlich ihres Jodgehalts nicht zu erkennen ist, tritt eine solche im weiteren Verlauf immer mehr zutage. Was den absoluten Jodgehalt der Milch der Versuchstiere betrifft, und zwar unter Verabreichung von 7,5 mg J täglich, so ist zu sagen, daß bei Verwendung dieser Milch als Nahrungsmittel zweifellos noch eine beträchtliche Jodversorgung vermittelt wird. Inwieweit diese bei Verabreichung größerer Mengen solcher Milch, z. B. für Kinder, mit den Forderungen der modernen Prophylaxe übereinstimmt, muß der Beurteilung der Mediziner, als den für solche Fragen allein Kompetenten, überlassen werden.

Das Ergebnis der Untersuchungen der Milch von Tier 3 (s. Abb. 1 und Tabelle II) war sehr überraschend, da es nicht mit dem übrigen Versuchsergebnis übereinstimmte. Irgend ein besonderes Verhalten des Tieres konnte nicht beobachtet, aber auch kein versehentliches Unterbleiben der Jodzufuhr festgestellt werden. Es wurde daher kurze Zeit nach Beendigung des Versuchs eine Einzeljodierung dieses Tieres vorgenommen in der Weise, daß am 19. September früh 7,5 mg J verabreicht wurden. Das Gemisch der nächsten Abend- und Frühmilch zeigte einen Jodgehalt von 16 γ -Proz. J, welches Ergebnis in Abb. 1 verzeichnet ist. Im Harn fanden sich bis 12 Uhr mittags 56 γ -Proz. J, und während dieser Zeit wurden etwa 170 g gemessen. Somit stimmte das physiologische Verhalten des Tieres mit dem der anderen überein.

Tabelle I.

Milchjodspiegel der Kontrolltiere.

Nr. der Tiere:	2	5	6	7	9	10
J. - Proz. am 25. VIII. .	1,3	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9
J. - „ 10. IX. . . .	1,0	1,1	1,0	0,8	1,0	0,8

Tabelle II.

Milchjodspiegel der Versuchstiere.

Nr. der Tiere:	1	3	4	8	11	12
J. - Proz. am 19. VIII. Grundfutter + 15 mg J	17,0	17,0	50,0	17,0	68,0	17,0
J. - „ 25. VIII. „ + 15 „ J	33,3	6,6	40,0	26,6	53,3	26,0
J. - „ 2. IX. „ + 7,5 „ J	18,0	—	20,0	8,0	20,0	9,0
J. - „ 10. IX. „ + 7,5 „ J	28,0	2,0	22,0	19,0	30,0	25,0

3. Die Übergangsgeschwindigkeit von peroral zugeführtem Jod in die Milch.

Der Verlauf der in Abb. 2 gezeichneten Kurve hängt einerseits ab von der zeitlichen Entstehung der untersuchten Teilsekrete, andererseits von der Höhe der enthaltenen Jodmenge, gibt also mittelbar, unter Berücksichtigung der absoluten Mengen der einzelnen Milchproben, einen Anhalt für die Geschwindigkeit, mit der Jod aus den Verdauungsorganen durch das Blut in die Milch der Ziege übergeführt wird.

Zur Methodik ist zu bemerken: am 17. September 1925 7 Uhr 30 Minuten vormittags wurde dem Versuchstier die in der Nacht gebildete Milch

vollkommen abgenommen und unmittelbar danach 7,5 mg J per os verabreicht. Die Zeitpunkte der weiteren Milchentnahmen sowie die jeweilige Gesamtmenge sind in Tabelle III angegeben. Es wurde immer eine vollständige Entleerung vorgenommen.

Es zeigte sich, daß der Übertritt des Jods in die Milch schon in den ersten 30 Minuten so erheblich war, daß in diesem Teilgemelk die ursprüngliche normale Jodierung auf das 20fache erhöht wurde.

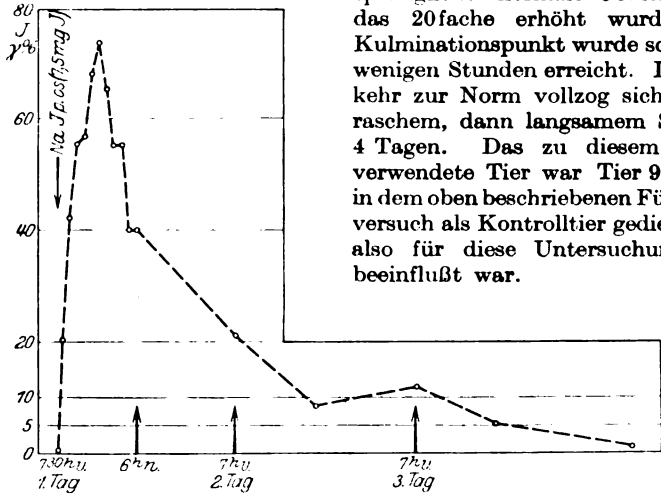


Abb. 2.

Die Jodierung der Milch einer Ziege als Folge einer einmaligen peroralen anorganischen Jodgebe von 7,5 mg J.

Tabelle III.

Die Übergangsgeschwindigkeit von peroral zugeführtem Jod in die Milch.

Datum	Zeit der Entnahme	Gesamtmenge ccm	Jod γ-Proz.
17. IX.	7h30' vorm.	1100	1,0
	8 "	98	20,7
	9 "	61	42,0
	10 "	63	55,3
	11 "	60	56,6
	12 "	64	68,0
	1 nachm.	76	73,3
	2 "	68	65,3
	3 "	70	55,5
	4 "	70	55,5
	5 "	68	40,0
	6 "	64	40,0
18. IX.	7 vorm.	1200	21,3
	5 30' nachm.	—	8,7
19. IX.	7 vorm.	—	12,0
	5 30 nachm.	—	5,4
21. IX.			1,3

Am 17. IX. um 7h30' vorm. eine Gabe von 7,5 mg J als NaJ per os.

Die Höhe der Milchjodierung erscheint in diesem Falle sehr hoch gegenüber den Ergebnissen, die in Tabelle II verzeichnet sind. Es wird auch noch der Fall sein gegenüber einem errechneten Durchschnittsjodgehalt der einzelnen Teilssekrete. Es steht diese Tatsache jedoch im Einklang mit früheren Beobachtungen, bei denen nach einer Reihe von Jodgaben der Milchjodspiegel gegenüber demjenigen, der auf die allererste Dosis folgte, sich beträchtlich erniedrigte. Als Erklärung dafür kann dienen: Eine erhöhte Abscheidung durch die Nieren und wahrscheinlich eine allmählich einsetzende Resorption durch die Organe, vor allem die Schilddrüse.

4. Untersuchungen von Organen und Bestandteilen des Organismus.

Nach Beendigung der oben beschriebenen Versuche wurden die Schilddrüsen, Fett und Muskelfleisch zweier Tiere auf ihren Jodgehalt untersucht. Ferner gelangten zur Untersuchung zwei Ziegenschilddrüsen, die vom Schlachthaus München bezogen worden waren, von denen nicht anzunehmen ist, daß sie früher unter Jodbehandlung gestanden hatten. Bezüglich der beiden geschlachteten Tiere aus unserem Versuch ist zu sagen, daß das eine mit Tier 7 identisch ist, welches zuletzt als Normaltier gedient hatte, in unserem früheren Versuch (2) jedoch, dessen Beendigung am Tage der Schlachtung (2. Oktober 1925) etwa 2 Monate zurücklag, als Versuchstier verwendet worden war und längere Zeit hindurch zuerst 180 dann 120 mg J täglich erhalten hatte. Das andere Tier war das Versuchstier 11 des obigen Fütterungsversuchs, hatte also bis 3 Wochen vor der Tötung unter Jodbehandlung bei einer täglichen Zufuhr von 15 bzw. 7,5 mg J gestanden. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle III verzeichnet.

Tabelle IV.

Jodgehalt in Gammaprozenten.

Tierbezeichnung	Fett	Muskel	Schilddrüse	Gewicht der Drüse g
Normal	—	—	16 930	10,468
Normal	—	—	31 720	5,485
7	1,3	3,2	44 190	8,82
11	1,1	0,8	112 600	8,10

Das hervorragende Jodselektionsvermögen der Schilddrüse ist zu bekannt, als daß es auf Grund dieser Untersuchungen besonderer Hervorhebung bedürfte. Daß es auch bei Ziegen in so hohem Maße der Fall ist, macht die noch nicht völlig bewiesene Annahme der Lebensnotwendigkeit des Jods wiederum wahrscheinlicher. Leider war es nicht möglich, die Drüsen der übrigen Versuchstiere zur Untersuchung zu bringen. Die erhaltenen Resultate ergaben daher, wenn auch nicht einen sicheren Schluß, doch den Hinweis auf ein erhebliches Speicherungsvermögen der Schilddrüse bei reichlicher Jodzufuhr. Die bezüglich Wachstum und Entwicklung mehr passiven Bestandteile des Organismus, Fett und Muskel, scheinen sich auch gegenüber hoher Jodzufuhr zum Tier indifferent zu verhalten. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieser letzten Frage sind in der Durchführung begriffen.

Zusammenfassung

[einschließlich der Ergebnisse unserer früheren Mitteilung (2)].

1. Bei im Verlauf von 4 Monaten durchgeführter Beobachtung der Milch von Ziegen unter normaler Fütterung wurde keine Milch ohne Jod gefunden.

2. Es wurde bei gleichbleibender Fütterung durchweg eine Verminderung des Milchjodgehaltes gegen Ende des Jahres festgestellt.

3. Jodgaben von 7,5 mg J als NaJ pro Tier und Tag verursachten noch eine beträchtliche Jodierung der Milch. Ob solche Milch behufs prophylaktischer Jodzufuhr für die menschliche Ernährung überhaupt oder auf längere Zeit verwendet werden darf, bleibt unsererseits prinzipiell dem Urteil der hierfür allein berufenen Mediziner überlassen.

4. Nach Aufhören der peroralen Jodzufuhr sank der Milchjodgehalt sehr rasch wieder ab, doch scheint in der Schilddrüse eine Speicherung von längerem Bestand stattzufinden.

Literatur.

- 1) Diese Zeitschr. 170, 277, 1926. — 2) Ebendasselbst 170, 300, 1926. —
3) Ebendasselbst 178, 161, 1926.

Berichtigung.

In unserer III. Mitteilung, diese Zeitschr. 170, 300, 1926, war in den Originalen der Abbildungen das absolute Verhältnis von Zeit und Maßstab angegeben und ist versehentlich bei der Drucklegung trotz Verkleinerung der Bilder beibehalten worden. Bei den Abb. 1 und 2a ergibt sich der richtige Wert aus dem Abstand der Daten; in den Abb. 2b, 3a und 3b ist entsprechend zu setzen: 1 mm = 24^h, 0,2 cm = 24^h und 0,2 cm = 24^h.

Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element.

VII. Mitteilung¹⁾:

Fütterungsversuche mit verschiedenen Jodgaben an Milchkühen.

Von

A. Strobel, K. Scharrer und W. Schropp.

(Aus dem agrikulturchemischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weißenstephan bei München.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Innerhalb der großen Fragestellung „Das Jod als biogenes Element“ nimmt die Verabreichung von Jod und Jodverbindungen an Nutztiere eine besondere Stellung ein. Einerseits können in mancher Richtung aus den Forschungsergebnissen an Nutztieren über die Aufgabe des Jods in der Natur ganz allgemein Folgerungen abgeleitet werden. Andererseits ist es aber auch möglich, durch Zusammentragen von kleinsten Bausteinen allmählich die Grundlagen für die nicht völlig bedeutungslose Erörterung zu sammeln, ob und inwieweit das Jod allseits oder vielleicht auch nur in gewissen Gegenden und unter gewissen Verhältnissen in der Natur in ungenügender Menge vorhanden sein könnte.

Als solche kleinste Bausteine, die an Hand sorgsamer Erwägung in einem bewußt engen Rahmen gehalten wurden, sind die Fütterungsversuche mit wechselnden Jodgaben an Nutztieren gedacht. Die bisherigen Untersuchungen an Ziegen haben manches Beachtenswerte ergeben. So ist übereinstimmend festzustellen, daß auch „massive“ Jodgaben während der Versuchsdauer ohne Einfluß auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere blieben, und daß die höheren Dosen sich günstig auf die Milchsekretion auswirkten. Auch das Studium des Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels brachte wertvolle Einblicke in diese Verhältnisse. *Alle Folgerungen aber halten sich*

¹⁾ I. Mitteilung: diese Zeitschr. 170, 265, 1926; II. Mitteilung: ebendasselbst 170, 277, 1926; III. Mitteilung: ebendasselbst 170, 300, 1926; IV. Mitteilung: ebendasselbst 178, 161, 1926; V. Mitteilung: ebendasselbst 180, 300, 1927; VI. Mitteilung: ebendasselbst 180, 307, 1927.

innerhalb des sachlichen Arbeitskreises und weitere Schlüsse sollen und können vorläufig nicht daraus gezogen werden; diese Aufgabe fällt den einschlägigen Sonderdisziplinen zu. Von uns wurden zur weiteren Beurteilung der Darreichung von Jod und Jodverbindungen die in diesem Zyklus mit Ziegen begonnenen Untersuchungen durch Versuche an Milchkühen, als der wertvollsten und meistverbreiteten Nutztiergattung, fortgesetzt.

Die Fragestellung bei diesen Versuchen stimmte in ihren Grundzügen mit der der früheren Versuche überein, verschieden war lediglich die Art und die Form des verwendeten Jods. Bei den Ziegenversuchen war Natriumjodid in Tablettenform den Tieren zugeführt worden, an die Milchkühe erfolgte die Jodgabe als Kaliumjodid in Form künstlich an Jod angereicherter Vollsätze. Die den Ziegen verabreichten Jodmengen waren im Vergleich zu der beachtlichen Wirkung minimaler Jodgaben beim Menschen als relativ „massiv“ zu bezeichnen, besonders auch noch im Hinblick auf die Tiergröße. Bei den Versuchen an Milchkühen kamen wesentlich geringere Jodmengen als bisher zur Verwendung.

A. Die Durchführung der Versuche.

Die Versuche wurden entsprechend den wechselnden Jodgaben in zwei zeitliche Abschnitte als drei- bzw. zweiteilige Gruppenversuche eingeteilt. Zur Vermeidung von Wiederholungen erscheint es angebracht, das den Versuchen Gemeinsame vorweg zu behandeln.

I. Fragestellung und Versuchsplan.

Sämtlichen Versuchen lag die Fragestellung zugrunde: Welchen Einfluß haben die jeweiligen Jodgaben:

1. auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere,
2. auf den Milchertrag,
3. auf den Fettgehalt der Milch,
4. auf das spezifische Gewicht der Milch?

Auf dieser Fragestellung bauten sich die nachstehenden Versuchspläne auf.

Versuchsabschnitt I, dreiteiliger Gruppenversuch.

Gruppe A: Grundfutter ohne Jod während der ganzen Versuchsdauer.

Gruppe B: Vorfütterung: Grundfutter ohne Jod,

Übergangszeit: Grundfutter + 1,53 mg Jod,

Hauptperiode: Grundfutter + 1,53 mg Jod.

Gruppe C: Vorfütterung: Grundfutter ohne Jod,

Übergangszeit: Grundfutter + 3,82 mg Jod,

Hauptperiode: Grundfutter + 3,82 mg Jod.

Versuchsabschnitt II, zweiteiliger Gruppenversuch.

Gruppe A: Grundfutter ohne Jod während der ganzen Versuchsdauer.

Gruppe B: Übergangszeit: Grundfutter + 76,45 mg Jod,

Hauptperiode: Grundfutter + 76,45 mg Jod.

Die Versuche wurden demzufolge nach dem Gruppensystem in der Weise angesetzt, daß im ersten Versuchsabschnitt drei Gruppen zu je acht Tieren aufgestellt waren, von denen die eine während der ganzen Versuchsdauer nur Grundfutter und jodfreies Salz erhielt, während an die beiden anderen Gruppen neben der gleichen Menge Grundfutter als Beigabe Jod in den oben angeführten Mengen innerhalb der dafür vorgesehenen Zeit verabreicht wurde. Auf den zweiten Versuchsabschnitt fand dieses Verfahren sinngemäße Anwendung, jedoch mit anderen Jodmengen. Die Anzahl der Gruppen war hier nur zwei, wobei jede zehn Tiere umfaßte. Die Versuche erstreckten sich über die Zeit vom Dezember 1925 bis März 1926.

Die Daten der einzelnen Versuchsabschnitte werden bei der Besprechung der Ergebnisse angeführt.

II. Die Art der Tiere.

Die Versuchstiere — der Rasse nach dem Höhenfleckviehschlag zugehörig — wurden aus dem Tierbestand des Staatsgutes Weihenstephan unter möglichster Berücksichtigung gleicher Verhältnisse hinsichtlich Alter und Lactationszeit ausgesucht und im Hauptstall des Staatsgutes gemäß der Einteilung in die einzelnen Gruppen aufgestellt. Das durchschnittliche Alter der Versuchstiere war 6 Jahre. Die Anzahl der Kälber im Durchschnitt vier. Von den 24 Versuchstieren standen 12 in den ersten 5 Monaten der Lactation, 12 waren neumelk. Zum Ausgleich dieser Unterschiede wurde jeder Gruppe die gleiche Anzahl neumelker Tiere und die gleiche Anzahl in der Lactation bereits weiter fortgeschrittener Tiere zugeführt. Weiterhin wurde noch Bedacht darauf genommen, daß jedem Tier einer Gruppe ein solches mit annähernd gleichem Milchertag in den übrigen Gruppen gegenüberstand.

III. Das Versuchsfutter.

Der Grundfutterration wurde eine tägliche Milchleistung von 10 kg auf 500 kg Lebendgewicht zugrunde gelegt. Als Grundfutter wurden dementsprechend auf 1000 kg Lebendgewicht gegeben: 18 kg Heu, 9 kg Stroh, 30 kg Schlempe, 10 kg Rüben, 1,5 kg Erdbüchsen, 1,00 kg Weizenfuttermehl und 0,5 kg Kleie. Da das Grundfutter aus den Vorräten des Staatsgutes entnommen werden mußte, ließen sich Veränderungen in dessen Zusammensetzung während der Versuche nicht ganz vermeiden. So mußten ab 3. Februar 1926 die bisher gegebenen 10 kg Rüben durch die gleiche Menge Silofutter ersetzt werden. Die durch Beendigung der Brennzeit eingestellte Lieferung von Schlempe ab 4. März 1926 machte einen Übergang zu rohen Kartoffeln mit 15,5 kg je Tag notwendig. Bei einem Durchschnittsgewicht von 650 kg pro Tier betrug somit die tägliche Grundfuttermenge: 11,70 kg Heu, 5,85 kg Stroh, 19,50 kg Schlempe bzw. 10,75 kg rohe Kartoffeln, 6,50 kg Rüben bzw. 6,50 kg Silofutter, 0,975 kg Erdbüchsen,

0,650 kg Weizenfuttermehl, 0,325 kg Kleie. Tränkwasser wurde den Tieren nach jeder Mahlzeit ohne Beschränkung der Menge gereicht.

An Heu stand solches von mittelmäßiger bis geringer Qualität, sehr arm an Leguminosen, an Stroh gutes Sommerhalmstroh, an Schlempe gute bis sehr gute Kartoffelschlempe, an Rüben solche von mittlerer Größe und guter Qualität, sowie Kartoffeln von kleiner Größe und mäßiger Güte zur Verfügung. Das vorhandene Silofutter entsprach den Anforderungen an ein Gut von mittelmäßiger Beschaffenheit, Weizenfuttermehl und Kleie von sehr guter Qualität. Der zu den Versuchen verwendete Erdnußkuchen war nach der Prüfung der Landesanstalt für Pflanzenbau und Pflanzenschutz München rein und hülsenfrei, mit mäßigen Mengen Samenschalen (Spuren Kokosmehl) durchsetzt und wies gute Frische auf.

Da die Versuchstiere in zwei Abteilungen aufgestellt waren, wurde das Futter täglich für jede Abteilung getrennt abgewogen und auf die einzelnen Tiere gleichmäßig verteilt. Gefüttert wurde täglich zweimal, und zwar 6 Uhr morgens und 3 Uhr nachmittags. Heu und Stroh wurden als Häcksel, das Silofutter lang verabreicht, die Schlempe warm, Kartoffeln und Rüben geschnitzelt verfüttert. Erdnußkuchen wurden 12 Stunden vor dem Füttern eingeweicht, Weizenfuttermehl und Kleie trocken gegeben. Die Aufnahme des reichlich bemessenen Futters war gut.

Außer der bereits erwähnten Untersuchung des Erdnußkuchens auf Reinheit und Frische wurden von sämtlichen Futtermitteln Gesamt-nährstoffanalysen vorgenommen, deren Ergebnisse Tabelle I zeigt.

Tabelle I.

Untersuchungsergebnisse der Futtermittel.

Futtermittel	H ₂ O Proz.	Asche Proz.	Ro- protein Proz.	Rohfett Proz.	Rohfaser Proz.	N-freier Extrakt Proz.
Häcksel (Heu und Stroh) Verhältnis 2:1 . . .	17,10	6,50	10,50	1,74	32,40	31,85
Kartoffelschlempe . . .	94,85	0,65	1,15	0,12	0,60	2,63
Rüben	88,18	0,90	1,10	0,10	0,95	8,77
Kartoffeln	78,46	1,00	2,00	0,10	0,75	17,69
Silofutter	41,55	4,38	8,31	2,80	17,90	24,61
Erdnußkuchen	9,38	6,64	47,19	7,73	4,12	24,94
Weizenfuttermehl	15,73	3,29	16,88	2,90	3,00	55,01
Kleie	10,54	5,61	15,38	2,61	8,35	42,49

Das Jod wurde den Tieren als Kaliumjodid mit Hilfe sogenannter Vollsalze zugeführt. Außerdem erhielt die jodfreie Gruppe die gleiche Menge Salz ohne Jodierung wie die übrigen Gruppen, um Versuchsfehler zu vermeiden. Die Salze hatten folgende Zusammensetzung:

1. Für die jodfreien Gruppen: Reines Salinensalz.
2. Für die Jodgruppen:

a) *Vollsalz A.* 40 mg KJ je Kilogramm Salz oder 2 g in 100 ccm H₂O gelöstes Jodkalium auf je 50 kg reines Salinensalz. Schwach rötlich mit Eosin gefärbt. In 50 g Salz sind 2 mg KJ = 1,53 mg Jod enthalten.

b) *Vollsalz B.* 100 mg KJ je Kilogramm Salz oder 5 g in 100 ccm H_2O gelöstes Jodkalium auf je 50 kg reines Salinensalz. Schwach blau mit Methylenblau gefärbt. In 50 g Salz sind 5 mg KJ = 3,82 mg Jod enthalten.

c) *Vollsalz C.* 2 g KJ je Kilogramm Salz oder 100 g in 200 ccm H_2O gelöstes Jodkalium auf je 50 kg reines Salinensalz. Schwach violett mit Methylviolett gefärbt. In 50 g Salz sind 100 mg KJ = 76,45 mg Jod enthalten.

Zur Herstellung der Vollsalze wurde bayerisches Salinensalz verwendet, die dem Salzquantum entsprechende Menge Jodkalium in Wasser gelöst, dem Salz tropfenweise zugegeben, nach einigen Minuten wiederholt gut durchgemischt und auf diese Weise eine schnelle, leichte und vollständige Verteilung des Jodkaliums auf Grund von Oberflächenkräften herbeigeführt¹⁾.

Die tägliche Salzgabe je Tier betrug 50 g, zu jeder Mahlzeit die Hälfte, vermischt mit Weizenfuttermehl und Kleie.

B. Die einzelnen Versuche.

I. Dreiteiliger Gruppenversuch.

Bei diesem Versuch, der drei Gruppen A, B und C zu je acht Tieren umfaßte, wurden außer dem für sämtliche Tiere während der ganzen Dauer der Untersuchungen gleichen Grundfutters an Gruppe A je Tier und Tag 50 g reines Salinensalz, an Gruppe B je Tier und Tag in 50 g Vollsalz A 1.53 mg Jod und an Gruppe C je Tier und Tag in 50 g Vollsalz B 3,82 mg Jod verabreicht.

Die einzelnen Daten dieses Versuchs waren folgende:

Vorfütterung vom 21. bis 30. Dezember 1925.

Übergangszeit vom 31. Dezember 1925 bis 9. Januar 1926.

Hauptperiode vom 10. Januar 1926 bis 13. Februar 1926.

Vorfütterung und Übergangszeit dauerten je 10 Tage, die Hauptperiode 35 Tage. Bei der Besprechung der Versuchsergebnisse hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die Hauptperiode einer Teilung in Unterabschnitte von je 10 Tagen zu unterziehen. Durch dieses Verfahren wird eine einheitlichere Basis für die gegenseitigen Vergleiche geschaffen und außerdem eine eingehendere Betrachtung einzelner Versuchsfragen ermöglicht. Die Teilung der Hauptperiode dieses Versuchs²⁾ ergibt die Unterabschnitte:

Teil 1 vom 10. bis 19. Januar (10 Tage).

„ 2 „ 20. bis 29. Januar (10 Tage).

„ 3 „ 30. Januar bis 8. Februar (10 Tage).

„ 4 „ 9. bis 13. Februar (5 Tage).

Die Einteilung der 24 Versuchstiere in die drei Gruppen wurde am 20. Dezember 1925 nach dem durchschnittlichen Milchertrag von 10 Tagen vorgenommen.

¹⁾ Vgl. hierzu *Heinrich Hunziker* und *Hans Eggenberger*, Die Prophylaxe der großen Schilddrüse, S. 300. Bern und Leipzig, Ernst Bircher, 1924.

²⁾ Das Verfahren fand auch beim zweiten Versuch Anwendung.

1. Der Einfluß der Jodgaben auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere mit besonderer Berücksichtigung der Körpertemperatur.

Die Beobachtungen über Verhalten und Gesundheitszustand der Tiere in beiden Jodgruppen während der Zeit der Jodzufuhr ließen keinerlei Unterschiede gegenüber dem in der Zeit ohne Jodgabe erkennen.

Von Beginn der Vorfütterung an täglich vorgenommene Messungen der Körpertemperatur jedes einzelnen Tieres hatten folgende Ergebnisse:

	°C	Vergleich von Gruppe B mit Gruppe A °C	Vergleich von Gruppe C mit den Gruppen A und B °C
Vorfütterung			
Gruppe A	38.78	—	+ 0.06
„ B	38.72	—0.06	—
„ C	38.68	—0.10	—0.04
Übergangszeit			
Gruppe A	38.73	—	+ 0.09
„ B	38.64	—0.09	—
„ C	38.56	—0.17	—0.08
Hauptperiode. 1. Teil			
Gruppe A	38.68	—	+ 0.12
„ B	38.56	—0.12	—
„ C	38.50	—0.18	—0.06
Hauptperiode. 2. Teil			
Gruppe A	38.82	—	+ 0.04
„ B	38.78	—0.04	—
„ C	38.69	—0.13	—0.09
Hauptperiode. 3. Teil			
Gruppe A	38.69	—	+ 0.05
„ B	38.64	—0.05	—
„ C	38.61	—0.08	—0.03
Hauptperiode. 4. Teil			
Gruppe A	38.67	—	+ 0.11
„ B	38.56	—0.11	—
„ C	38.53	—0.14	—0.03
Gesamtdurchschnitt			
Gruppe A	38.72	—	+ 0.08
„ B	38.64	—0.08	—
„ C	38.58	—0.14	—0.06

Aus der Zusammenstellung kann entnommen werden, daß die Durchschnitte der Rektaltemperaturen der drei Gruppen in keinem Falle die Normaltemperatur, welche beim Rind 37,5 bis 39,5° C¹⁾ beträgt, übersteigen. Das gleiche war bei den einzelnen Tieren der Fall. Die Durchschnitte der Temperaturen waren am niedrigsten bei Gruppe C, etwas höher bei Gruppe B, Gruppe A wies die höchsten Durchschnittszahlen auf. Von besonderem Interesse ist noch, daß sich dieses Verhalten der drei Gruppen während der ganzen Dauer des Versuchs beobachten ließ.

¹⁾ *Ellenberger* und *Scheunert*, Lehrbuch der vergleichenden Physiologie der Haussäugetiere, S. 451. Berlin 1910.

Tabelle IIa. Gruppe A.

Versuchsabschnitt	Tägl. Durchschnitt	Steigerung (+) oder Verminderung (-) gegenüber											
		Vorfüterung		Übergangszeit		1. Teil		2. Teil		3. Teil		4. Teil	
		kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.
Vorfüterung	77,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Übergangszeit	78,49	+ 1,24	+ 1,57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hauptperiode 1. Teil	75,08	- 3,17	- 4,22	- 3,41	4,54	-	-	-	-	-	-	-	-
" 2. "	76,92	- 0,33	- 0,42	- 1,57	2,04	+ 1,84	+ 2,37	-	-	-	-	-	-
" 3. "	73,89	- 3,36	- 4,54	- 4,60	6,22	- 1,19	- 1,61	3,03	-	-	-	-	-
" 4. "	70,58	- 6,67	- 9,45	- 7,91	11,20	- 4,50	- 6,37	5,34	-	-	-	-	-
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt:	74,62	- 2,63	- 3,52	- 3,87	5,18	- 0,46	- 0,61	- 2,30	- 3,08	+ 0,73	+ 0,97	+ 4,04	+ 5,41

2. Der Einfluß der Jodgaben auf den Milchertrag.

a) Vergleich der einzelnen Versuchsabschnitte untereinander in jeder Gruppe für sich.

Die Durchschnitte der Milchträge der drei Gruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten sind in den Tabellen IIa bis IIc zusammengestellt. Aus ihnen ist zunächst für Gruppe A zu entnehmen, daß der Milchertrag dieser Gruppe in der Übergangszeit gegenüber der Vorfüterung um 1,24 kg oder 1,57 Proz. anstieg. In der Hauptperiode, und zwar in deren Gesamtdurchschnitt, ist ein wesentlicher Rückgang festzustellen, er belief sich beim Vergleich mit der Vorfüterung auf 2,63 kg oder 3,52 Proz., bei einem solchen mit der Übergangszeit auf 3,87 kg oder 18,5 Proz. Unterzieht man die einzelnen Teile der Hauptperiode einer Betrachtung in dieser Hinsicht, so ist zu ersehen, daß im ersten Teil die Milchmenge gegenüber den vorhergegangenen Versuchsabschnitten fiel, im zweiten eine kleine Zunahme erfuhr, um dann im dritten und vierten Teil der Hauptperiode ständig zu sinken. Der geringste Milchertrag dieser Gruppe war im vierten Teil der Hauptperiode zu beobachten.

Die für Gruppe B einschlägige Tabelle IIb zeigt, daß der Milchertrag dieser Gruppe in der Übergangszeit um 1,49 kg oder 2,11 Proz. gegenüber der Vorfüterung zurückging. Ähnlich ist es bei der Hauptperiode. Der Rückgang betrug dort gegenüber der Übergangszeit 2,09 kg oder 3,06 Proz., gegenüber der Vorfüterung 3,58 kg oder 5,24 Proz. Bezüglich der einzelnen Teile der Hauptperiode ist zu sagen, daß im ersten Teil die Milchmenge gleichfalls fiel, im zweiten etwas anstieg, um in den folgenden beiden letzten Teilen wieder, und zwar am erheblichsten im vierten, zurückzugehen.

Tabelle II b. Gruppe B.

Versuchsabschnitt	Tägl. Durchschnitt	Steigerung (+) oder Verminderung (-) gegenüber													
		Vorfütterung		Übergangszeit		1. Teil		2. Teil		3. Teil		4. Teil			
		kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.		
Vorfütterung	71,83	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Übergangszeit	70,34	+ 1,49	- 2,11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hauptperiode 1. Teil	68,92	- 2,91	+ 4,22	- 1,42	- 2,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2. "	69,11	- 2,72	+ 3,94	- 1,23	- 1,77	+ 2,19	+ 0,27	—	—	—	—	—	—	—	—
" 3. "	67,44	+ 3,39	- 5,02	- 2,90	+ 4,30	- 1,48	- 2,19	- 1,67	- 2,47	—	—	—	—	—	—
" 4. "	66,82	+ 5,01	- 7,49	- 3,52	- 5,26	- 2,10	- 3,14	- 3,39	- 5,07	- 0,62	- 0,92	—	—	—	—
Hauptperiode															
Gesamtdurchschnitt:	68,25	- 3,58	+ 5,24	- 2,09	- 3,06	- 0,67	- 0,98	- 0,86	- 1,26	+ 0,81	+ 1,17	+ 1,43	+ 2,09	—	—

Tabelle II c. Gruppe C.

Versuchsabschnitt	Tägl. Durchschnitt	Steigerung (+) oder Verminderung (-) gegenüber													
		Vorfütterung		Übergangszeit		1. Teil		2. Teil		3. Teil		4. Teil			
		kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.		
Vorfütterung	75,39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Übergangszeit	76,11	+ 0,72	+ 0,94	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hauptperiode 1. Teil	75,63	+ 2,27	+ 0,35	- 0,48	- 0,63	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2. "	77,28	+ 2,89	+ 3,73	+ 1,17	+ 1,51	+ 1,65	- 2,13	—	—	—	—	—	—	—	—
" 3. "	73,64	- 1,75	- 2,37	- 2,47	- 3,35	- 1,99	- 2,70	- 3,64	- 4,94	—	—	—	—	—	—
" 4. "	73,88	- 1,51	- 2,04	- 2,23	- 3,01	- 1,75	- 2,37	- 3,40	- 4,58	+ 0,24	+ 0,32	—	—	—	—
Hauptperiode															
Gesamtdurchschnitt:	75,28	- 0,11	- 0,14	- 0,83	- 1,10	- 0,35	- 0,46	- 2,00	- 2,65	+ 1,64	+ 2,17	+ 1,40	+ 1,85	—	—

Die Zusammenstellung der Milcherträge der Gruppe C in Tabelle IIc läßt eine Zunahme des Milchertrags in der Übergangszeit gegenüber der Vorfütterung um 0,72 kg oder 0,94 Proz. erkennen. Der Vergleich des Gesamtdurchschnitts der Hauptperiode mit den ersten Versuchsabschnitten zeigt einen sehr geringen Unterschied, nämlich gegenüber der Vorfütterung - 0,11 kg oder - 0,14 Proz., gegenüber der Übergangszeit - 0,83 kg oder - 1,10 Proz. Die Veränderungen der Durchschnittsmilchmengen in den einzelnen Teilen der Hauptperiode verlaufen ähnlich denen der beiden anderen Gruppen. Im ersten Teil trat ein kleiner Rückgang ein, dem ein Ansteigen im zweiten folgte. In den beiden letzten Teilen ist wohl ein Sinken des Milchertrags gegenüber den ersten Abschnitten der Hauptperiode festzustellen, doch war der Unterschied zwischen dem dritten und vierten Teil unwesentlich.

b) Vergleich jedes einzelnen Versuchsabschnittes der einen Gruppe mit den entsprechenden der beiden anderen Gruppen. (Vergleich der Gruppe B mit Gruppe A, s. Tabelle III.)

Der Milchertrag von Gruppe B war in der Vorfütterung um 5,42 kg oder 7,54 Proz. kleiner als der von Gruppe A. In der Übergangszeit zur Hauptperiode hatte sich die Milchmenge von Gruppe B noch mehr verringert, nämlich unter Anrechnung des Unterschieds in der Vorfütterung um weitere 2,73 kg oder 4,04 Proz. Im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode war das Zurückgehen der Milchmenge zwar erheblich geringer, der Rückgang belief sich aber doch noch auf 0,95 kg oder 1,79 Proz. gegenüber Gruppe A. Hinsichtlich der Wirkung der im Vollsatz A verabreichten 1,53 mg Jod je Tier und Tag kann unter Berücksichtigung des Unterschiedes der beiden Gruppen in der Vorfütterung gefolgert werden, daß zu Beginn der Jodgabe eine weitere Erniedrigung der Milchmenge stattfand, daß also das Jod keine Ertragssteigerung zur Folge hatte. Im Verlauf des Versuchs, besonders deutlich ersichtlich aus den Vergleichen der einzelnen Teile der Hauptperiode, holte Gruppe B mehr und mehr auf. Von einer Vermehrung der anfallenden Milchmenge durch 1,53 mg Jod kann trotzdem keinesfalls gesprochen werden.

Vergleich von Gruppe C mit Gruppe A (s. Tabelle III).

In der Vorfütterung stand die Milchmenge von Gruppe C gegenüber der von Gruppe A um 1,86 kg oder 2,46 Proz. zurück. Mit Beginn der Jodgabe verringerte sich wohl die Milchmenge der Gruppe C weiter. Die Abnahme belief sich unter Anrechnung des Unterschieds in der Vorfütterung auf 0,52 kg oder 0,62 Proz. gegenüber Gruppe A. In der Hauptperiode dagegen setzte eine Erhöhung des Milchertrages ein, und zwar betrug der Unterschied des Gesamtdurchschnitts zugunsten von Gruppe C 2,42 kg oder 3,33 Proz. Wie ein Blick auf die Unterschiede der beiden Gruppen in den einzelnen Teilen der Hauptperiode zeigt, war die Zunahme der Milchsekretion von Gruppe C im ersten Teil am größten. In den folgenden Abschnitten ging sie langsam zurück. Die Wirkung der Jodgabe in Form von Vollsatz B mit 3,82 mg Jod äußerte sich hier demnach zwar nicht in Form eines bedeutenden Zuwachses an Milch, es ist aber doch ein Einfluß des zugeführten Jods auf den Verlauf der Lactation im günstigen Sinne zu erkennen.

Tabelle III.

Fütterung	Gruppe	Ertrag	Zahlenmäßiger Unterschied des Ertrages von Gruppe B gegenüber über Gruppe A		Unterschied des Ertrages von Gruppe B unter Berücksichtigung des Unterschiedes in der Vorfütterung		Zahlenmäßiger Unterschied des Ertrages von Gruppe C gegenüber von Gruppe A und B		Unterschied des Ertrages von Gruppe C unter Berücksichtigung des Unterschiedes in der Vorfütterung	
			kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.	kg	Proz.
Vorfütterung	A	77,25	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	71,83	—5,42	—7,54	—	—	—	—	—	—
	C	75,39	—	—	—	—	—	—	—	—
Übergangszeit	A	78,49	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	70,34	—8,15	—11,58	—2,73	—4,04	—	—	—	—
	C	76,11	—	—	—	—	—	—	—	—
Hauptperiode 1. Teil	A	75,08	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	68,92	—6,16	—8,93	—0,74	—1,39	—	—	—	—
	C	75,63	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2. Teil	A	76,92	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	69,11	—7,81	—11,30	—2,40	—3,86	—	—	—	—
	C	77,28	—	—	—	—	—	—	—	—
" 3. Teil	A	73,89	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	67,44	—6,45	—9,56	—1,03	—2,02	—	—	—	—
	C	73,64	—	—	—	—	—	—	—	—
" 4. Teil	A	70,58	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	66,82	—3,76	—5,62	—	—	—	—	—	—
	C	73,88	—	—	—	—	—	—	—	—
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt:	A	74,62	—	—	—	—	—	—	—	—
	B	68,25	—6,37	—9,33	—0,95	—1,79	—	—	—	—
	C	75,28	—	—	—	—	—	—	—	—

Vergleich der beiden Jodgruppen B und C (s. Tabelle III).

Dieser Vergleich ist insofern von Belang, da er weitere wertvolle Gesichtspunkte für die Bewertung der Jodwirkung liefert. Die Gegenüberstellung der beiden Gruppen in der Vorfütterung zeigt einen um 3,56 kg oder 4,95 Proz. höheren Milchertrag von Gruppe C gegenüber Gruppe B. Dieser Vorsprung von Gruppe C vergrößert sich in der Übergangszeit (Beginn der Jodgaben) auf 6,71 kg oder 8,87 Proz. Unter Anrechnung des Unterschiedes in der Vorfütterung betrug er 2,21 kg oder 5,25 Proz. Im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode stand Gruppe B noch mehr gegen Gruppe C zurück, die Differenz der beiden Milcherträge war hier 3,47 kg oder 5,35 Proz. zugunsten von Gruppe C, wobei wiederum der Unterschied in der Vorfütterung bereits berücksichtigt ist. Die gegenseitigen Vergleiche dieser beiden Versuchsgruppen bestätigen das vorstehende Ergebnis des Vergleichs von Gruppe C mit Gruppe A. Aus dieser Tatsache kann ein Schluß auf die Sicherheit des gesamten Versuchs auch insofern gezogen werden, als dieser rein versuchsmäßige Befund mit der mathematischen Folgerung vollkommen übereinstimmt. Es wurde festgestellt, daß Gruppe B = Gruppe A sich verhält. Ferner ergab sich, daß Gruppe C im Milchertrag besser war als Gruppe A. Es muß also auch Gruppe C in ihrer Milchleistung über Gruppe B stehen. Der Versuch hat diesen Beweis tatsächlich erbracht.

c) Zusammenfassende Folgerungen aus den vorhergehenden Abschnitten 2a und 2b (s. Tabelle IV).

Die Auswertung des Versuchs hinsichtlich der Einwirkung der Jodgaben auf den Milchertrag erfolgt in nachstehendem an Hand der Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen auf zweierlei Wegen:

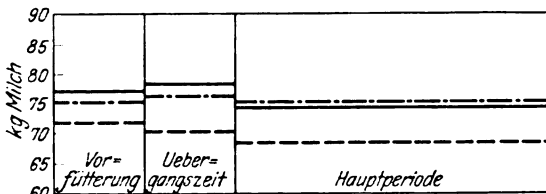


Abb. 1.

Versuchsteil 1, dreiteiliger Gruppenversuch.

Durchschnittlicher Gesamtmilchertrag in kg je Gruppe und Tag in den einzelnen Versuchsabschnitten.

— Gruppe A ohne Jod. - - - Gruppe B mit 1,53 mg Jod.
 ····· Gruppe C mit 3,83 mg Jod.

Bei der einen Behandlungsart wird der Verlauf der Milchsekretion jeder Jodgruppe für sich gesondert betrachtet. Für Gruppe B lautet das Urteil dahingehend, daß die Jodgabe von 1,53 mg auf das Sinken der Milchabsonderung keinen Einfluß ausübt. Bei Gruppe C mit 3,82 mg Jod zeigt ein unter diesem Gesichtspunkte angestellter Vergleich ein günstiges Verhalten der Jodzufuhr dadurch, daß die ständige Senkung der Milchmenge, welche bei den Gruppen A und B zum Ausdruck kommt und mit dem Verlauf der Lactationszeit zweifellos zusammenhängt, nicht eintritt.

Die zweite Behandlungsart, nämlich der Vergleich der einzelnen Jodgruppen mit der Gruppe ohne Jod, erscheint ungleich wertvoller, da er

Tabelle IV.

Veränderungen (+ Erhöhung, — Verminderung) der Milcherträge der einzelnen Gruppen während Übergangszeit und Hauptperiode in Prozenten der Milchmenge jeder Gruppe in der Vorfütterung.

Nr.	Gruppe	Übergangszeit	Hauptperiode				Gesamtdurchschnitt
			1. Teil	2. Teil	3. Teil	4. Teil	
1	A	— 1,57	— 4,22	— 0,42	— 4,54	— 9,45	— 3,52
2	B	— 2,11	— 4,22	— 2,72	— 3,39	— 7,49	— 5,24
3	C	+ 0,94	+ 0,35	+ 3,73	— 2,37	— 2,04	— 0,14

bei der Gegenüberstellung der Ertragszahlen auch die Berücksichtigung der natürlichen Veränderung der Lactation gestattet. Es kann jedoch vorweggenommen werden, daß sich diese Erörterungen mit obigen Auswertungsergebnissen bis ins kleinste decken. Die Vergleichszahlen führen auch auf diesem Wege dazu, die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen als noch innerhalb der Fehlergrenzen liegend anzusehen. Die rein zahlenmäßigen Vergleiche der Erträge der Versuchsgruppen miteinander geben keinen sicheren Schluß zu, daß die Jodgaben eine Erhöhung der Milchsekretion veranlaßten. Untersucht man aber den Lactationsverlauf der drei Gruppen nebeneinander an Hand der Zusammenstellung in Tabelle IV, welche die Veränderungen (+ Erhöhung, — Verminderung) der Milchmengen der drei Gruppen während der einzelnen Versuchsabschnitte jeweils gegenüber der Vorfütterung in Prozenten zum Ausdruck bringt, so zeigen die Zahlen der Gruppe A einen zunächst wechselnden Verlauf der Milchsekretion, gegen Ende des Versuchs aber ein ganz plötzliches und scharfes Abfallen. Bei Gruppe B ist während des ganzen Versuchs ein Nachlassen der Milchabsonderung zu beobachten, dieses Zurückgehen ist jedoch langsamer und regelmäßiger als das von Gruppe A. Die günstigsten Verhältnisse zeigt Gruppe C. Hier liegt anfänglich eine Zunahme der Milchleistung vor, die bis zum zweiten Teil der Hauptperiode anhält. Das folgende Zurückgehen fällt gegenüber den beiden anderen Gruppen kaum ins Gewicht. Trotzdem eine eindeutige Vermehrung der Milch nicht vorhanden ist, muß doch ein Einfluß der höheren Jodgabe im Gesamtbild des Versuchs festgestellt werden insofern, als innerhalb des Fortschreitens der Lactationszeit eine deutlich langsamere Senkung der Milchmenge bei Gruppe C zu erkennen ist.

3. Wirkung der Jodgaben auf den Fettgehalt der Milch.

Als Grundlage der Berechnungen diente der tägliche Durchschnittsfettgehalt der Milch jeder Gruppe, berechnet aus dem Fettgehalt von Morgen- und Abendgemelk.

Aus der Zusammenstellung der Durchschnittsfettgehalte in Tabelle V geht hervor, daß der prozentische Fettgehalt von Gruppe A nach einer geringfügigen Abnahme in der Übergangszeit in den einzelnen Teilen der Hauptperiode durchweg stieg. Gruppe B stand hinsichtlich des prozentischen Fettgehalts in der Vorfütterung um 0,13 Proz. über der jodfreien Gruppe A. In den weiteren Versuchsabschnitten war wohl noch ein Unterschied in den beiden Gruppen zugunsten von B festzustellen, dieser wurde aber

Tabelle V.

Versuchsabschnitt	Gruppe	Durchschnitts-fett-gehalt	Unterschied			Durchschnittliche Fettmenge	Unterschied		
			Von Gruppe B gegen Gruppe A	Von Gruppe C gegen Gruppe A und B			Von Gruppe B gegen Gruppe A	Von Gruppe C gegen Gruppe A und B	
			Proz.	Proz.	kg		kg	kg	kg
Vorfütterung	A	3,44	—	+ 0,13	2,66	—	+ 0,03		
	B	3,57	+ 0,13	—	2,56	- 0,10	+ 0,13		
	C	3,57	—	—	2,69	—	—		
Übergangszeit	A	3,42	—	+ 0,11	2,68	—	—		
	B	3,51	+ 0,09	+ 0,02	2,46	- 0,22	- 0,22		
	C	3,53	—	—	2,68	—	—		
Hauptperiode 1. Teil	A	3,62	—	- 0,03	2,72	—	- 0,01		
	B	3,65	+ 0,03	- 0,06	2,51	- 0,21	+ 0,20		
	C	3,59	—	—	2,71	—	—		
- 2. Teil	A	3,62	—	+ 0,01	2,78	—	+ 0,02		
	B	3,66	+ 0,02	- 0,03	2,52	- 0,26	+ 0,28		
	C	3,63	—	—	2,80	—	—		
- 3. Teil	A	3,64	—	+ 0,02	2,68	—	+ 0,01		
	B	3,67	+ 0,03	- 0,01	2,47	- 0,21	+ 0,22		
	C	3,66	—	—	2,69	—	—		
- 4. Teil	A	3,73	—	- 0,01	2,63	—	+ 0,11		
	B	3,72	- 0,01	—	2,48	- 0,15	+ 0,26		
	C	3,72	—	—	2,74	—	—		
Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode	A	3,65	—	—	2,72	—	+ 0,02		
	B	3,67	+ 0,02	- 0,02	2,50	- 0,22	+ 0,24		
	C	3,65	—	—	2,74	—	—		

zen Ende des Versuchs immer kleiner und belief sich im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode nurmehr auf 0,02 Proz. gegenüber Gruppe A. Bei Gruppe C liegen ähnliche Verhältnisse vor. Der prozentische Fettgehalt von Gruppe C war in der Vorfütterung um 0,13 Proz. größer als der von Gruppe A. Im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode zeigten beide Gruppen gleiche Durchschnittsfettprozente.

Bei Betrachtung der absoluten Fettmengen der drei Gruppen ist zunächst für Gruppe A zu sagen, daß diese entsprechend dem prozentischen Fettgehalt der Milch in den einzelnen Versuchsabschnitten zunahm. Die absolute Fettmenge von Gruppe B war bei Beginn dieses Versuchs um 0,10 kg kleiner als die von Gruppe A und stand bei der Hauptperiode um 0,22 kg gegen diese zurück. Die Veränderungen der Fettausbeute von Gruppe C gegenüber Gruppe A während der ganzen Dauer dieses Versuchs waren ohne wesentliche Bedeutung.

Das Urteil über die Wirkung des Jods auf den Fettgehalt der Milch läßt sich dahingehend zusammenfassen, daß durch die Jodgabe von 1,53 mg sowohl der prozentische Fettgehalt, als auch die absolute Fettmenge eine Verminderung erfuhren, durch die Gabe von 3,82 mg Jod der prozentische

Fettgehalt gleichfalls sank, die absolute Fettmenge jedoch, bedingt durch den höheren Milchertrag dieser Gruppe, auf gleicher Höhe wie in der Zeit ohne Jodgebe blieb.

4. Der Einfluß der einzelnen Jodgeben auf das spezifische Gewicht der Milch.

Die Ermittlung des spezifischen Gewichts der Milch erfolgte gleichzeitig mit der Bestimmung ihres Fettgehalts. Die in Tabelle VI zusammengestellten Zahlen drücken die Durchschnitte der täglichen Messungen, errechnet aus dem spezifischen Gewicht von Früh- und Abendmelk jeder Gruppe, aus.

Tabelle VI.

Spezifisches Gewicht der Milch der drei Gruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten.

Versuchsabschnitt	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Vorfütterung	1,0322	1,0322	1,0325
Übergangszeit	1,0323	1,0326	1,0334
Hauptperiode 1. Teil	1,0324	1,0324	1,0326
" 2. Teil	1,0323	1,0323	1,0324
" 3. Teil	1,0324	1,0323	1,0323
" 4. Teil	1,0319	1,0316	1,0319
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt	1,0322	1,0321	1,0323

Zunächst ist im allgemeinen Überblick zu entnehmen, daß das spezifische Gewicht der Milch sämtlicher Gruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten recht geringfügiger Veränderungen unterworfen war. Da das spezifische Gewicht normaler Milch von 1,028 bis 1,034 schwanken kann¹⁾, ist ein Einfluß der bei diesem Versuch angewandten Jodgeben auf das spezifische Gewicht der Milch nicht vorhanden.

II. Zweiteiliger Gruppenversuch.

Dieser nächste Versuch enthielt in zwei Gruppen — Gruppe A ohne Jod, Gruppe B mit Jod — je zehn Tiere. Zu dem für beide Gruppen gleichen Grundfutter wurden in Gruppe A je Tier und Tag 50 g reines Salinensalz, in Gruppe C je Tier und Tag 50 g Vollsatz C, darin 76,45 mg Jod, gegeben.

Der Versuch hatte folgende Einteilung:

Übergangszeit vom 15. bis 24. Februar 1926.

Hauptperiode:

Gesamtdauer vom 25. Februar bis 23. März 1926.

1. Teil vom 25. Februar bis 6. März 1926.

2. Teil vom 7. bis 16. März 1926.

3. Teil vom 17. bis 23. März 1926.

Die Aufstellung der 20 Versuchstiere erfolgte an Hand eines dreitägigen Durchschnitts.

¹⁾ *Fleischmann*, Lehrbuch der Milchwirtschaft, 6. Aufl., S. 47. Berlin 1922.

I. Der Einfluß der Jodgabe auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere mit besonderer Berücksichtigung der Temperaturen.

Auch diesmal konnte ein ungünstiger Einfluß des verabreichten Jods auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere nicht festgestellt werden.

Die täglich durchgeführten Messungen der Rektaltemperatur jedes einzelnen Tieres hatten nachstehende Ergebnisse:

Vergleich der Durchschnitte von Gruppe A mit denen von Gruppe B während der einzelnen Versuchsabschnitte.

Übergangszeit:

Gruppe A	38,69° C
„ B	38,54° C — 0,15° C

Hauptperiode:

1. Teil. Gruppe A	38,71° C
„ B	38,59° C — 0,12° C
2. Teil. Gruppe A	38,56° C
„ B	38,50° C — 0,06° C
3. Teil. Gruppe A	38,59° C
„ B	38,53° C — 0,06° C

Gesamtdurchschnitt:

Gruppe A	38,62° C
„ B	38,54° C — 0,08° C

Tabelle VII. Durchschnitte der Tiere während der einzelnen Versuchszeiten.

Nr.	Tier Nr.	Übergangszeit	Hauptperiode			
			1. Teil	2. Teil	3. Teil	Gesamtdurchschnitt
Gruppe A						
1	420	38,60	38,81	38,53	38,42	38,58
2	456	39,28	38,84	38,76	38,62	38,74
3	446	38,63	38,74	38,62	38,71	38,69
4	415	38,71	38,74	38,66	38,68	38,69
5	256	38,69	38,74	38,59	38,67	38,66
6	257	38,79	38,66	38,56	38,57	38,59
7	258	38,67	38,67	38,48	38,95	38,66
8	255	38,46	38,60	38,31	38,47	38,46
9	264	38,41	38,85	38,53	38,40	38,59
10	253	38,68	38,54	38,63	38,38	38,52
Gruppe B						
1	454	38,48	38,68	38,51	38,61	38,63
2	253	38,67	38,63	38,65	38,62	38,63
3	481	38,64	38,63	38,46	38,57	38,53
4	448	38,46	38,55	38,53	38,65	38,58
5	254	38,55	38,35	38,38	38,64	38,45
6	262	38,66	38,78	38,56	38,68	38,67
7	267	38,53	38,54	38,67	38,40	38,53
8	260	38,50	38,57	38,49	38,47	38,51
9	259	38,49	38,59	38,37	38,32	38,43
10	266	38,50	38,58	38,41	38,34	38,41

Beide Aufstellungen lassen erkennen, daß die Durchschnitte der Temperaturen, sowohl der zwei Gruppen als auch der einzelnen Tiere, während der ganzen Dauer des Versuchs die Normaltemperatur des Rindes (37,5 bis 39,5° C) nicht überschritten. Gruppe B wies bei sämtlichen Versuchsabschnitten niedrigere Durchschnittstemperaturen als Gruppe A auf.

2. Der Einfluß der Jodgaben auf den Milchertrag.

a) Vergleich der einzelnen Versuchsabschnitte untereinander in jeder Gruppe für sich.

Die durchschnittlichen Milchmengen jeder Gruppe in den jeweiligen Versuchsabschnitten sind zusammengestellt in der Übersicht:

Gruppe	Übergangszeit	Hauptperiode			
		1. Teil	2. Teil	3. Teil	Gesamt- durchschnitt
A	87,66	84,08	81,37	81,67	82,46
B	88,00	90,16	90,14	89,90	90,06

Der Milchertrag von Gruppe A war im Verlauf dieses Versuchs ständig zurückgegangen. Die Milchmenge der Hauptperiode erfuhr im Gesamtdurchschnitt gegenüber der Übergangszeit eine Verminderung um 5,20 kg oder 6,30 Proz.

Im Gegensatz hierzu zeigte die Milchleistung von Gruppe B während dieses Versuchs eine durchweg anhaltende, steigende Tendenz. Der Milch-ertrag im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode war um 2,06 kg oder 2,28 Proz. größer als der der Übergangszeit.

b) Vergleich jedes einzelnen Versuchsabschnitts der einen Gruppe mit dem entsprechenden der anderen Gruppe.

Die Gegenüberstellung der beiden Gruppen liefert bei den einzelnen Versuchsteilen nachstehende Ergebnisse:

Tabelle VIII.

Fütterung	Gruppe	Ertrag kg	Unterschied des Ertrages von Gruppe B gegenüber Gruppe A	
			kg	Proz.
Übergangszeit	A	87,66		
	B	88,00	+ 0,34	+ 0,38
Hauptperiode 1. Teil . . .	A	84,08		
	B	90,16	+ 6,08	+ 6,74
" 2. Teil . . .	A	81,37		
	B	90,14	+ 8,77	+ 9,72
" 3. Teil . . .	A	81,67		
	B	89,90	+ 8,23	+ 9,15
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt	A	82,46		
	B	90,06	+ 7,60	+ 8,43

In der Übergangszeit war der Milchertrag von Gruppe B um 0,34 kg oder 0,38 Proz. höher als der von Gruppe A. Im ersten Teil der Hauptperiode nahm die Milchmenge von Gruppe B weiter zu, sie stand hier um 6,08 kg oder 6,74 Proz. über der von Gruppe A. Dieses Ansteigen der

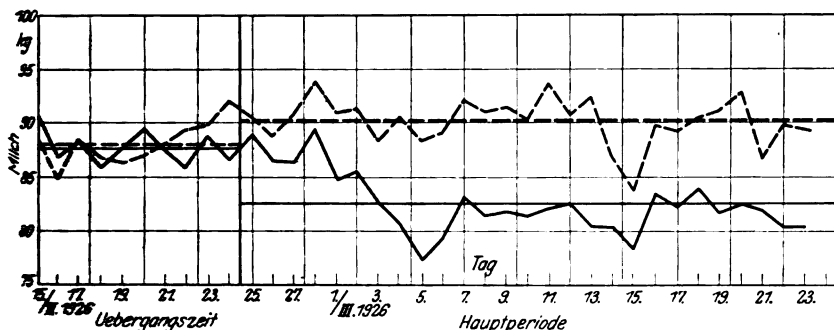


Abb. 2.

Versuchsteil 2, zweiteiliger Gruppenversuch.

Gesamtmilchertrag in kg je Gruppe und Tag in den einzelnen Versuchsabschnitten, sowie deren Durchschnitte.

— Gruppe A ohne Jod. - - - - Gruppe B mit 76,45 mg Jod.

Milchleistung bei Gruppe B setzte sich fort bzw. blieb bestehen. Der Unterschied der Gruppe B gegenüber Gruppe A betrug im zweiten Teil der Hauptperiode + 8,77 kg oder + 9,72 Proz., im dritten und letzten Teil + 8,23 oder + 9,15 Proz. Im Gesamtdurchschnitt betrachtet, stand der Milchertrag von Gruppe B in der Hauptperiode um durchschnittlich 7,60 kg oder 8,43 Proz. höher als der von Gruppe A.

c) Die Wirkung des Jods auf die Milchleistung.

Zur Untersuchung der Wirkung des Jods auf den Milchertrag ist hier der gegenseitige Vergleich der beiden Gruppen A und B in den einzelnen Versuchsabschnitten fast ausschließlich maßgebend. Als Ergänzung kann der Vergleich jeder Gruppe für sich dienen. Mit Hilfe der angeführten Gegenüberstellung läßt sich die Wirkung der Jodgabe von 76,45 mg Jod je Tier und Tag dahingehend zusammenfassen, daß der Milchertrag schon anfänglich eine geringe Steigerung erfuhr, daß die Zunahme sich aber im weiteren Verlauf des Versuchs beträchtlich vergrößerte und weiterbestand. Dieses Ergebnis wird noch durch das Verhalten von Gruppe A in Gestalt einer ständigen Verminderung der Milchleistung während der Versuchsdauer gesichert.

3. Die Wirkung des Jods auf den Fettgehalt der Milch.

Die täglichen Bestimmungen des Durchschnittsfettgehalts der Milch jeder Gruppe sind in Tabelle IX angeführt.

Der prozentische Fettgehalt von Gruppe A nahm während des Versuchs — den dritten Teil der Hauptperiode ausgenommen — ständig zu. Bei Gruppe B schwankte der prozentische Fettgehalt der Milch in den einzelnen Versuchsteilen. Ein Vergleich der Übergangszeit mit dem Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode ergibt eine Verminderung um 0,04 Proz.

Tabelle IX.

Versuchsabschnitt	Gruppe	Durchschnitts-	Unter-	Durchschnittl.	Unter-
		fettgehalt	schied	absolute Fettmenge	schied
		Proz.	Proz.	kg	kg
Übergangszeit	A	3.67		3.22	
	B	3.71	+ 0.04	3.26	+ 0.04
Hauptperiode 1. Teil . . .	A	3.69		3.10	
	B	3.60	- 0.09	3.25	+ 0.15
" 2. Teil	A	3.72		3.03	
	B	3.73	+ 0.01	3.36	+ 0.33
" 3. Teil	A	3.67		3.00	
	B	3.69	+ 0.02	3.32	+ 0.32
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt	A	3.69		3.04	
	B	3.67	- 0.02	3.31	+ 0.27

Innerhalb der Hauptperiode war die größte Abnahme des Fettgehalts der Milch von Gruppe B im ersten Teil zu beobachten. Der Vergleich mit der jodfreien Gruppe A läßt in der Übergangszeit einen um 0,04 Proz. höheren Fettgehalt der Milch von Gruppe B erkennen. Im Gesamtdurchschnitt der Hauptperiode stand Gruppe B hinsichtlich des Fettgehalts um 0,02 Proz. gegenüber Gruppe A zurück. Innerhalb der Hauptperiode war der größte Unterschied der beiden Gruppen im ersten Teil vorhanden.

Ein gleichzeitiger Vergleich der absoluten Fettmengen der beiden Gruppen zeigt, daß die absolute Fettmenge von Gruppe A durch die Verminderung des Milchertrags ständig abnahm, die Fettausbeute von Gruppe B hingegen sich innerhalb der einzelnen Versuchsabschnitte vergrößerte und durchweg größer als die von Gruppe A war.

Das Urteil über die Wirkung von 76,45 mg Jod auf den Fettgehalt der Milch läßt sich dahingehend zusammenfassen, daß der *prozentische* Fettgehalt der Milch eine geringfügige Abnahme, die *absolute* Fettmenge jedoch — verursacht durch den höheren Milchertrag — eine beachtenswerte Zunahme erfuhr.

4. Der Einfluß des Jods auf das spezifische Gewicht der Milch.

Die durchschnittlichen spezifischen Gewichte der beiden Gruppen, errechnet aus den jeweils täglich angenommenen Messungen von Früh- und Abendmelk, gibt Tabelle X an.

Tabelle X.

Spezifisches Gewicht der Milch der zwei Gruppen in den einzelnen Versuchsabschnitten.

Versuchsabschnitt	Gruppe A	Gruppe B
Übergangszeit	1.0320	1.0321
Hauptperiode	1. Teil	1.0316
	2. Teil	1.0317
	3. Teil	1.0323
Hauptperiode Gesamtdurchschnitt	1.0319	1.0321

Bei an sich geringen Schwankungen war das spezifische Gewicht der Milch von Gruppe B stets höher als das von Gruppe A. Da, wie schon erwähnt, das spezifische Gewicht normaler Milch innerhalb gewisser Grenzen schwanken kann, ist auch hier eine Wirkung des Jods auf das spezifische Gewicht der Milch nicht gegeben.

Zusammenfassung der gesamten Ergebnisse aus beiden Versuchen.

1. Die Jodgaben von 1,53, 3,82 und 76,45 mg Jod je Tier und Tag übten keinerlei ungünstigen Einfluß auf das Verhalten und den Gesundheitszustand der Tiere aus.

2. Die Jodgaben von 1,53 und 3,82 mg je Kopf und Tag konnten eine sichere Erhöhung des Milchertrages nicht hervorrufen.

3. Gleichwohl äußerte sich der Einfluß der Gabe von 3,82 mg Jod insofern, daß innerhalb des Fortschreitens der Lactationszeit eine deutlich langsamere Senkung der Milchmenge eintrat als bei den Tieren ohne Jod und mit 1,53 mg Jod.

4. Die Wirkung von 76,45 mg Jod je Kopf und Tag kam in einer beträchtlichen, während der ganzen Dauer des Versuchs anhaltenden Zunahme der Milchmenge zum Ausdruck.

5. Der prozentische Fettgehalt der Milch und die absolute Fettmenge wurden durch die Verabreichung von 1,53 mg Jod etwas vermindert.

6. Auch die Gabe von 3,82 mg Jod verursachte eine geringe Abnahme des prozentischen Fettgehalts, jedoch blieb die absolute Fettmenge gleich, bedingt durch die höhere Milchsekretion.

7. Eine geringfügige Abnahme erfuhr der Fettgehalt durch 76,45 mg Jod, die absolute Fettmenge jedoch eine beachtenswerte Zunahme durch die verbesserte Milchleistung.

8. Im spezifischen Gewicht der Milch entstanden durch sämtliche Jodgaben keine Veränderungen.

Anhang I.

Gesamtmilcherträge in Kilogrammen je Gruppe und Tag in den einzelnen Versuchsabschnitten.

Versuchsteil I, dreiteiliger Gruppenversuch.

a) Vorfütterung.

	XII. 1925										Summe	Durchschnitt
	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.		
Gruppe A	73.10	74.50	75.80	75.20	74.80	77.30	81.80	79.00	79.30	81.70	772.5	77.25
" B	69.90	72.10	74.30	70.20	71.80	67.60	73.80	70.90	74.80	72.90	718.3	71.83
" C	73.80	73.40	76.10	73.50	72.90	75.60	78.40	76.40	77.50	76.30	753.9	75.39

b) Übergangszeit.

	1925	1926									Summe	Durchschnitt
	31. XII.	1. I.	2. I.	3. I.	4. I.	5. I.	6. I.	7. I.	8. I.	9. I.		
Gruppe A	81,70	77,70	76,60	77,00	76,00	79,40	77,30	78,50	80,10	80,60	784,9	78,49
" B	71,60	69,70	69,30	70,40	71,00	70,70	67,90	71,30	72,80	68,70	703,4	70,34
" C	75,40	73,90	71,00	74,00	74,70	77,70	77,90	78,30	77,90	80,30	761,1	76,11

c) Hauptperiode, 1. Teil.

	1926									Summe	Durchschnitt	
	10. I.	11. I.	12. I.	13. I.	14. I.	15. I.	16. I.	17. I.	18. I.			19. I.
Gruppe A	75,60	74,40	76,70	76,90	74,20	74,10	74,60	73,60	73,80	76,90	750,8	75,08
" B	72,60	70,40	70,40	69,30	65,30	69,50	67,00	66,40	68,00	70,30	689,2	68,92
" C	77,30	76,30	74,60	76,80	75,20	73,70	74,90	76,70	74,40	76,40	756,3	75,63

d) Hauptperiode, 2. Teil.

	1926									Summe	Durchschnitt	
	20. I.	21. I.	22. I.	23. I.	24. I.	25. I.	26. I.	27. I.	28. I.			29. I.
Gruppe A	77,10	78,40	77,20	76,90	78,10	76,50	78,00	73,30	78,50	75,20	769,2	76,92
" B	67,80	71,40	71,10	70,70	69,90	68,80	68,60	69,10	66,40	67,30	691,1	69,11
" C	76,50	78,90	78,60	78,40	79,00	77,70	78,10	77,50	74,20	73,90	772,8	77,28

e) Hauptperiode, 3. Teil.

	1926								Summe	Durchschnitt		
	30. I.	31. I.	1. II.	2. II.	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.			7. II.	8. II.
Gruppe A	76,40	75,60	75,30	74,60	74,50	75,50	73,50	71,20	73,80	68,50	738,9	73,89
" B	70,60	66,50	68,50	66,60	66,80	68,20	67,30	66,30	68,60	65,00	674,4	67,44
" C	75,30	73,50	76,30	75,40	69,80	72,90	75,70	72,90	73,70	69,90	736,4	73,64

f) Hauptperiode, 4. Teil.

	1926					Summe	Durchschnitt
	9. II.	10. II.	11. II.	12. II.	13. II.		
Gruppe A	70,70	72,70	68,20	72,20	69,10	352,90	70,58
" B	66,60	67,40	66,90	66,20	67,00	334,10	66,82
" C	74,60	73,20	74,30	73,20	74,10	369,40	73,88

g) Gesamtmilchertrag der Hauptperioden, errechnet aus ihren vier Teilen.

	1. Teil	2. Teil	3. Teil	4. Teil	Summe	Durchschnitt aus 35 Tagen
Gruppe A	750,80	769,20	738,90	352,90	2611,80	74,62
" B	689,20	691,10	674,40	334,10	2388,80	68,25
" C	756,30	772,80	736,40	369,40	2634,90	75,28

Versuchsteil II, zweiteiliger Gruppenversuch.

a) Übergangszeit.

	1926										Summe	Durchschnitt
	15. II.	16. II.	17. II.	18. II.	19. II.	20. II.	21. II.	22. II.	23. II.	24. II.		
Gruppe A	90,60	86,90	88,20	85,70	87,60	89,40	87,40	85,80	88,60	86,40	876,6	87,66
B	88,30	84,90	88,30	86,70	86,10	86,90	88,00	89,20	89,70	91,90	880,0	88,00

b) Hauptperiode, 1. Teil.

	1926								Summe	Durchschnitt		
	25. II.	26. II.	27. II.	28. II.	1. III.	2. III.	3. III.	4. III.			5. III.	6. III.
Gruppe A	88,90	86,30	86,20	89,40	84,80	85,40	82,60	80,50	77,40	79,30	840,8	84,08
B	90,50	88,70	90,70	93,70	91,00	91,10	88,10	90,40	88,40	89,00	901,6	90,16

c) Hauptperiode, 2. Teil.

	1926										Summe	Durchschnitt
	7. III.	8. III.	9. III.	10. III.	11. III.	12. III.	13. III.	14. III.	15. III.	16. III.		
Gruppe A	83,00	81,30	81,60	81,20	82,00	82,40	80,40	80,30	78,20	83,30	813,7	81,37
B	92,00	91,00	91,40	90,10	93,50	90,80	92,30	86,70	83,80	89,80	901,4	90,14

d) Hauptperiode, 3. Teil.

	1926							Summe	Durchschnitt
	17. III.	18. III.	19. III.	20. III.	21. III.	22. III.	23. III.		
Gruppe A . .	82,10	83,80	81,50	82,30	81,90	80,20	80,20	572,00	81,87
B . .	89,20	90,40	91,10	92,90	86,60	89,90	89,40	629,50	89,90

e) Gesamtmilchertrag der Hauptperiode, errechnet aus den drei Teilen.

	1. Teil	2. Teil	3. Teil	Summe	Durchschnitt aus 27 Tagen
Gruppe A . .	840,80	813,70	527,00	2181,50	82,46
B . .	901,60	901,40	629,50	2432,50	90,06

Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element.

VIII. Mitteilung¹⁾:

Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels.

Von

J. Schwaibold und K. Scharrer.

(Aus dem agrikulturchemischen Institut der Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weihenstephan bei München.)

(Eingegangen am 11. November 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Nachdem wir in unserer III. und VI. Mitteilung (1) von eingehenden Untersuchungen über Höhe, zeitliche und jahreszeitliche Schwankungen des normalen Jodspiegels der Milch von Ziegen, sowie über den Einfluß verschieden hoher peroraler Zufuhr anorganischen Jods berichtet haben, liegen nunmehr dieser Arbeit Ergebnisse von Analysen zugrunde, die bei einem ausgedehnten Versuch mit Kühen gemacht wurden (2). Es handelt sich um die Beobachtung des normalen Jodspiegels der Kuhmilch im Verlauf eines längeren Zeitabschnittes, sowie um die Feststellung des Einflusses einer anhaltenden Zufuhr von Jod. Bezüglich der Wahl in den Höhen der Joddosen fußten wir einigermaßen auf den in unseren früheren Untersuchungen (1) gemachten Erfahrungen, ohne damit vollkommen gleiche Verhältnisse bei Ziege und Kuh in der Gewichtseinheit voraussetzen zu wollen. Wir haben gezeigt, daß eine Jodzufuhr von 7.5 mg Jod täglich bei Ziegen noch eine bedeutende Jodierung der Milch zur Folge hat. In diesem Tierversuch kamen zum Teil Joddosen zur Anwendung, die absolut und relativ noch tiefer lagen, und zwar so niedrig, als noch mit der Möglichkeit von analytischen Feststellungen und physiologisch einwandfreien Beobachtungen gerechnet werden konnte.

¹⁾ Vgl. I. Mitteilung: diese Zeitschr. 170, 265, 1926; II. Mitteilung: ebendasselbst 170, 277, 1926; III. Mitteilung: ebendasselbst 170, 300, 1926; IV. Mitteilung: ebendasselbst 178, 161, 1926; V. Mitteilung: ebendasselbst 180, 300, 1927; VI. Mitteilung: ebendasselbst 180, 307, 1927; VII. Mitteilung: ebendasselbst 180, 313, 1927.

Was die Art der Versuchstiere und ihre Haltung betrifft, darf auf die ausführlichen Angaben in der VII. Mitteilung (2) dieser Berichtsfolge verwiesen werden; ebenso hinsichtlich der Beobachtungen des Milch-ertrags, der Milchqualität usw. Um jedoch ein wenigstens 6 Monate um-fassendes Bild des Milchjodspiegels verschiedener Tiere zu erhalten, wurde eine andere zeitliche Einteilung und Durchführung der Tierversuche ge-wählt, wie im folgenden jeweils angegeben wird.

1. Niedrige Joddosierung.

a) Einzeltiere.

Die zu diesem Versuch herangezogenen Tiere waren Nr. 446, welches als Kontrolle diente, Nr. 479, welches täglich 1,53 mg J peroral als KJ erhielt, und endlich Nr. 478 mit täglich 3,82 mg J als KJ.

Die Auswahl erfolgte unter Berücksichtigung möglichst gleicher Ver-hältnisse bezüglich Lactationszeit und Milchertrag. Nach einer Vorperiode zur Einführung der gleichmäßigen Versuchsfütterung begann der Versuch am 31. Dezember 1925 und dauerte bis 28. Juni 1926. Die Milch der Tiere wurde durchschnittlich alle 6 Tage untersucht. Die Ergebnisse hiervon bringt Abb. 1a und Tabelle I.

Tabelle I.

Milchjodspiegel eines Kontrolltieres und zweier Versuchstiere.
Jodgehalt in Gammaprozenten.

Datum	Tier Nr. 446 ohne Jod	Tier Nr. 479		Tier Nr. 478*)	
		1,53 mg Jod pro Tag	3,82 mg Jod pro Tag	1,53 mg Jod pro Tag	3,82 mg Jod pro Tag
29. XII. 1925	4.0	4.0	3.6		
4. I. 1926	3.3	—	7.0		
8. I.	4.0	6.2	6.6		
13. I.	4.0	5.3	8.0		
18. I.	3.0	5.6	6.0		
24. I.	3.3	5.3	4.5		
29. I.	3.6	5.3	5.3		
9. II.	4.6	—	5.0		
18. II.	4.0	8.6	—		
25. II.	10.0	6.3	6.3		
3. III.	10.0	6.0	6.6		
11. III.	5.7	8.6	9.0		
16. III.	6.0	6.2	—		
24. III.	8.3	6.6	7.0		
9. IV.	5.0	10.1	—		
16. IV.	9.0	10.0	8.6		
22. IV.	4.7	—	8.3		
28. IV.	10.1	9.0	6.6		
4. V.	7.3	7.0	8.6		
11. V.	8.6	—	7.0		
17. V.	4.3	—	8.8		
26. V.	6.0	4.7	—		
31. V.	5.3	5.3	5.6		
7. VI.	7.0	—	8.0		
14. VI.	5.7	—	6.6		
21. VI.	4.3	—	7.0		
28. VI.	5.0	—	6.7		

*) Es sei schon hier darauf hingewiesen, daß die Milch jener Tiere, die 3,82 mg Jod peroral pro Tag zum Futter bekamen, zu Versuchszwecken der Kinderpoliklinik München übersandt wurde.

Diese Joddosen sind nun offenbar sehr gering, zumal bei einem Verteilungsvorgang auf den Organismus und bei dem Abgang durch Niere und Haut nur ein Bruchteil für die Jodierung der Milch zur Verfügung bleibt. Wir hofften jedoch, daß die Vorgänge trotzdem noch der Beobachtung zugänglich sein würden. Die Untersuchungsergebnisse der ersten beiden und des letzten Monats der Versuchsperiode haben dies bestätigt. Während

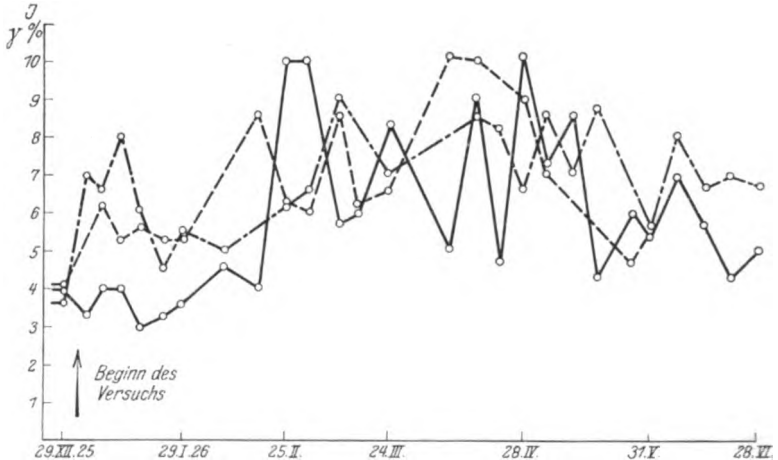


Abb. 1 a.

Milchjodspiegel eines Kontrolltieres und zweier Versuchstiere.

— Normal. - - - - - 1,53 mg J per os p. d. - · - · - 3,82 mg J per os p. d.

die Milch der drei Tiere vor Beginn des eigentlichen Versuchs einen nahezu gleichen, und zwar den für unsere Gegenden typischen Jodgehalt von etwa 4 γ -Proz. zeigten, stieg der Jodspiegel der beiden Versuchstiere unmittelbar nach Beginn der Jodfütterung steil an, bei Tier Nr. 479 um etwa 40 Proz. bei Tier Nr. 478 bis 100 Proz. Dies darf als eine weitgehende Proportionalität zur Höhe der Joddosen angesprochen werden. Die folgenden 3 Monate ergaben überraschenderweise ein gänzlich verändertes Bild, charakterisiert durch eine merkliche Erhebung sämtlicher Kurven, verbunden mit starken Schwankungen. Gleichzeitig verwischten sich die ausgesprochenen Unterschiede in der Intensität der Milchjodierung, die der Versuchsanordnung entsprechend waren. Diese Verhältnisse dauerten von Ende Februar bis Ende Mai. Im Juni, als letzten Monat des Versuchs, ist wieder eine deutliche Senkung der Milchjodierung zu beobachten, und außerdem trat der Abstand in der Höhe des Milchjodspiegels von Tier Nr. 446 und Tier Nr. 478 (Nr. 479 war inzwischen ausgeschieden) deutlich zutage. Die Erklärung dieser Vorgänge möchten wir in der Weise zu geben versuchen, als wir hier wohl den umgekehrten Fall, wie in unseren früheren Untersuchungen [III. und VI. Mitteilung (1)] vor uns haben, nämlich eine der in der zweiten Jahreshälfte (bzw. um etwa 1 bis 2 Monate verschobenen) vor sich gehenden Senkung entsprechende periodische Erhöhung des allgemeinen physiologischen Jodspiegels. Mehr darüber auszusprechen bzw. diese Tatsachen in irgend einem bestimmten Zusammenhang mit Brunstzeit, gesteigertem Wachstum und erhöhter Entwicklung zu bringen, dürften die bis jetzt vorhandenen Unterlagen und Erfahrungen wohl nicht erlauben.

Tabelle II.

Ausscheidung von Jod durch die Nieren in Gammaprozenten.

Datum		Tier 446 ohne Jod	Tier 479 1,53 mg Jod pro Tag ab 31. XII.	Tier 478 3,82 mg Jod pro Tag ab 31. XII.
29. XII. 1925	Harnjod in γ -Proz. .	6,0	1,2	1,5
4. I. 1926	Harnjod in γ -Proz. .	5,0	—	10,5
8. I.	" " " "	4,5	—	—
18. I.	" " " "	6,0	17,0	17,0
18. I.	Harnmenge von 6 ^h vorm. bis 6 ^h nachm. in kg am 18. I. 1926	9,4	6,9	7,4
18. I.	Jodmenge in γ -Proz. ausgeschieden von 6 ^h vorm. bis 6 ^h nachm. am 18. I. 1926	564	1173	1258

Die Tabelle II bringt die Ergebnisse einiger Harnuntersuchungen. Die Tiere Nr. 479 und 478 zeigten vor Beginn des Versuchs eine merklich niedrigere Ausscheidung als Tier Nr. 446. Ob dies typisch oder nur vorübergehend war, konnte wegen des einsetzenden Versuchs nicht mehr festgestellt werden. Das Bild änderte sich jedoch als Folge der Versuchsfütterung. Gegenüber dem Kontrolltier erhöhte sich die Jodausscheidung durch den Harn bei den mit Jod gefütterten Tieren ganz bedeutend; es war, wie aus der Tabelle II ersichtlich, eine beträchtliche Menge des künstlich zugeführten Jods schon innerhalb 12 Stunden wieder ausgeschieden worden. Tier Nr. 446 ist, wie oben, Kontrolle, Tier Nr. 479 und 478 erhielten 1,53 mg bzw. 3,82 mg J täglich. Bei Tier Nr. 478 ergaben sich für die Jodausscheidung Zahlen, die niedriger sind, als zu erwarten gewesen wäre; vielleicht hat dies seine Ursache in einer höheren Jodspeicherung bei diesem Tier.

b) Die Gruppen der Normal- und Versuchstiere.

Drei Gruppen zu je acht Tieren, ausgewählt und eingeteilt wie unter a) erwähnt, bildeten hierbei das Versuchsmaterial. Gruppe I war Kontrollgruppe, von Gruppe II und III erhielt jedes Tier täglich 1,53 bzw. 3,82 mg J. Es bestand hier jedoch nicht die Möglichkeit, die Beobachtungszeit auf die gleiche Zeitdauer, wie dies bei den Einzeltierbeobachtungen geschah, auszudehnen. Die in den ersten beiden Monaten dort beobachteten Vorgänge waren auch hier zu sehen (s. Abb. 1b). Es heben sich die Jodspiegelkurven der Mischmilch der verschiedenen Gruppen gemäß den Versuchsbedingungen voneinander ab. Während Gruppe III anfänglich die niedrigste Jodierung zeigt, übersteigt sie in kurzer Zeit nach Eintritt der Versuchsbedingungen diejenige der beiden anderen Gruppen. Die Gruppen I und II tauschen, wie in Abb. 1b ersichtlich ist, ihre Höhen gegenseitig unter dem Einfluß der Versuchsfütterung (soweit die Veränderung Gruppe II betrifft) und behalten den so erreichten Abstand während der Beobachtungszeit. Der Milchjodspiegel der Gruppe der Normaltiere konnte etwas ausgedehnter Untersuchung unterzogen werden, und hier ist wiederum im Laufe des zweiten Jahresmonats eine bedeutende Hebung der Jodkurve zu sehen, die sich jedoch nicht so sprunghaft änderte

wie beim Normaltier in Abb. 1a, weil sie eben durch die Vermengung der Sekrete einer größeren Anzahl von Individuen ausgeglichener war.

In Tabelle III sind die Zahlenangaben verzeichnet, die der Abb. 1 b zugrunde liegen.

Tabelle III.

Milchjodspiegel der Mischmilch einer Kontrollgruppe und zweier Versuchsgruppen zu je acht Tieren.

Jodgehalt in Gammaprozenten.

Datum	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
1925			
29. XII.	5.0	3.5	2.0
31. XII.	3.7	5.0	2.3
1926			
8. I.	—	5.0	4.2
13. I.	4.0	—	—
18. I.	—	5.8	6.0
29. I.	—	—	5.3
9. II.	3.3	—	7.0
18. II.	6.0	—	—
3. III.	7.3	—	—
11. III.	6.6	—	—

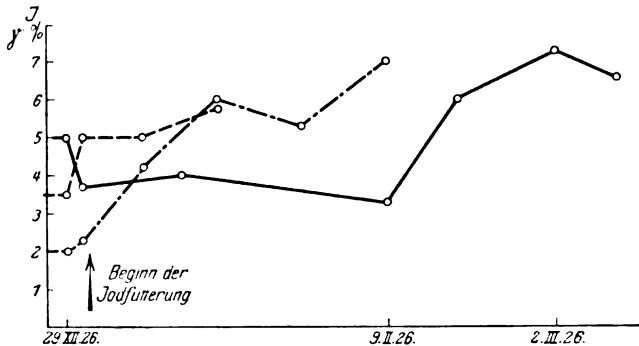


Abb. 1b.

Milchjodspiegel der Mischmilch einer Kontroll- und zweier Versuchsgruppen zu je acht Tieren.

— Normal. - - - - 1.53 mg J per os p. d. - · - · 3.82 mg J per os p. d.

2. Höhere Joddosen.

Mit täglicher peroraler Jodzufuhr von 76,45 mg wurde ein Versuch mit zehn Tieren als Kontrollgruppe und zehn Tieren als Versuchsgruppe durchgeführt, welcher am 15. Februar 1926 begann und bis zum 23. März 1926 dauerte. Der aus dieser Behandlung resultierende Milchjodspiegel wurde je bei der Mischmilch der Kontroll- und Versuchsgruppe während dieser Zeitdauer durch Untersuchungen festgestellt; außerdem wurde der Versuch an einem Einzeltier der Versuchsgruppe auf die Dauer von insgesamt etwa 4 Monaten ausgedehnt. Die hierbei gemachten Beobachtungen sind in Abb. 2 dargestellt, die zahlenmäßigen Ergebnisse bringt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Jodgehalt der Milch einer Kontrollgruppe (Mischmilch) zu zehn Tieren, eines Versuchstieres und einer Versuchsgruppe (Mischmilch) zu zehn Tieren in Gammaprozenten.

Datum 1926	Kontrollgruppe ohne Jod	Versuchsgruppe 76,45 mg Jod pro Tag	Versuchstier 76,45 mg Jod pro Tag
9. II.	3.3	—	—
13. II.	—	6.3	4.0
18. II.	6.0	65.0	35.0
25. II.	—	—	44.0
3. III.	7.3	71.0	13.0
11. III.	6.6	80.0	19.0
16. III.	—	—	22.0
24. III.	—	—	56.0
9. IV.	—	—	50.0
16. IV.	—	—	50.0
28. IV.	—	—	68.0
4. V.	—	—	55.0
26. V.	—	—	56.0

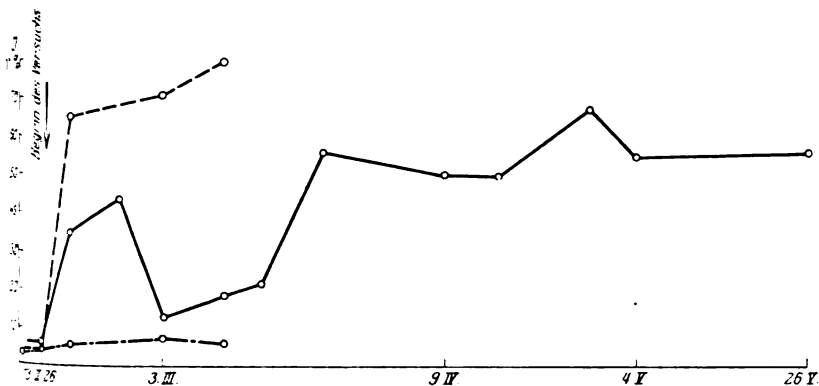


Abb. 2.

Verlauf der Jodierung der Milch einer Kontrollgruppe (Mischmilch) zu 10 Tieren, eines Versuchstieres und einer Versuchsgruppe (Mischmilch) zu 10 Tieren.

--- Normal. — Einzeltier 76,45 mg J per os p. d. - - - - Mischmilch 76,45 mg J per os p. d.

Es hatte hier wiederum die Verabreichung einer beträchtlichen Jodosis eine erhebliche Steigerung der Milchjodierung zur Folge. Sie erreicht eine etwa zehnfache Höhe der normalen. Wir hatten früher (3) während eines Versuchs an Ziegen täglich 120 mg J verabreicht und dabei im großen Durchschnitt eine Milchjodierung von etwa 1000 γ -Proz. erhalten. Der vorliegende Versuch hatte durch Verabreichung von 76,45 mg J täglich zu Kühen einen Milchjodgehalt von etwa 60 γ -Proz. zur Folge. Da diese Zahl, bezogen auf die absolut zugeführte Jodmenge, etwa ein Zehntel der beim Ziegenversuch erhaltenen Jodierung bedeutet, umgekehrt das Gewicht der Versuchstiere durchschnittlich etwa das Zehnfache betrug, so war also der für die Milchjodierung von Ziege und Kuh benutzte Anteil relativ, bezogen auf die Körpergewichtseinheit, in engen Grenzen derselbe. Wie in

der VII. Mitteilung (4) berichtet wurde, hatte diese Jodbehandlung einen merklichen, anregenden Einfluß auf die Milchabsonderung ohne eine übermäßig hohe Jodierung der Milch zur Folge.

Zusammenfassung.

1. Bei der über einen längeren Zeitabschnitt sich erstreckenden Untersuchung der Milch einer größeren Anzahl normal gehaltener Kühe konnte in keinem Falle Jodlosigkeit festgestellt werden. Der Jodgehalt ist unter gleichen Bedingungen merklich höher als bei Ziegen gefunden worden.

2. Was die Höhe der Jodierung betrifft, so hatte eine gleiche Jodzufuhr (außer der natürlichen) bei Kühen mit zehnfach höherem Einzelgewicht gegenüber Ziegen eine zehnfach geringere prozentische Jodierung der Milch zur Folge.

3. Wenn die früher gemachte Beobachtung einer Senkung des Milchjodspiegels bei Ziegen in der zweiten Hälfte des Jahres (beginnend Juli/August) irgend Anspruch auf Verallgemeinerung machen darf, so mußte das Gegenstück, eine Hebung in der ersten Jahreshälfte, gezeigt werden können. Diese Tatsache war nun auf Grund einer längeren Beobachtung bei Kühen festzustellen. Diese Vorgänge mit periodischen physiologischen Vorgängen in mehr oder weniger theoretischen Zusammenhang zu bringen, möchten wir vorläufig ablehnen.

4. Wie bei unseren früheren Versuchen, konnte auch hier wieder beobachtet werden, daß eine beträchtliche Menge des peroral zugeführten Jods schon innerhalb kurzer Zeit durch den Harn wieder ausgeschieden wurde.

Literatur.

- 1) Diese Zeitschr. 170, 300, 1926; 180, 307, 1927. — 2) Ebendasselbst 180, 313, 1927, VII. Mitteilung. — 3) Ebendasselbst 170, 300, 1926. — 4) Ebendasselbst 180, 313, 1927.

Über das Verhalten von Zuckerarten in verdünnt alkalischer Lösung.

II. Mitteilung:

Das Verhalten von Glucose KOH und NaOH gegenüber¹⁾.

Von
J. Groot.

(Aus dem Laboratorium für chemische Technologie der Technischen
Hochschule Delft.)

(Eingegangen am 14. November 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

1.

Bei der Untersuchung der Glucoserotationen in wässrigen Kaliumhydroxydlösungen gerieten wir zu der Vorstellung, daß das Kalium in das Zuckermolekül tritt und ein Glucosäure bildet, welches in der Lösung unbeständig ist. Das so gebildete Kaliumglucosäure geht spontan in andere zuckerartige Verbindungen über, während die Flüssigkeit ihre Drehung verliert. Dieser Übergang erfordert eine gewisse Zeit und ist mutmaßlich Tautomerisationen zu verdanken. Es herrscht die Auffassung, daß eine allmähliche Enolisierung unter Weiterbildung von Aldosen und Ketosen auftritt.

2. Der Einfluß der Temperatur auf die Umlagerungsgeschwindigkeit bei Anwesenheit von KOH.

Bis jetzt war bei 25° C gearbeitet worden. Bei zwei anderen Temperaturen wurden maximale Umlagerungskonstanten gefunden, welche mit der Bildung einer Monokaliumverbindung der Glucose im Einklang sind. J. K. van der Zwet hat nämlich bei 21,0 und 29,0° C die Umlagerungen verfolgt, und was ihren Verlauf mit der KOH-Konzentration betrifft, entsprachen die Geschwindigkeiten den Erwartungen (Tabelle VIII und Abb. 7).

¹⁾ Für I. Mitteilung siehe diese Zeitschr. 146, 72, 1924.

Tabelle VIII.

Geschwindigkeitskonstanten für eine $m/2$ Glucosekonzentration bei verschiedenen Temperaturen.

KOH-Konz.	K bei 21,0°	K bei 25,0°	K bei 29,0°	KOH-Konz.	K bei 21,0°	K bei 25,0°	K bei 29,0°
0,05 n	—	1,3	2,0	0,75 n	7,4	12,9	22,8
0,10 n	1,3	2,4	4,9	0,80 n	7,3	12,8	22,6
0,15 n	2,0	3,9	7,3	0,85 n	7,1	—	22,5
0,20 n	2,8	5,2	9,2	0,90 n	6,8	12,7	22,4
0,25 n	3,5	—	12,0	0,95 n	6,7	—	22,1
0,30 n	4,3	7,8	14,2	1,00 n	6,9	12,2	22,0
0,35 n	4,9	8,8	16,6	1,125 n	6,4	—	21,8
0,40 n	5,6	—	18,5	1,25 n	6,1	11,7	—
0,45 n	6,2	11,0	20,0	1,375 n	6,1	—	—
0,50 n	6,8	11,8	21,4	1,50 n	5,9	10,7	20,6
0,55 n	7,1	12,4	22,6	1,625 n	5,5	—	—
0,60 n	7,5	—	22,6	1,75 n	5,4	9,9	—
0,65 n	7,4	12,8	23,0	1,875 n	5,3	—	—
0,70 n	7,2	12,9	22,8	2,00 n	5,2	9,5	19,3

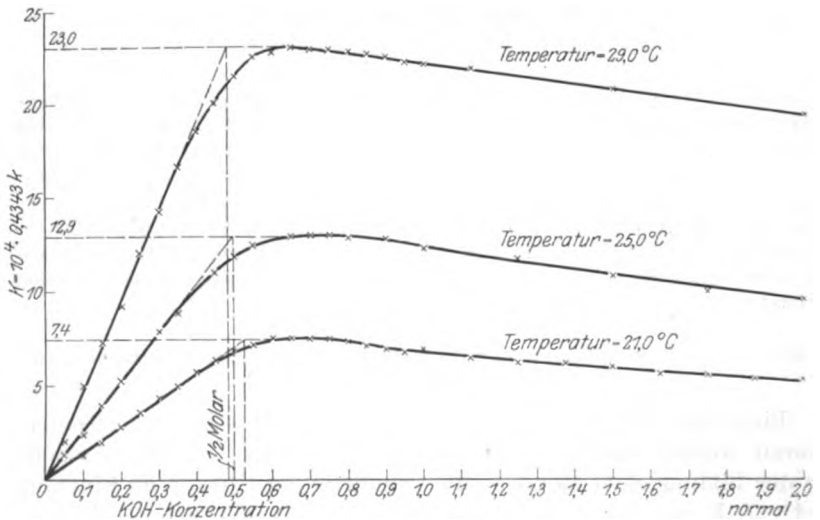


Abb. 7.

Anderung von K mit der KOH-Konzentration für $m/2$ Glucoselösungen bei verschiedenen Temperaturen.

Aus diesen neuen Daten läßt sich der Temperaturkoeffizient der Reaktionsgeschwindigkeit (d. h. der Temperaturkoeffizient von K)

ableiten. Zu diesem Zwecke müssen K_{20^0} und K_{21^0} für dieselbe Konzentration an Glucose und KOH oder, was auf eins herauskommt, K_{\max} bei 20^0 und 21^0 (am besten für dieselbe Glucosekonzentration) betrachtet werden. Letztere war bei den Messungen $m/2$ und man

findet $\frac{K_{\max}^{20^0}}{K_{\max}^{21^0}} = \frac{23,0}{7,4} = 3,11$. Drückt man den Temperatureinfluß

in der Form $\frac{K_{t+10}}{K_t}$ aus, so erhält man als Koeffizient 4,13, einen ziemlich hohen Wert¹⁾. Für K_{\max} bei 25^0 berechnet man 13,05, während ich früher 12,9 fand. Und wenn man sich fragt, welchen Einfluß eine Temperaturdifferenz von $0,1^0$ C auf das gemessene K haben muß, so stellt es sich heraus, daß dieser 1,4 Proz. seines Wertes beträgt. Wenigstens gilt das Gesagte für Konzentrationsgebiete, welche mit den geradlinigen Anfangsteilen der Kurven übereinstimmen, und für solche, wobei das K maximal ist.

3. Die Rotationserniedrigung von Glucose durch NaOH.

Es zeigt sich, daß diese dieselbe ist, wie für KOH gefunden wurde, und vielleicht läge in dieser Tatsache ein neuer Beweis für die Auffassung, daß die Wirkung des Hydroxyds eine Ringspaltung ist, die als solche eine Erniedrigung von $\frac{2}{9}$ der Drehung des Glucosemoleküls

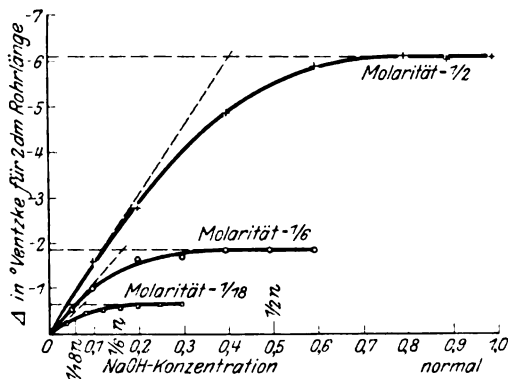


Abb. 8.

Änderung von Δ mit der NaOH-Konzentration für verschiedene Glucosekonzentrationen. (Rohrlänge = 200,0 mm; Zimmertemperatur; Δ sei im allgemeinen die Rotationsänderung.)

verursacht. Die Rotationsänderung Δ (früher ist die Rotationserniedrigung so bezeichnet worden, aber es ist mehr angebracht, bei Verkleinerung des Drehungsvermögens dem Zahlenwert von Δ das negative

¹⁾ Vgl. J. H. van 't Hoff, Vorlesungen I, S. 224. Braunschweig 1901.

Zeichen zu geben) wurde für m/6 und m/2 Glucoselösungen untersucht und untenstehende Ergebnisse (*Tabelle IX, Abb. 8*) können sofort mit den früheren, welche wir mit KOH bekamen (*Tabelle III, Abb. 2*), verglichen werden. Es wurde Natriumhydroxyd reinst aus Natrium von *E. Merck* verwendet. Auch jetzt ist die Maximaländerung etwa $\frac{2}{9}$ der Drehung freier Glucose.

Tabelle IX.

Anfangsrotationen und Rotationsänderungen für NaOH enthaltende Glucoselösungen (Rohrlänge = 200,0 mm; Zimmertemperatur).

NaOH-Konz.	m/18 Glucose		m/6 Glucose		m/2 Glucose	
	r_0	Δ	r_0	Δ	r_0	Δ
0 n	2,975	0	9,1	0	27,5	0
0,039 n	2,75	-0,225	—	—	—	—
0,049 n	—	—	8,55	-0,55	—	—
0,079 n	2,525	-0,45	—	—	—	—
0,098 n	—	—	8,1	-1,0	25,9	-1,6
0,118 n	2,45	-0,525	—	—	—	—
0,157 n	2,4	-0,575	—	—	—	—
0,197 n	2,35	-0,625	7,45	-1,65	24,7	-2,8
0,246 n	2,325	-0,65	—	—	—	—
0,295 n	2,325	-0,65	7,4	-1,7	—	—
0,393 n	—	—	7,25	-1,85	22,65	-4,85
0,492 n	—	—	7,25	-1,85	—	—
0,590 n	—	—	7,25	-1,85	21,6	-5,9
0,786 n	—	—	—	—	21,35	-6,15
0,885 n	—	—	—	—	21,45	-6,05
0,983 n	—	—	—	—	21,4	-6,1

Zugleich sind Messungen verrichtet worden für eine m/18 Glucoselösung, und da für eine solche Lösung die Rotationen gering sind, wurde in 4 dm langen Rohren (400,0 mm) experimentiert, obschon ich die Resultate auf eine Rohrlänge von 200,0 mm beziehe.

4. Die Umlagerungskonstanten von Glucose bei Anwesenheit von NaOH.

In der *Tabelle X* und *Abb. 9* sind die Ergebnisse zusammengestellt worden, welche beim Messen der Umlagerungsgeschwindigkeiten erhalten sind. Sie sind denen, die ich beim Arbeiten mit KOH bekam, gleich. Allein wurde diesmal auch mit einer m/18 Glucoselösung experimentiert.

Tabelle X.

Geschwindigkeitskonstanten für drei verschiedene Glucosekonzentrationen bei wechselndem NaOH-Gehalt (Versuchstemperatur = 25,0° C).

NaOH-Konzentration	K' für m/18 Glucose			K' für m/6 Glucose	K' für m/2 Glucose
0.049 (15) n	7.1	6.9	6.6	3.2	—
0.074	—	—	—	5.1	—
0.098	10.0	—	—	6.4	2.5
0.197	11.9	—	—	11.1	5.1
0.295	12.3	—	—	12.1	7.5
0.393	12.4	—	—	12.0	9.8
0.442	12.4	—	—	—	—
0.492	12.1	—	—	12.4	11.4
0.590	—	—	—	12.4	12.4
0.688	—	—	—	11.6	12.9
0.786	—	—	—	11.3	12.7
0.885	—	—	—	11.0	12.2
0.983	—	—	—	—	11.9

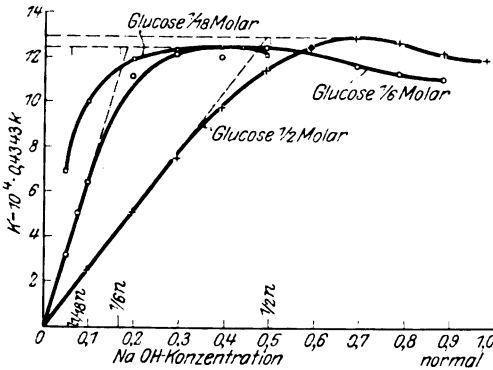


Abb. 9.

Änderung von K' mit der NaOH-Konzentration für Glucoselösungen, welche bzw. $\frac{1}{18}$, $\frac{1}{6}$ und $\frac{1}{2}$ molar sind (Versuchstemperatur 25,0° C).

5. Die Hydrolyse des Glucosats als Ursache der Abbiegung der Geschwindigkeitskurven vom ursprünglich gradlinigen Verlauf.

Schon früher¹⁾ habe ich diese Abbiegung der Tatsache zugeschrieben, daß das Alkaliglucosats einer hydrolytischen Spaltung ausgesetzt ist, während überschüssige Glucose oder aber überschüssiges Hydroxyd die sonst starke Hydrolyse zurückdrängen. Falls dies wirklich die

1) Vgl. diese Zeitschr. 146, 89, 1924.

Erklärung ist, muß man aus den gefundenen K -Werten die Hydrolysenkonstante des Glucosats, wie auch die Dissoziationskonstante von Glucose berechnen können. Während nämlich in den Fällen, wo man K_{\max} findet, die Glucosatkonzentration in der Lösung der totalen Glucosekonzentration gleich ist, muß die Glucosatkonzentration im Falle einer willkürlichen Reaktionskonstante $\frac{K}{K_{\max}} \times \text{Totalglucosekonzentration}$ gleich sein.

Wenn nun für eine Lösung, wovon man stets die Totalglucosekonzentration und die Totallaugekonzentration kennt, die Glucosatkonzentration bekannt ist, findet man die Hydrolysenkonstante aus:

$$K_{\text{Hydrolyse}} = \frac{[\text{freie Glucose}] \times [\text{freies Alkalihydroxyd}]}{[\text{Monoalkaliglucosät}]} \quad (\text{a})$$

und die Dissoziationskonstante der Glucose aus:

$$K_{\text{Hydrolyse}} = \frac{K_{\text{Wasser}}}{K_{\text{Glucose}}} \quad (\text{b})$$

Nun sind im allgemeinen meine Glucoselösungen zu konzentriert und ist deswegen der Einfluß der Hydrolyse zu gering, um, indem man von den gemessenen Reaktionskonstanten ausgeht, die Berechnungen ordentlich ausführen zu können. Der günstigste Berechnungsfall, der sich in meinen Daten finden läßt, ist der der m/18 Glucoselösung, worin die NaOH-Konzentration 0,04915 n ist. Für drei verschiedene Mischungen ist für die Geschwindigkeitskonstante gefunden worden 7,1, 6,9, 6,6, während K_{\max} 12,4 beträgt.

Man berechnet aus (a): $K_{\text{Hydrolyse}} = 0,0129, 0,0145, 0,0172$ und $K_{\text{Glucose}} = 9,8 \cdot 10^{-13}, 8,8 \cdot 10^{-13}, 7,4 \cdot 10^{-13}$, d. h. im Mittel $K_{\text{Hydrolyse}} = 0,0149$ und $K_{\text{Glucose}} = 8,5 \cdot 10^{-13}$. Diese Werte gelten bei einer Temperatur von 25° C, indem für K_{Wasser} der Wert $1,27 \cdot 10^{-14}$ genommen wurde¹⁾.

Nimmt man den unten gefundenen Wert $K_{\text{Wasser}} = 10^{-13,87}$, so wird $K_{\text{Glucose}} = 9,05 \cdot 10^{-13}$.

Die exakte Bestimmung von K_{Glucose} ist mittels der Wasserstoffgaskettenmethode von *Michaelis* und *Rona* verrichtet worden²⁾. Es wurde von ihnen ein Wert $6,6 \cdot 10^{-13}$ bei 18° C festgestellt. Nach dem Vorbild dieser Autoren³⁾ habe ich die elektrometrische Bestimmung bei 25° C ausgeführt und $K_{\text{Glucose}} = 8,6 \cdot 10^{-13}$ gefunden.

¹⁾ *L. Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration I, S. 23. Berlin 1922.

²⁾ *L. Michaelis* und *P. Rona*, diese Zeitschr. 49, 247 und 248, 1913.

³⁾ *L. Michaelis* und *P. Rona*, Ber. 46, 3683ff., 1913; vgl. auch diese Zeitschr. 49, 232ff., 1913.

Die polarimetrische Bestimmungsmethode für die Hydrolysenkonstante und für die Dissoziationskonstante der Glucose scheint mir geeignet, um namentlich bei höheren Temperaturen, wo die Gaskettenanordnung nicht ohne Schwierigkeiten ist, die Größen kennenzulernen.

Über die potentiometrische Messung der Dissoziationskonstante sei folgendes mitgeteilt. Die Glucose und das Natriumhydroxyd, welche verwendet wurden, waren die schon genannte Glucose R. A. L. (*Kuhlmann*) und Natrium hydricum puriss. e Natrio pro analysi (*Merck*). In dem von mir benutzten Wasser wurde Lackmus violettstichig blau gefärbt; eine Auflösung der Glucose in diesem Wasser zeigte mit Lackmus dieselbe Farbe. Das p_H der Flüssigkeiten wurde in der von *Harned*¹⁾ angegebenen Apparatur gemessen; nur war die Elektrode in meinem Falle ein platinierter Platindraht, der von aus Zink und Schwefelsäure bereitetem, gewaschenem Wasserstoff umspült wurde. Der Apparat wurde auf einer Temperatur von 25° C gehalten, indem er sich im Wasser eines Thermostaten befand. Die Berechnung der Größe der Dissoziationskonstante geht aus der bezüglichen Formel

$$K_{\text{Glucose}} = \frac{[\text{Gluc}'][\text{H}']}{\text{Gesamtglucose} - \frac{1}{\gamma} [\text{Gluc}']}$$

hervor, wobei $[\text{H}']$ gemessen wird und $[\text{Gluc}']$ der mit $\Delta[\text{OH}']$ bezeichneten Differenz der Hydroxylionenkonzentrationen in zuckerfreier und zuckerhaltiger Lauge gleichgestellt wird. Weiter stellt γ den Dissoziationsgrad des Glucosenatriums vor. Für Einzelheiten wird auf die bezügliche Literatur verwiesen. Es mögen übrigens die *Tabellen XI* und *XII* genügen. Vollständigkeitshalber sei noch bemerkt, wie die hydroxydhaltigen Glucoselösungen während der Messung eine so kleine Veränderung der optischen Aktivität erlitten, daß das p_H , nachdem es einmal konstant befunden wurde, der Dissoziationskonstante des in Rede stehenden Zuckers, der Glucose, zugrunde gelegt werden darf.

Legt man die Größe $8,6 \cdot 10^{-13}$ für die Dissoziationskonstante der Glucose und also [vgl. Formel (b)] 0,0157 für die Hydrolysenkonstante bei 25° C den Berechnungen des Prozentsatzes von Glucosat auf die Totalmenge der Glucose in den Experimentierflüssigkeiten zugrunde, so muß dieser Prozentsatz mit dem des K_{max} , der für die Reaktionskonstanten der bezüglichen Flüssigkeiten gefunden ist, übereinstimmen.

Um die Normalität x des Glucosats in verschiedenen Lösungen mit bekannten Normalitäten der Glucose und des Alkalihydroxyds zu berechnen, schreibt man die oben schon genannte Formel (a) für $K_{\text{Hydrolyse}}^{756}$ wie folgt:

$$0,0157 = \frac{(n_{\text{Glucose}} - x)(n_{\text{Alkali}} - x)}{x}$$

¹⁾ *H. S. Harned*, Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, vgl. S. 2463 bis 2465 mit der Abb. auf S. 2464, 1915.

Tabelle XI.

Die Messung des p_H KCl-haltender NaOH-Lösungen und die Bestimmung der Dissoziationskonstante des Wassers bei 25°.

Nr.	Konzentration des NaOH	[OH ⁻] in der Flüssigkeit, berechnet unter der Annahme von Michaelis und Zonde, der Dissoziationsgrad γ sei der des Kaliumchlorids	p_{OH} in der gegebenen Weise berechnet	Temperatur der Flüssigkeit	EMK Volts gegen n-Kalomelektrode	p_H gefunden	$p_{OH} + p_H = -\log K_{H_2O}$	$K_{H_2O} \times 10^{14}$
1	0,009 715 } 0,019 43 } 0,019 43 }	0,008 549 } 0,008 549 } 0,008 549 }	2,07 2,07 2,07	25,1 25,1 25,0	0,9824 0,9824 0,9818	11,80 11,80 11,79	13,87 13,87 13,86	1,35 1,35 1,38
5	0,019 43 } 0,019 43 } 0,019 43 }	0,016 13 } 0,016 13 } 0,016 13 }	1,79 1,79 1,79	25,0 25,1 24,9	0,9994 0,9993 0,9994	12,09 12,09 12,09	13,88 13,88 13,88	1,32 1,32 1,32
						Mittel:	13,87	1,35

Tabelle XII.

Die Messung des p_H von wässrigen NaOH-Glucose-Mischungen und die Bestimmung der Dissoziationskonstante der Glucose bei 25°.

Nr.	Konzentration des NaOH	$\frac{[OH^-]}{[H_2O]}$ Dissoziationsgrad γ	[OH ⁻] in der Flüssigkeit ohne Glucose (berechnet)	Konzentration der Glucose	Temperatur der Flüssigkeit	EMK Volts gegen n-Kalomelektrode	p_H	p_{OH}	[OH ⁻] bei Glucoseanwesenheit	Δp_{OH} Diff. von [OH ⁻] in zuckerfreier u. zuckerhaltiger Flüssigkeit	$K_{Glucose} \cdot 10^{13}$ $\gamma = \text{Dissoziationsgrad des Glucose-Natriums}$
1	0,009 715 } 0,009 715 } 0,019 43 } 0,019 43 }	0,88 0,88 0,83 0,83	0,008 549 0,008 549 0,016 13 0,016 13	0,2 0,3 0,2 0,4	25,0 25,1 25,0 25,0	0,9178 0,9061 0,9368 0,9140	10,71 10,52 11,02 10,66	3,16 3,35 2,85 3,21	0,000 691 8 0,000 446 7 0,001 413 0,000 616 6	7,857 · 10 ⁻³ 8,102 · 10 ⁻³ 1,472 · 10 ⁻² 1,551 · 10 ⁻²	8,0 8,4 7,6 8,8
							Mittel:	$K_{Glucose}$			8,6 · 10 ⁻³

Wie weit diese Übereinstimmung geht, zeigt die *Tabelle XIII*. Die polarimetrische Bestimmungsweise von K_{Glucose} wird zur Lieferung etwas zu hoher Werte hinneigen.

6.

Von früheren Untersuchern wurde schon für sehr verdünnte Lösungen an Zucker und für ebenfalls sehr verdünnte Laugen dargelegt, daß die allmähliche Inaktivierung verläuft, ohne daß der Zuckercharakter der sich unlagern den Verbindungen sich ändert. Dies ging aus der Permanenz des Reduktionsvermögens hervor¹⁾.

Stützend auf die Ergebnisse eigener Arbeit, welche jetzt durch die neuen Feststellungen bestätigt wurden, meinte ich zur Erklärung der in einer alkalischen Glucoselösung stattfindenden chemischen Reaktionen einen Schritt weiter gehen zu dürfen mit der Auffassung, daß die Bildung eines labilen Glucosats die Ursache der Änderungen ist. Während ich also durch das Auffinden des eigenartigen Verlaufs der Inaktivationskurve mit der Laugekonzentration auf Glucosatsbildung schloß, war die letztere von anderen auf andere Weise festgestellt worden. In den unten angegebenen Literaturstellen²⁾ handelt es sich nämlich um die Säurenatur der Glucose, wie sie hervorgeht aus dem Einfluß dieses Zuckers auf die esterverseifende Wirkung, die Leitfähigkeit oder das p_H einer Alkali-hydroxydlösung. Bei meinem Erklärungsversuch vertrat ich eine andere Meinung als andere Untersucher, die sich gleichfalls eine solche Aufgabe gestellt hatten.

Michaelis und *Rona*³⁾ maßen die Geschwindigkeit der Drehungsabnahme und fanden, daß für etwa 5proz. Glucoselösungen, worin sich wenig Hydroxyd befand, nämlich bis $[OH']$ noch nicht = 0,01 n, „die Geschwindigkeit der Umwandlung der Glucose durch Alkali der Hydroxylionenkonzentration proportional oder der Wasserstoffionenkonzentration umgekehrt proportional ist“. Schließlich wird konkludiert, „daß die Ionen des Zuckers einer spontanen Umwandlung unterliegen und daß die Wirkung der alkalischen Reaktion einfach darauf beruht, daß sie nach dem Massenwirkungsgesetz einen bestimmten Teil des Zuckers in Ionen umwandelt“. Die Konklusion beruht auf der Tatsache, daß „bei gegebener Zuckermenge die Menge der Zuckerionen der Wasserstoffionenkonzentration umgekehrt proportional ist“. Mit vollem Recht hätten sie die Schlußfolgerung für ihre ganz verdünnten alkalischen Flüssigkeiten ziehen dürfen. Nicht aber unter allen Umständen ist die Zuckerionenkonzentration $[G']$ der Wasserstoffionenkonzentration $[H']$ umgekehrt proportional. Dann nämlich nicht, wenn viele Glucoseionen in der Lösung anwesend sind.

¹⁾ *A. Jolles*, diese Zeitschr. **29**, 167, 1910; *L. Michaelis* und *P. Rona*, ebendasselbst **23**, 365 bis 366, 1910; **47**, 447 bis 449, 1912. Vgl. auch *H. Murschhauser*, ebendasselbst **97**, 104 bis 105, 1919.

²⁾ *E. Cohen*, Versl. Kon. Akad. A'dam **8**, 728ff., 1900; Zeitschr. f. physik. Chem. **37**, 69ff., 1901; *Th. Madsen*, ebendasselbst **36**, 296ff., 1901; *C. W. R. Powell*, Journ. Chem. Soc. **107**, 1335 bis 1338, 1915; vgl. auch *Y. Osaka*, Zeitschr. f. physik. Chem. **35**, 673ff., 1900; *H. Euler*, Ber. **39**, 344ff., 1906; *L. Michaelis* und *P. Rona*, diese Zeitschr. **49**, 232 bis 248, 1913.

³⁾ *L. Michaelis* und *P. Rona*, diese Zeitschr. **47**, 447 bis 461, 1912.

Tabelle XIII.

Vergleich der bei 25.0° gefundenen Geschwindigkeitskonstante (siehe Tabelle VII) mit dem aus der Hydrolysenkonstante berechneten Prozentsatz an Glucosät.

KOH-Konz.	$\frac{1}{6}$ mol. Glucose = 0,1667 n			$\frac{1}{3}$ mol. Glucose = 0,3333 n			$\frac{1}{2}$ mol. Glucose = 0,5000 n			$\frac{2}{3}$ mol. Glucose = 0,6667 n		
	Konz. des Glucosäts	Proz. Glucosät zur Gesamt-glucose	$\frac{K}{K_{\max}} \cdot 100$	Konz. des Glucosäts	Proz. Glucosät zur Gesamt-glucose	$\frac{K}{K_{\max}} \cdot 100$	Konz. des Glucosäts	Proz. Glucosät zur Gesamt-glucose	$\frac{K}{K_{\max}} \cdot 100$	Konz. des Glucosäts	Proz. Glucosät zur Gesamt-glucose	$\frac{K}{K_{\max}} \cdot 100$
0,05 n	0,0443 n	26,56	25,20	0,0473 n	14,19	14,06	0,0484 n	9,68	10,08	0,0487 n	7,30	6,98
0,10 n	0,0840 n	50,40	52,76	0,0939 n	28,18	28,91	0,0963 n	19,26	18,61	0,0972 n	14,57	14,73
0,15 n	0,1150 n	69,00	73,23	0,1387 n	41,63	43,75	0,1434 n	28,68	30,24	0,1456 n	21,84	22,48
0,20 n	0,1345 n	80,69	87,40	0,1812 n	54,38	57,03	0,1902 n	38,04	40,31	0,1902 n	28,52	29,45
0,25 n	0,1448 n	86,88	94,50	0,2195 n	65,86	68,76	—	—	—	0,2410 n	36,14	37,98
0,30 n	0,1508 n	90,44	99,22	0,2517 n	75,53	80,46	0,2799 n	55,98	60,46	0,2880 n	43,19	45,74
0,35 n	0,1543 n	92,55	99,22	0,2753 n	82,60	89,06	0,3215 n	64,30	68,22	0,3339 n	50,07	53,48
0,40 n	0,1566 n	93,96	100	0,2908 n	87,26	95,32	—	—	—	0,3793 n	56,87	62,01
0,45 n	0,1581 n	94,86	100	0,3015 n	90,46	96,87	0,3929 n	78,58	85,27	0,4227 n	63,39	68,22
0,50 n	0,1592 n	95,52	99,22	0,3083 n	92,51	100	0,4184 n	83,68	91,47	0,4643 n	69,63	76,74
0,55 n	—	—	—	0,3127 n	93,85	100	0,4386 n	87,72	96,12	0,5026 n	75,37	82,94
0,60 n	0,1608 n	96,45	96,85	0,3157 n	94,73	100	—	—	—	—	—	—
0,65 n	—	—	—	—	—	—	0,4612 n	92,24	99,22	0,5038 n	84,55	91,47
0,70 n	0,1621 n	97,25	95,28	0,3200 n	96,01	98,45	0,4683 n	93,66	100	0,5863 n	87,92	95,35
0,75 n	—	—	—	—	—	—	0,4732 n	94,64	100	0,6026 n	90,36	97,70
0,80 n	—	—	—	0,3225 n	96,79	98,76	0,4766 n	95,32	99,22	0,6147 n	92,19	99,22
0,85 n	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,6241 n	93,61	99,22
0,90 n	—	—	—	—	—	—	0,4816 n	96,32	98,45	0,6297 n	94,45	100
1 n	—	—	—	0,4851 n	—	—	0,4851 n	97,02	94,58	0,6390 n	95,83	98,45

Ist doch $[G'] \cdot [H']$ dann nicht mehr konstant für eine gegebene Zuckerkonzentration $[G]$, sondern

$$[G'] \cdot [H'] = k \left([G] - [G'] \right) = k' \left(1 - \frac{[G']}{[G]} \right),$$

woraus man sieht, daß in Lösungen mit mehr Alkali, d. h. mit mehr Glucoseionen die Umlagerungsgeschwindigkeit im Vergleich zu der Hydroxyl- oder Wasserstoffionenkonzentration zu klein ausfallen muß. Meine Versuche haben aber gelehrt, daß bei Übermaß von Glucose diese Geschwindigkeit der Menge KOH oder NaOH proportional ist, sodaß man schlechthin das salzartige Molekül und nicht speziell die Glucosationen ins Auge zu fassen hat. Im Anschluß hieran muß bemerkt werden, daß die späteren Auseinandersetzungen von *Michaelis*¹⁾ nicht richtig sein können.

*Powell*²⁾ hat bei genau 50° C die regelmäßige Ausdehnung von Mischungen von Glucose und Natriumhydroxyd in Wasser gemessen. Er nimmt schließlich an, daß diese Ausdehnung verläuft als eine Reaktion erster Ordnung in bezug auf die freie (nicht ans NaOH gebundene) Glucose. Er mißt die Dilatation in den ersten Minuten, nachdem die Flüssigkeit die gewünschte Temperatur angenommen hat, und berechnet

$$k = \frac{1}{c_{\text{freie Glucose}}} \cdot \frac{dv}{dt},$$

indem er für dv/dt die lineare Ausdehnung in der Kapillarröhre des Dilatometers pro Minute setzt. In dieser Weise findet er k -Werte (d. h. dv/dt -Werte für eine Konzentration an freier Glucose = 1), die mit der Konzentration an freiem (von Dextrose nicht gebundenem) NaOH größer oder kleiner werden. Seine Annahme, daß die Konzentration der freien Glucose die „decomposition“ bestimmt, steht meiner Auffassung gerade gegenüber. Aus seiner Verhandlung geht nicht hervor, welche Reaktion er eigentlich dilatometrisch hat verfolgen wollen; eher wäre jedoch an eine Umlagerung als an eine Zersetzung zu denken.

Bleyer und *Schmidt*³⁾ kamen zu der Schlußfolgerung, daß die Glucoseumlagerung über die β -Glucoseform vor sich gehen soll. Ihre experimentelle Stütze besteht aus Rotationsmessungen von Lösungen von Glucose (und von anderen Zuckern) in Natronlauge. Sie sind der Ansicht, daß die Rotation sich unter dem Einfluß von NaOH nach der der β -Form verschiebt. Wenn dem so wäre, würde man eine Minimalrotation mit $[\alpha]_D =$ etwa + 17,5 übereinstimmend finden müssen, während für eine rein wässrige Glucoselösung die Drehung mit $[\alpha]_D =$ etwa + 52,5 übereinkommt. Das Auffinden eines J_{max} stets = $\frac{2}{9}$ der ursprünglichen Drehung findet in der Annahme einer einfachen Gleichgewichtsverschiebung zugunsten der β -Glucose keine Erklärung, und außerdem war bei der Auffassung einer Glucosatbildung aus anderen Gründen die augenblicklich auftretende Rotationsänderung der Glucose bei der Zugabe von Alkalihydroxyd deutlich. Ich will diesen Artikel damit schließen, daß ich noch eine Abhandlung anführe, die im Zusammenhang mit meiner Auffassung über die *de Bruyn-van Ekensteinsche* Reaktion sicher genannt werden muß

¹⁾ *L. Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration I, S. 31. Berlin 1922.

²⁾ *C. W. R. Powell*, Journ. Chem. Soc. 107, 1339 bis 1346, 1915.

³⁾ *B. Bleyer* und *H. Schmidt*, diese Zeitschr. 141, 278 bis 286, 1923.

und die ich erst nachdem obiges geschrieben worden war zu Gesicht bekam. Es handelt sich um ein paar Bemerkungen von Euler¹⁾, welche, wenn sie nicht während der letzten Jahre vergessen wären, gewiß eine gute Arbeitshypothese hätten liefern können. Er findet die Bildung von Natriumglucosat aus der Größe der Gefrierpunktserniedrigung von Wasser bei gleichzeitiger Anwesenheit von NaOH und Glucose und behauptet, nachdem er auch einige Rotationen der Mischungen, welche aber keinen scharfen Anhaltspunkt bieten, genannt hat, folgendes: „Da in Glucose- bzw. Fructoselösungen, welchen äquivalente Mengen Natriumhydroxyd zugesetzt sind, der weitaus größte Teil der Hexosen als Ionen vorhanden ist, kommt bei Polarisationsmessungen in alkalischen Hexoselösungen die Drehung des Glucosat- bzw. Fructosations in erster Linie in Betracht. Besonders scheint mir beim Studium der chemischen Einwirkung von Natronlauge auf Hexosen das Auftreten der entsprechenden Natriumsalze als Zwischenprodukte beachtet werden zu müssen“. Ich lese hierin eine Vorhersagung der Resultate, welche ich bei meinen Versuchen erhielt und die mich zu einer dergleichen Auffassung geführt haben. Nur möchte ich, wie schon oben verdeutlicht ist, den Hinweis auf den Anteil der Ionisation in dieser Hinsicht streichen.

Ich möchte auch an dieser Stelle Herrn Prof. *Waterman* meinen verbindlichsten Dank sagen für die Durchsicht meiner Arbeit.

Berichtigungen.

In der ersten Mitteilung ist in Tabelle III auf S. 76 für Δ bei einer Glucosemolarität = $\frac{1}{3}$ und für KOH-Konzentrationen 0,50 bis 1 n bzw. 3,7, 3,7, 3,8, 3,7, 3,7, 3,7 zu lesen.

Auf S. 79 steht in der ersten Spalte der Tabelle IV $\frac{1}{2}$ mol. Glucose lösung. Dies soll 1 mol. heißen.

¹⁾ *H. Euler*, Ber. **39**, 349, 1906.

Die Entfärbung von Lichtgrün durch Serum von männlichen und weiblichen Menschen und Tieren.

Von

H. B. van Dyke (National Research Council) und A. Schürmeyer
(Rockefeller-Stiftung).

(Aus dem Pharmakologischen Institut zu Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 15. November 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Vor einigen Jahren veröffentlichte *Manoiloff* (1) eine Mitteilung, nach der es ihm gelungen ist, durch eine Reaktion des Blutes mit bestimmten Farbstoffen eine Geschlechtsbestimmung bei Menschen und Tieren auszuführen. Diese Bestimmung soll darauf beruhen, daß diese Farbstoffe durch männliches Blut oder Serum in kürzerer Zeit in ihre Leukoform übergeführt werden als durch weibliches.

Ssentjurin (2) hat nun in letzter Zeit die Versuche *Manoiloffs* mit bedeutend vereinfachter Methode aufgenommen und betrachtet es durch seine Resultate als erwiesen, daß eine Parallele zwischen Entfärbungskraft und Aktivität von bestimmten Drüsen mit innerer Sekretion bestehe. Er fand, daß Hodenextrakte oder auch die Durchströmungsflüssigkeit von Hoden Farbstoffe in viel kürzerer Zeit entfärben als Ovarialextrakte, die nach ihm praktisch überhaupt keine Entfärbungskraft besitzen. Von *Biedl* (3) sind die Versuche von *Manoiloff* und *Ssentjurin* nachgeprüft worden. Er glaubt im Gegensatz zu diesen beiden Autoren, daß das Charakteristische der Reaktion nicht in der Entfärbung durch das männliche, sondern in der Hemmung der Entfärbung durch das weibliche Blut bestehe. Auf Grund von Nachprüfungen, die *Biedl* mit den Optonen von Testis, Ovarien, Placenta, Corpus luteum und Thyroidea anstellte und die alle in gleicher Weise Entfärbung hervorriefen, mißt auch er dieser Reaktion zum Nachweis der Testicularsubstanz keinen großen Wert bei. Eine Arbeit von *Beckwith* (4) über die Entfärbung von Farbstoffen durch bestimmte Körpergewebe und Körperflüssigkeiten war uns leider nicht zugänglich.

Um nun den Ablauf und das Wesen dieser merkwürdigen Reaktion genauer kennenzulernen und zu verfolgen, haben auch wir Versuche

unternommen. Wir kamen dabei aber zu ganz anderen Resultaten. Im Verlauf unserer Untersuchungen erschien eine Arbeit von *Calisto* (5), wonach er an Meerschweinchen Versuche dieser Art genau nach den Vorschriften von *Manoiloff* unternommen hat aber feststellte, daß die Entfärbungsgeschwindigkeit nicht vom Geschlecht abhängt, sondern daß die Menge des Eiweißes bei der Reaktion von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Methodik.

Die methodischen Angaben von *Manoiloff* sind sehr wechselnd und ziemlich ungenau. Zunächst arbeitet er vielfach mit Farbstoffen — und er behauptet, daß es nur mit diesen Farben möglich sei, die Reaktion auszulösen —, die nicht mehr im Handel sind, und dann sind auch die Angaben über das Hinzufügen der einzelnen Reagenzien in sehr schwankenden Zahlen angegeben. *Ssentjurin* hat die Methode von *Manoiloff* sehr vereinfacht. Als günstigster Farbstoff für die Reaktion wird von ihm Lichtgrün angegeben. Da es verhältnismäßig schwierig ist, den Zeitpunkt der völligen Entfärbung zu bestimmen, hat er zum Vergleich eine bestimmte Standardlösung genommen. Wir haben uns an die Angaben von *Ssentjurin* gehalten; aber, um so genau wie möglich die Entfärbungszeit bestimmen zu können, nicht mit einer, sondern mit vier Testlösungen verglichen, die wie folgt zusammengesetzt sind:

	A ccm	B ccm	C ccm	D ccm
0,01 proz. Lichtgrün in H ₂ O	0,45	0,35	0,25	0,15
H ₂ O	4,00	4,10	4,20	4,30

Zu 3 ccm Wasser oder in Wasser verdünntem Serum wurden 0,5 ccm n/10 NaOH und 1,0 ccm einer 0,05 proz. Lichtgrünlösung in Wasser hinzugefügt. Die jeweiligen Zeiten wurden mit einer Stoppuhr vom Augenblick der Zugabe der Farbe zu der Lösung abgelesen, bis die Farbtiefe der einzelnen Kontrollröhren *A*, *B*, *C* und *D* erreicht war. Dem Beobachter war die Art des zugesetzten Serums unbekannt. Am Anfang und Ende eines jeden neuen Versuchs wurden Kontrollversuche mit Wasser, n/10 NaOH und 0,05 proz. Lichtgrün gemacht; es wurden dann alle Zeitbestimmungen auf eine gemeinsame Standardlösung umgerechnet. Das Serum von spontanem Blut wurde im Verhältnis von 1 : 20 mit Wasser verdünnt, um ein zu schnelles Ablaufen der Reaktion, wie es durch reines Serum geschieht, zu verhüten und auch die Eigenfarbe des Serums, die oft bei der Bestimmung störend ist, herabzusetzen. Mit jedem Serum wurden vier bis sechs Versuche gemacht, die im allgemeinen eine Fehlerbreite von 5 Proz. der Zeitwerte aufwiesen. Selten war die Fehlerbreite höher als 10 Proz. Die Röhren hatten alle den gleichen Durchmesser und wurden in einem schmalen Kasten, dessen vordere Seite mit einer Milchglasscheibe verschlossen war, verglichen.

Abb. 1 gibt das Ergebnis von Versuchen wieder, in denen der Einfluß der Konzentration eines Serums auf die Geschwindigkeit der Entfärbung von Lichtgrün bis zur Färbungsintensität der oben genannten vier Vergleichslösungen untersucht wurde. Der Verlauf

der Kurven zeigt, besonders deutlich der der Kurven B und C, daß die Geschwindigkeit der Entfärbung proportional der Serumkonzentration verläuft.

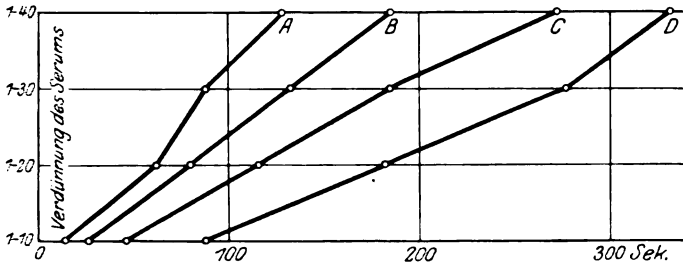


Abb. 1.

Versuche.

Die Resultate der Untersuchung von verschiedenen menschlichen Seren sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Die Entfärbungszeit (in Sekunden) für Lichtgrün durch menschliches Serum.

Nr.	Männlich		Nr.	Weiblich	
	Rohr B	Rohr C		Rohr B	Rohr C
Kontrolle	278	320	Kontrolle	278	320
1	61	89	1	60	87
2	75	113	2	98	139
3	86	115	3	70	109
4	91	125	4	75	113
5	75	111	5	77	124
6	82	120	6	77	110
7	80	117	7	80	119
8	65	96	8	75	126
9	72	116	9	102	133
10	106	135	10	64	86
11	75	104	11	79	119
12	75	108	12	102	155
13	62	84			
14	75	105			
15	90	126			
16	105	140			
Durchschnitt:	80	112		80	118

Reihe B zeigt die für das Standardrohr B nötige Entfärbungszeit. C für das Standardrohr C. Obschon große Unterschiede zwischen den einzelnen Individuen vorhanden sind, ist der Durchschnitt der Ent-

färbungszeit für männliches und weibliches Serum praktisch gleich. Das Stehenlassen über Nacht ändert die Entfärbungszeit nicht. Die Seren von einigen Menschen wurden wiederholt an verschiedenen Tagen untersucht, die Resultate zeigten, daß Schwankungen bis 40 Proz. vorkommen. Hämolyisiertes Blut wurde nicht benutzt.

In Tabelle II sind die Resultate von einigen Versuchen an verschiedenen Tieren beiderlei Geschlechts zusammengestellt. Die Unterschiede sind nicht groß genug, um irgend eine Bedeutung zu haben und eine Unterstützung für die Anschauungen von *Manoiloff* und *Ssentjurin* zu geben.

Tabelle II.

Die Entfärbungszeit (in Sekunden) für Lichtgrün durch Tierserum.

Nr.	Männlich		Nr.	Weiblich	
	Rohr B	Rohr C		Rohr B	Rohr C
Kaninchen					
1	110	180	1	92	143
2	116	167	2	108	147
3	99	129	3	99	125
Durchschnitt:	108	159		100	138
Ratte					
1	77	108	1	69	99
2	92	131	2	79	119
Durchschnitt:	84	119		74	109
Meerschweinchen					
1	109	133	1	77	103
2	106	158	2	98	130
Durchschnitt:	108	145		88	114
Kontrolle	78	320		278	320

Zusammenfassung.

Lichtgrün, wie *Ssentjurin* es empfohlen hat, wurde zur Untersuchung der Entfärbungskraft von männlichem und weiblichem Serum benutzt. Es konnten keine eindeutigen Unterschiede festgestellt werden. Unsere Versuche unterstützen nicht die Angaben von *Manoiloff* und *Ssentjurin*, daß männliches Serum schneller entfärbt als weibliches, sondern decken sich mit den Ergebnissen von *Calisto*.

Literatur.

- 1) *Manoiloff*, Münch. med. Wochenschr. 51, 1784, 1924. —
- 2) *Ssentjurin*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 48, 712, 1926. — 3) *A. Biedl*, Bethes Handb. f. norm. u. pathol. Physiol. 14, I, 376, 1926. — 4) *I. D. Beckwith*, Journ. of infect. dis. 28, 170; nach Ber. üb. d. ges. Physiol. 7, 159.

Über den Ca-Gehalt des Blutserums bei Mangel an Vitamin B.

Von
A. Ungar.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Debrecen.)

(Eingegangen am 16. November 1926.)

Ein charakteristisches Zeichen der B-Avitaminose, dem experimentellen Beriberi, sind die Krämpfe, die sich (neben Lähmungen) in den meisten Fällen zeigen. Besonders bei Hühnern und Tauben ist der Krampfsymptomenkomplex gut bekannt. Er äußert sich in tonischen Krämpfen der Rücken- und Halsmuskulatur, die den Kopf nach rückwärts ziehen, sowie in Streckkrämpfen der Beinmuskeln. Hess¹⁾ hat diese Krämpfe mit denen bei der Cyanvergiftung verglichen und sie auf den O₂-Mangel der Gewebe zurückgeführt, der bei beiden die gleichen Symptome erklären soll. Nachdem bei der B-Avitaminose, wie frühere Untersuchungen dieses Instituts zeigten²⁾, auch Störungen der Inkretion vorhanden sind (von welchen speziell die der Thyreoidea bekannt sind), schien es möglich, daß die Krämpfe eventuell auch auf eine Störung der Inkretion, speziell jener der Parathyreoidea zurückführbar seien. Damit wäre ein weiterer Schritt zur einheitlichen Auffassung der Avitaminose als Inkretionsstörung getan.

Diese Arbeitshypothese hat sich jedoch nicht bewahrheitet. Als charakteristisch für eine Hypofunktion der Gl. parathyreoidea muß man nach zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre die Abnahme des Blutes bzw. Serum-Ca-Gehalts betrachten. Ist eine Hypofunktion bei Mangel an Vitamin B vorhanden, so sollte das Serum-Ca auch dabei abnehmen. Ich habe deshalb untersucht, ob dieser sich im Laufe der Avitaminose ändert.

Die Analysen wurden nach der Methode von *De Waard*³⁾ ausgeführt. Ich bestimmte den Ca-Gehalt von 12 normalen und 7 an

¹⁾ *W. R. Hess*, Zeitschr. f. physiol. Chemie **117**, 284, 1921 usw. Deutsche Med. Wochenschr. **163**, 1924.

²⁾ S. z. B. *A. Zeh*, Pflügers Archiv **214**, 449, 1926.

³⁾ Nach *Brugsch-Schittenhelm*, Klinische Laboratoriumstechnik II. 781. 1924.

Mangel an Vitamin B infolge einseitiger Ernährung mit geschältem Reis unter den typischen Erscheinungen mit Krämpfen schwer erkrankten Tauben. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt und zeigen keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Tabelle I.

Ca-Gehalt im Serum nach *De Waard* in Milligrammprozent.

Nr.	Normale Tauben	Nr.	B-vitaminose Tauben
1	11.20	13	10.90
2	9.24	14	8.10
3	10.04	15	10.25
4	12.50	16	10.27
5	10.90	17	9.64
6	9.46	18	8.74
7	9.18	19	9.70
8	8.80		
9	10.40		
10	9.04		
11	11.62		
12	9.28		
Mittel:	10.04		9.66
Grenzwerte:	8.80—12.50		8.10—10.90

Es ist demnach kein Grund zu der Annahme vorhanden, daß die Krämpfe beim experimentellen Beriberi auf einen Mangel der Inkretion der Gl. parathyreoideae zurückzuführen wären.

(Ausgeführt mit einer Unterstützung des Institutes durch die Ella Sachs-Plotz-Stiftung.)

Der Gehalt des Nervensystems an gebundenem Cholesterin.

Von
L. Gassner.

Mitgeteilt von F. Verzár.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Debrecen.)

(Eingegangen am 16. November 1926.)

Der Cholesteringehalt des Nervensystems ist vielfach untersucht worden, jedoch sind nur wenige Daten über den Gehalt an freiem und gebundenem Cholesterin vorhanden. Nach *Hoppe-Seyler-Thierfelder* (1) scheint nur die ältere Untersuchung von *Rosenheim* (2) vorzuliegen, nach welcher im Nervensystem (speziell im Gehirn) weniger als 0,1 Proz. gebundenes, esterifiziertes Cholesterin vorhanden sei. In neueren Untersuchungen mit *Árvay und Kokas* (3), sowie *Beznák* (4) in unserem Institut, wurden dagegen bedeutend größere Mengen gebundenes Cholesterin zu finden geglaubt und besonders auch eine Änderung des Verhältnisses des freien und gebundenen Cholesterins angenommen. Die folgenden neuerlichen Analysen, mit sehr gründlicher Extraktion und langen Ausfällungszeiten mit Digitonin, haben jedoch ergeben, daß nahezu alles Cholesterin als freies Cholesterin zu erhalten ist. Nur eine ganz geringe Menge, etwa 0,1 Proz. entsprechend, kann erst nach vorheriger Verseifung gewonnen werden.

Die Methodik war die folgende: 1 bis 4 g Gehirn bzw. 0,06 bis 0,16 g Nerv wurden zur Analyse benutzt. Nach Zerreiben mit trockenem Gips wurde sogleich im Soxlethapparat mit Äther 72 Stunden extrahiert. Der Rückstand 6 Stunden im Rückflußkühler in Alkohol gelöst. Mit einem wesentlichen Überschuß von Digitonin wurde gefällt und hierzu 48 Stunden stehengelassen. Dann Waschen des Niederschlags in der Zentrifuge mit absolutem Alkohol, heißem Aceton, Filtrieren, Trocknung bis zur Gewichtskonstanz bei 100° C *sehr lange* oder bei 120° 20 Minuten. Die Ester wurden nach Ausfällen des Digitonats in der überstehenden Flüssigkeit bestimmt. Der Rückstand wurde in Petroläther und Wasser gelöst und im Scheidetrichter geschüttelt. Die wässrige Fraktion wurde entfernt und nochmals mit Wasser ausgeschüttelt. Zur Verseifung der Ester wurde mit $n/2$ KOH in konzentriertem Propylalkohol während 48 Stunden im Rückflußkühler verseift und in Petroläther gelöst. Der mit Wasser ausgeschüttelte Petroläther wurde dann abdestilliert und weiter wie beim freien Cholesterin verfahren.

Wir haben verschiedene methodische Beobachtungen machen können, von welchen speziell die folgenden hervorgehoben seien.

Wie Tabelle IV zeigt, darf man Gehirns substanz nicht mit Gips bei 100° C trocknen, denn man erhält dann wesentlich geringere Werte an freiem Cholesterin. Die Verluste können 30 Proz. betragen.

Ferner zeigt Tabelle V, daß die Verseifung mit $n/2$ KOH, in konzentriertem Propylalkohol gelöst, höhere Werte an gebundenem Cholesterin gibt als Verseifung mit Na-Äthylat, wie bisher üblich. Die Unterschiede können relativ sehr bedeutend sein, absolut aber bedeuten sie auch nicht mehr als etwa 0,1 Proz. gebundenes Cholesterin.

Die Analysen wurden vor allem an Gehirnen von Kaninchen, Hund, Rind und Schwein ausgeführt. Die Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt. Nachdem sich die oben erwähnten Untersuchungen speziell auf das Nervensystem von normalen und beriberikranken Tauben bezogen haben, so wurden Analysen an normalen Tauben (*Tabelle II*) und beriberikranken Tauben (*Tabelle III*) ausgeführt. Nirgends fanden sich wesentliche Mengen von gebundenem Cholesterin. Fast alles Cholesterin ist frei.

Tabelle I.

• Cholesteringehalt im Gehirn verschiedener Tiere.

Nr.	Tierart	Gewicht des Gehirns g	Freies Cholesterin			Gebundenes Cholesterin		
			g	Proz.	Mittel	g	Proz.	Mittel
1	Kaninchen (jung)	2.2066	0.0438	1.92	1,87	—	—	
		2.0776	0.0378	1.82		0.0030	0.09	
2	ebenso	2.4691	0.0486	1.96	1,92	0.0020	0.09	} 0,10
		1.7519	0.0332	1.89		0.0022	0.12	
3	Kaninchen (alt)	1.5143	0.0376	2.48	2,48	0.0018	0.12	0.12
4	ebenso	1.6573	0.0385	2.31	2,31	—	—	
5	Hund	4.3158	0.1115	2.58	2,64	0.0041	0.11	} 0,11
		4.0072	0.1089	2.71		0.0041	0.11	
6	Rind	2.5846	0.0644	2.49	2,50	0.0021	0.09	} 0,07
		2.9447	0.0739	2.51		0.0020	0.06	
7	"	2.4146	0.0716	2.96	2,96	0.0023	0.09	0.09
8	"	3.9932	0.0880	2.21	2,29	0.0059	0.14	} 0,13
		2.7355	0.0640	2.34		0.0027	0.09	
		3.1854	0.0738	2.31		0.0052	0.16	
9	Schwein	1.0640	0.0160	1.47	1,41	0.0009	0.10	} 0,08
		1.2386	0.0177	1.42		0.0008	0.06	
		1.1320	0.0153	1.35		0.0012	0.09	
		1.0789	0.0151	1.40		—	—	
10	"	1.5637	0.0270	1.72	1,72	0.0019	0.12	} 0,11
		1.4042	0.0242	1.72		0.0010	0.08	
		1.4781	0.0254	1.72		0.0016	0.12	
11	"	1.0532	0.0225	2.13	2,13	—	—	

Tabelle II.

Cholesteringehalt im Nervensystem normaler Tauben.

Nr.	Substanz	Gewicht g	Freies Cholesterin		Gebundenes Cholesterin	
			g	Proz.	g	Proz.
621	Gehirn	1,8082	0,0258	1,42	0,0032	0,16
622	"	1,8905	0,0270	1,43	0,0026	0,14
624	"	2,0428	0,0299	1,46	0,0016	0,08
625	"	2,7718	0,0355	1,27	0,0017	0,07
626	"	2,1618	0,0320	1,47	0,0017	0,08
624	Rückenmark	0,4199	0,0149	3,54	0,0009	0,22
625	"	0,3945	0,0143	3,63	0,0005	0,15
626	"	0,4963	0,0196	3,96	0,0008	0,19
610	Flügelnerf	0,1579	0,0018	1,17	—	—
626	"	0,1588	0,0017	1,10	0,0004	0,31

Tabelle III.

Cholesteringehalt im Nervensystem beriberikranker Tauben.

Nr.	Substanz	Gewicht g	Freies Cholesterin		Gebundenes Cholesterin	
			g	Proz.	g	Proz.
704	Gehirn	1,9770	0,0261	1,31	0,0015	0,08
701	"	1,8034	0,0284	1,58	0,0012	0,07
702	"	1,7881	0,0280	1,56	0,0020	0,12
705	"	1,8611	0,0292	1,57	0,0015	0,08
706	"	2,0620	0,0355	1,72	0,0024	0,11
703	Rückenmark	0,3050	0,0103	3,37	0,0004	0,15
704	"	0,3214	0,0152	4,75	0,0005	0,18
701	"	0,2796	0,0094	3,36	0,0003	0,13
702	"	0,4148	0,0141	3,40	0,0008	0,21
705	"	0,3026	0,0140	4,57	0,0005	0,17
703	Nerv	0,1075	0,0018	1,96	0,0003	0,38
704	"	0,0820	0,0010	1,30	0,0002	0,20
701	"	0,0601	0,0007	1,21	0,0002	0,31
702	"	0,0691	0,0006	0,88	0,0003	0,48

Tabelle IV.

Wirkung des Trocknens bei 100° C mit Gips.

Nr	Material	Gehalt an freiem Cholesterin	
		nach Trocknen bei 100°	ohne Trocknen extrahiert Proz.
30	Gehirn vom Hund	1,71	2,64
49	" " Kaninchen	1,35	1,87
50	" " "	1,23	1,92
51	" " "	2,22	2,48
1	" " Rind	2,34	2,50

Tabelle V.
Verseifung (Rinderhirn).

Nr.	Gehalt an gebundenem Cholesterin nach			
	Verseifung mit Na·Äthylat		Verseifung mit n/2 KOH in Propylalkohol	
	g	Proz.	g	Proz.
222	0,0022	0,08	0,0059	0,14
223	0,0015	0,07	0,0027	0,09
234	0,0010	0,05	0,0052	0,16

Wodurch in den früheren Untersuchungen scheinbar große Mengen von gebundenem Cholesterin vorgetäuscht wurden, hat sich trotz zahlreicher darauf gerichteter Analysen leider nicht erklären lassen. Es scheint, daß unter gewissen, nicht näher bekannten Milieubedingungen die Fällung des Cholesterins durch Digitonin nur langsam vor sich geht, und daß, wenn nicht lange genug gewartet wurde, die Cholesterinfällung unvollkommen war. Der nicht ausgefällte Cholesterinanteil wurde dann als gebundenes Cholesterin in der veresterten Fraktion wiedergewonnen. Ob allerdings sich nicht doch Unterschiede der Fällbarkeit werden nachweisen lassen, was uns bisher nicht gelang, werden vielleicht weitere Versuche noch zeigen können.

Literatur.

- 1) *Hoppe-Seyley-Thierfelder*, IX. Aufl., 1924, S. 888. — 2) *Rosenheim*, *Biochem. Journal* 8, 74, 1914. — 3) *Verzár, Kokas, Árvay*, *Pflügers Arch.* 206, 666, 1924. — 4) *Beznák und Verzár*, *Mitt. d. Stefan Tisza-Gesellsch.* I, 4/5, 1925.

Untersuchungen über den Fermentgehalt von reifenden, ruhenden und keimenden Weizensamen.

Von

A. Bach, A. Oparin und R. Wähler.

(Aus dem Karpow-Institut für Chemie in Moskau.)

(Eingegangen am 16. November 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei der quantitativen Untersuchung der Fermentbildung in keimenden Pflanzensamen stellten *A. Bach* und *A. Oparin*¹⁾ fest, 1. daß Fermente in ruhenden Samen präexistieren, wenn auch in geringen Mengen, wobei der Gehalt an Atmungsfermenten (Katalase, Peroxydase, Oxygenase) bei weitem den an hydrolytischen Fermenten (Amylase, Protease) übertrifft; 2. daß die Fermentmengen während der Keimung zunehmen, sie erreichen am fünften bis achten Tage ein Maximum und nehmen dann wieder ab; und 3. daß der Sauerstoffzutritt für die Fermentbildung ausschlaggebend ist.

Diese, als orientierende zu bezeichnenden, Untersuchungen, welche die gute Brauchbarkeit der von den Verfassern angewandten Methoden erwiesen, gestatteten nunmehr, eine Reihe von Fragen, die mit der Betätigung der Fermente in Pflanzensamen verbunden sind, der experimentellen Bearbeitung zu unterziehen. In vorliegender Abhandlung stellten wir uns die Aufgabe, die Schwankungen des Fermentgehalts von Weizenkörnern vom Beginn der Bildung der Samen über die Reifungs-, Ruhe- und Keimungsperioden messend zu verfolgen. Mit anderen Worten, wir suchten, von der fermentativen Entwicklungsgeschichte des Weizensamens uns eine Vorstellung zu bilden.

Über die Betätigung der Fermente während des Reifens der Samen liegen nur ziemlich knappe und zufällige Angaben vor. Sie beschränken

¹⁾ *A. Bach* und *A. Oparin*, diese Zeitschr. 134, 183, 190, 1922; 148, 476, 1924.

sich meistens auf die Feststellung der Anwesenheit einzelner Fermente in reifenden Samen¹⁾. Nur in wenigen Fällen ist die quantitative Seite der Frage berücksichtigt worden. *Zalesky*²⁾ bestimmte den Gehalt von reifenden Erbsensamen an proteolytischem Ferment und fand, daß die Mengen des letzteren mit dem Fortschritt des Reifens abnimmt. *Lüers*³⁾ führte ähnliche Versuche mit reifenden Weizensamen aus und erhielt dabei unregelmäßige Resultate: sie wiesen bald einen gleichen, bald mit dem Reifen zunehmenden, bald abnehmenden Proteasegehalt auf. In einer umfangreichen Arbeit über das Reifen von Erbsensamen teilt *A. Blagowestschensky*⁴⁾ die Resultate einiger Bestimmungen der Amylase in verschiedenen Stadien des Reifens mit. Er stellte in den früheren Stadien eine Zunahme, in den späteren eine deutliche Abnahme des Amylasegehalts fest.

Zu unseren Versuchen benutzten wir zwei Sorten von Winterweizen aus dem Versuchsfeld der Selektionsstation der Timiriazeff-Akademie für Landwirtschaft, Moskau: Sorte A 2267 (*Triticum vulgare*, var. *erythrosperrum*) und Sorte C 2963 (*Triticum vulgare*, var. *velutinum*). Für die Überlassung dieser Materialien sind wir den Leitern der Selektionsstation, Herren *S. J. Szigalow* und *Fr. N. E. Prokopenko*, zu besonderem Danke verpflichtet.

Die Samen wurden am 3. September 1924 ausgesät und gingen am 13. September auf. Sorte A fing am 10. Juni 1925 an, in Ähren zu schießen und am 22. Juni zu blühen. Sorte C bekam Ähren am 15. Juni.

Die Proben wurden zuerst am 27. Juni (Sorte A) und am 1. Juli (Sorte C) und dann regelmäßig jede 1 bis 2 Tage entnommen. Aus den abgeschnittenen Ähren wurden die Samen sofort herausgenommen und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure so lange vorgetrocknet, bis sie sich leicht zermahlen ließen. Nach Bestimmung des Durchschnittsgewichts von 100 Samen wurde das vorgetrocknete Material zermahlen und durch ein 0,25-mm-Sieb geschlagen. Gleich darauf wurde die Restfeuchtigkeit, der Gesamtstickstoff (nach *Kjeldahl*) und der Gehalt an Katalase, Peroxydase, Amylase und Protease ermittelt. Die Bestimmung der Fermente erfolgte nach den von *A. Bach* und *A. Oparin* in der oben zitierten Arbeit beschriebenen Methoden.

Die letzte Probe der Sorte A wurde 1 Tag vor der Ernte am 27. Juli entnommen. Sorte C wurde am 31. Juli eingeerntet. Ein Teil des Kornes wurde zur Entnahme weiterer Proben, die bis zum 10. August fort dauerte, im Felde stehengelassen. Weiterhin wurden am 10. Oktober

¹⁾ *A. Dean*, Bot. gazette **1**, 39, 521, 1905; *S. Iwanoff*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **I**, 29, 595, 1911.

²⁾ *W. Zalesky*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **23**, 126, 1905; Beih. z. bot. Centralbl. **27**, I, 63, 1911.

³⁾ *H. Lüers*, diese Zeitschr. **104**, 30, 1920.

⁴⁾ *A. Blagowestschensky*, ebendasselbst **157**, 201, 1925.

und am 15. November in den ausgedroschenen, auf übliche Weise aufbewahrten Samen Bestimmungen des Fermentgehalts ausgeführt.

Ein Teil der Samen der Sorte C wurde 70 Tage nach der Ernte zum Keimen gebracht und ihr Fermentgehalt nach obigem Verfahren bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe, welche die Zeitspanne vom 1. Juli bis zum 17. Oktober 1925 umfaßt, sind in nachstehender Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Nr.	Datum	Trockengewicht von 100 Samen g		Gesamtstickstoff in mg		Katalase		Peroxydase		Amylase		Protease
		A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	
1	27. VI.	0.2500	—	8.4	—	27	—	15	—	10	—	—
2	29. VI.	0.4161	—	13.0	—	59	—	29	—	20	—	—
3	1. VII.	0.7420	0.4582	22.2	11.5	87	55	59	40	25	—	—
4	4. VII.	1.2784	0.9127	23.9	20.5	90	111	58	27	19	31	2.84
5	6. VII.	1.6662	1.1209	41.2	21.7	116	158	41	16	30	33	4.30
6	8. VII.	2.1182	1.5318	49.4	31.3	71	57	92	32	30	23	3.10
7	11. VII.	2.5795	1.9849	53.1	40.2	167	181	130	26	30	23	1.72
8	13. VII.	2.9549	2.1599	67.1	46.2	147	196	147	83	33	20	0.31
9	15. VII.	3.1780	2.4366	69.2	55.6	121	156	143	120	25	20	2.47
10	17. VII.	3.4129	2.3896	71.7	49.4	122	138	158	124	2	—	1.90
11	20. VII.	3.5584	2.4748	81.1	51.6	71	50	227	192	2	8	1.88
12	23. VII.	3.4848	3.0363	90.6	71.7	127	90	331	150	16	4	1.33
13	25. VII.	3.4373	0.1473	81.1	—	111	87	172	168	15	4	4.03
14	27. VII.	3.5715	2.9142	85.7	—	114	82	182	160	2	2	—
15	30. VII.	—	2.9665	—	66.3	—	83	—	179	—	3	2.97
16	1. VIII.	—	2.8643	—	61.3	—	89	—	162	—	3	2.28
17	3. VIII.	—	2.8416	—	61.6	—	85	—	158	—	9	0.58
18	5. VIII.	—	2.7935	—	63.0	—	85	—	162	—	6	1.40
19	7. VIII.	—	2.8423	—	61.8	—	82	—	153	—	6	0.82
20	10. VIII.	—	2.8271	—	63.6	—	82	—	156	—	7	0.57
21	10. X.	—	—	—	—	—	81	—	158	—	6	0.70
22	15. XI.	—	—	—	—	—	82	—	157	—	5	—
23	10. X.	—	—	—	—	—	81	—	158	—	6.0	0.7
24	11. X.	—	—	—	—	—	69	—	150	—	6.0	1.0
25	12. X.	—	—	—	—	—	99	—	162	—	14.0	—
26	13. X.	—	—	—	—	—	198	—	202	—	—	8.4
27	14. X.	—	—	—	—	—	33	—	290	—	64.5	—
28	15. X.	—	—	—	—	—	12	—	—	—	114.0	14.8
29	16. X.	—	—	—	—	—	—	—	534	—	135.0	19.8
30	17. X.	—	—	—	—	—	—	—	704	—	78.5	16.4
31	18. X.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32	19. X.	—	—	—	—	—	—	—	759	—	—	—

Reifungsperiode

Keimungsperiode

Keimungsperiode

In der Abb. 1 sind die erhaltenen Resultate graphisch dargestellt. Aus der Tabelle I ist vor allem ersichtlich, daß die Fermentmengen im Laufe des Reifens sowohl, als im Laufe der Keimung erst zunehmen. ein gewisses Maximum erreichen und dann wieder sinken. Während aber die Keimungskurven durchaus regelmäßig und glatt verlaufen, sind die Kurven des Reifens durch wellenartige Schwankungen gekennzeichnet: vor und nach dem Eintritt des Maximums nehmen die Fermentmengen bald zu, bald ab. Wie ist nun diese Erscheinung zu

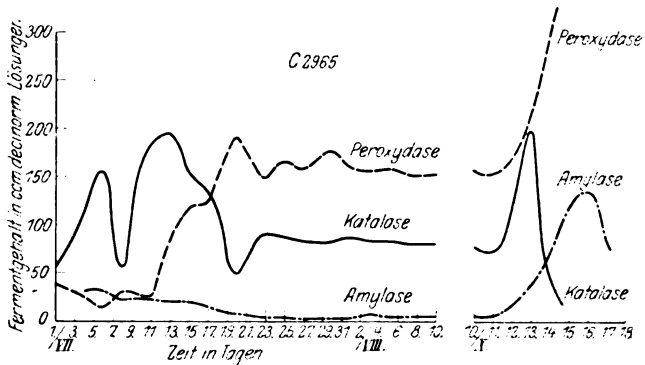


Abb. 1.

deuten? Es liegt kein Grund vor, diese Schwankungen etwaigen Fehlern der Methodik zuzuschreiben, da alle Versuche unter sorgfältiger Einhaltung identischer Bedingungen ausgeführt wurden und dieselben Methoden bei der Untersuchung der Keimung vollkommen regelmäßige Resultate ergaben. Ein Zusammenhang der Schwankungen mit Veränderungen der äußeren Bedingungen (Witterungsverhältnisse) konnten ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Folgende Tabelle gibt die meteorologischen Beobachtungen vom 27. Juni bis zum 31. August 1925 wieder.

Datum	Baro- meter mm	Tempe- ratur ° C	Nieder- schläge	Datum	Baro- meter mm	Tempe- ratur ° C	Nieder- schläge	Datum	Baro- meter mm	Tempe- ratur ° C	Nieder- schläge
27. VI.	738.00	20.23	0	9. VII.	740.50	20.03	3.7	21. VII.	747.07	18.13	0
29. VI.	739.60	21.93	0.1	11. VII.	747.20	17.40	0	23. VII.	747.40	20.53	0
1. VII.	741.37	24.80	0.1	13. VII.	746.67	21.07	0	25. VII.	745.87	21.80	3.8
3. VII.	741.90	19.27	15.5	15. VII.	746.40	15.97	0	27. VII.	749.20	20.70	0
5. VII.	746.70	21.73	0	17. VII.	746.47	14.57	8.8	29. VII.	744.80	21.73	0
7. VII.	744.50	21.23	0	19. VII.	744.93	17.20	0	31. VII.	740.00	18.17	1.2

Die Kurven der meteorologischen Daten wiesen keine Übereinstimmung mit den Kurven der Samenreifung auf.

Da die Fermentreaktionen durch die Wasserstoffionenkonzentration des Milieus stark beeinflußt werden, wäre man noch zu der Annahme berechtigt, daß die zu verschiedenen Zeiten hergestellten Extrakte aus reifenden Samen eine ungleiche aktuelle Acidität hätten. Nachstehende Tabelle beweist aber, daß das p_H der Extrakte zu verschiedenen Stadien des Reifens durch eine hohe Beständigkeit gekennzeichnet wird.

p_H der Extrakte.

	8. VII.	11. VII.	13. VII.	17. VII.	20. VII.	25. VII.	30. VII.
Sorte A	—	6.7	6.8	7.0	7.0	6.9	—
C	6.9	6.8	6.8	7.0	6.9	—	6.9

Auch dieser Faktor kann daher nicht als Ursache des wellenartigen Verlaufs der Fermentkurven angesprochen werden.

Die Ursache ist in einer anderen Richtung zu suchen. Aus den Ergebnissen früherer Untersuchungen¹⁾ geht hervor, daß die Anhäufung von Eiweiß, Stärke und anderen Reservestoffen in reifenden Samen stets sprungweise erfolgt. *A. Blagowestschensky*²⁾ spricht eben vom wellenartigen Verlauf der Kurve der Anhäufung von Reservestoffen in den reifenden Samen von *Vicia faba*. Er erklärt dies durch unregelmäßige Zufuhr stickstoffhaltiger und stickstofffreier Substanzen und durch die Ungleichmäßigkeit der Veränderungen, die diese Stoffe im Samen erleiden. Die ermittelten Kurven drücken die Resultante einer ganzen Reihe von Prozessen aus, die sich im reifenden Samen vollziehen. Neben der Zufuhr von Stoffen aus der Mutterpflanze finden im Samen Kondensations- und Hydrolyseprozesse statt. Je nach dem Zustande des pflanzlichen Organismus überwiegt bald der eine, bald der andere dieser Vorgänge: die Menge des betreffenden Reservestoffs nimmt abwechselnd zu und ab³⁾.

Es ist wohl denkbar, daß das gleiche auch für den Gehalt an Fermenten gilt. Die Menge des einen oder des anderen Ferments nimmt einerseits, infolge von Zufuhr seitens der Mutterpflanze oder von Neubildung im Laufe des eigenen Stoffwechsels des Samens, zu; andererseits nimmt aber der Fermentgehalt durch Übergang in die Zymogenform wieder ab.

Zu verschiedenen Zeiten, auf verschiedenen Stufen der Entwicklung herrscht bald der eine, bald der andere Prozeß. Dementsprechend

¹⁾ *A. Emmerling*, Landwirtsch. Versuchsst. 54, 1900; *N. Nedokutschaeff*, ebendasselbst 56, 1902; *A. Kiesel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 135, 61, 1924.

²⁾ *A. Blagowestschensky*, l. c.

³⁾ Vgl. *W. Johannsen*, Justs bot. Jahresber. 1897, S. 143.

beobachten wir bald eine Zunahme, bald eine Abnahme der Gesamtmenge der Fermente im Samen.

Abgesehen von diesen Schwankungen ist aber, wie oben erwähnt, der allgemeine Verlauf der Kurven für alle Fermente der gleiche: die Kurven steigen erst an, erreichen ein gewisses Maximum und beginnen alsdann mehr oder weniger steil abzufallen. Der Unterschied zwischen den Kurven der einzelnen Fermente beschränkt sich auf die Lage des Maximums und auf die Steilheit des auf- und absteigenden Teiles. Bei der Peroxydase wird das Maximum der Kurven in den späteren Stadien des Reifens erreicht. Katalase, Amylase und Protease kommen zu ihren Maxima bedeutend früher. Besonders frühzeitig treten die Maxima für die Amylase- und Proteasewirkungen ein bei Sorte C, wo der Abstieg der Fermentkurven bereits in den frühen Stadien der Milchreife beginnt. Ein solcher Verlauf der Kurven beweist, daß am Anfang des Reifungsprozesses Zufuhr oder Neubildung von Fermenten stattfindet, während weiterhin ihre Stapelung in der Form inaktiver Zymogene vor sich geht.

Beim Vergleich der Kurven, welche wir bei der Untersuchung der Reifung und der Keimung der Samen erhielten, ersehen wir, daß das Maximum der Reifungskurven für alle Fermente tiefer als das Maximum der Keimungskurven gelegen ist. Diese Tatsache stimmt vollständig mit den oben dargelegten Anschauungen überein. Beim Reifen des Samens gehen stets zwei Prozesse in entgegengesetzter Richtung vor sich, die Bildung aktiver Fermente und deren Übergang in inaktive Zymogene. Obige Kurven geben nur die Mengen der aktiven Fermente wieder, die in den Samen auf bestimmten Stufen der Reife enthalten sind. Die Menge von Fermenten, die auf jeder Stufe bereits durch Übergang in Zymogene inaktiviert worden sind, entzieht sich dagegen vollständig der Messung. Gerade aus diesen Zymogenen bildet sich aber die zunehmende Menge von Fermenten während des Keimungsprozesses.

Von Interesse ist auch das Verhältnis zwischen den Fermentmengen ruhender Samen und den maximalen Werten, die im Laufe des Reifens und Keimens der Samen ermittelt werden. *A. Bach* und *A. Oparin* wiesen in ihrer Arbeit auf die Tatsache hin, daß bei der Keimung eben diejenigen Fermente in besonders großer Menge gebildet werden, deren Gehalt in ruhenden Samen gering ist. Setzt man den Fermentgehalt ruhender Samen gleich 1, so ergeben sich bei unseren Sorten für das Keimungsmaximum folgende Zahlen:

Keimung	Katalase	Peroxydase	Amylase	Protease
Sorte C . . .	2.5	5.0	22.5	28.5

Während also die Menge der Katalase um das 2,5fache und der Peroxydase um das 5fache zugenommen hat, ist der Gehalt an Amylase 22,5mal, der Gehalt an Protease 28,5mal so groß geworden wie im ruhenden Samen.

Die entsprechenden Werte für das Reifen der Samen sind:

Reifen	Katalase	Peroxydase	Amylase	Protease
Sorte A . . .	1.5	1.7	20.6	—
C . . .	2.4	1.2	5.6	7.5

Die Maxima sind niedriger als bei der Keimung, das Wesen der Erscheinung bleibt aber dasselbe.

Vom oben erörterten Standpunkt aus ist die Ursache dieser Verhältnisse leicht zu begreifen. Bei der Keimung der Samen steigt die Fermentmenge auf Kosten der im Laufe des Reifungsprozesses gebildeten Zymogene. War die Menge der aufgestapelten Zymogene gering, so kann auch die Zunahme des Fermentgehalts keine erhebliche sein.

Wie und woraus die Fermente im reifenden Samen gebildet werden und auf welche Weise der Übergang dieser Fermente in inaktive Zymogene stattfindet, darüber sind wir vorderhand noch vollständig im Dunkeln. Wir beabsichtigen, uns in nächster Zukunft dem Studium dieser Fragen zuzuwenden.

Bemerkenswert ist noch der Umstand, daß der Verlauf der Katalase- und Peroxydasebildung während des Reifungsprozesses auf einen ausgesprochenen Antagonismus zwischen diesen beiden Fermenten hinweist. Dies ist aus nebenstehenden Abbildungen ersichtlich.

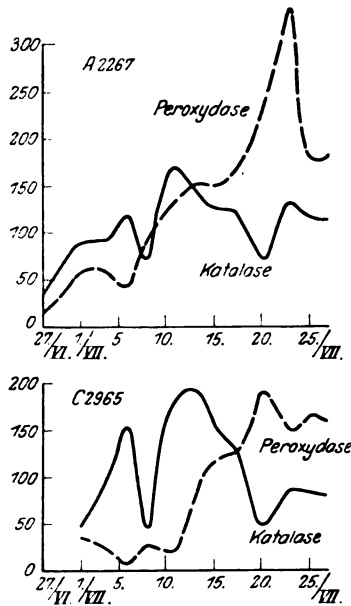


Abb. 2.

Der Zunahme der Katalase entspricht eine Abnahme der Peroxydase und umgekehrt. Die Ursache dieser Erscheinung liegt vermutlich in der regulatorischen Funktion, die die Katalase bei den Oxydationsprozessen ausübt.

Zusammenfassung.

1. Die Veränderungen der Fermentmengen im Samen während des Reifungsprozesses erfolgen sehr ungleichmäßig und sprungweise. Die Menge des einen oder des anderen Ferments zeigt bald eine rasche Zunahme, bald nimmt sie wieder ab.

2. Abgesehen von diesen Schwankungen, ist der allgemeine Verlauf der Kurven für alle Fermente der gleiche. Die Kurven steigen erst an, erreichen ein gewisses Maximum und beginnen dann mehr oder weniger steil abzustiegen.

3. Die Fermentmengen des reifenden Samens nehmen allmählich ab und bleiben nach der völligen Reife auf einer gewissen beständigen Höhe stehen, die sich weiter fast gar nicht verändert, gleichviel, ob das Korn in Ähren im Felde stehen bleibt oder auf übliche Weise aufbewahrt wird.

4. Der Vergleich der Kurven, die bei der Untersuchung der Prozesse der Reifung und der Keimung der Samen erhalten wurden, beweist, daß das Maximum der Reifungskurven bei allen Fermenten tiefer gelegen ist als das Maximum der Keimungskurven.

5. Katalase und Peroxydase nehmen im Laufe der Reifung verhältnismäßig wenig ab und steigen beim Keimungsprozeß um das 2- bis 5fache an. Die Mengen der bei der Reifung verschwindenden Amylase und Protease sind hingegen sehr beträchtlich, und dementsprechend betragen ihre Maximalwerte bei der Keimung das 20- bis 30fache des ursprünglichen.

Über individuelle Verschiedenheiten des isoelektrischen Punktes beim Frauenmilchcasein.!

Von
F. Trendtel.

(Aus der Universitätskinderklinik Kiel.)

(Eingegangen am 16. November 1926.)

In einer früheren Arbeit hat *Hugo Meyer* (1) darauf aufmerksam gemacht, daß die Frauenmilch eine individuell verschiedene Flockbarkeit besitzt. Bei Weiterführung seiner Untersuchungen hat derselbe Autor vor kurzem (2) in neuen Untersuchungsreihen die verschiedene Flockbarkeit der Frauenmilch bestätigen können und stellte fest, daß die aus der Milch verschiedener Frauen in gleicher Weise rein hergestellten Caseine ebenfalls eine individuell verschiedene Flockbarkeit zeigen. Es war somit erwiesen, daß die verschiedene Flockbarkeit der Frauenmilch auf dem verschiedenen Flockungsverhalten des Caseins beruhte. Das Frauenmilchcasein ist daher kein einheitlicher Körper, sondern es zeigen sich individuelle Unterschiede der einzelnen Caseine, wie sie bisher in ähnlicher Weise für die einzelnen Tiercaseine unter sich bekannt waren.

In diesen Untersuchungen über das individuelle Verhalten des Frauenmilchcaseins wurde nur die Flockbarkeit des Caseins berücksichtigt, es war aber nach *Hugo Meyers* Feststellungen wahrscheinlich, daß sich auch noch andere individuelle Eigenschaften des Frauenmilchcaseins finden würden. Um dies zu erweisen und einen weiteren Beitrag zur Personenspezifität des Caseins zu liefern, schien es mir wichtig, den isoelektrischen Punkt von Caseinen verschiedener Frauenmilch auf die individuellen Verschiedenheiten zu prüfen.

Schon *Ylppö* (3) hatte 1913 den isoelektrischen Punkt für Menschen, Kuh-, Ziegen-, Hunde- und Meerschweinchen-casein bestimmt und für jedes Casein das Flockungsoptimum, d. h. eben den isoelektrischen Punkt bei verschiedenem p_H gefunden. Der isoelektrische Punkt der von ihm untersuchten Frauencaseine fand sich in saurerem Gebiet als bei den anderen Caseinen, aber er schwankte zwischen 4,5 und $8,2 \cdot 10^{-5}$. Das verschiedene Verhalten der Frauenmilchcaseine sucht *Ylppö* durch die Fehlerquellen der Methode zu erklären.

Zur Messung der $[H^+]$ versuchten wir zunächst die von *Mistowitz* (4) angegebene Apparatur und seine Elektrode zu benutzen.

Jedoch zeigten sich für unser p_{H} -Bereich Unstimmigkeiten, so daß ich dazu übergang, nach Eichung mit einem *Weston*-Element nur das Voltmeter von *Mislowitzer* und im übrigen die Gaskette nach den *Michaelis*schen Angaben aufzubauen.

Die verschiedenen Caseine wurden aus frisch abgespritzter und sofort verarbeiteter Frauenmilch nach der von *Langstein-Edelstein* (5) ursprünglich und von *Hugo Meyer* modifizierten Methode hergestellt. Aus 200 ccm Frauenmilch ließen sich danach ungefähr 1,2 g Trocken-casein herstellen. Später habe ich dann die Caseine nach einer vereinfachten Methode hergestellt unter Fortlassung der dreimaligen Umfüllung, nachdem ich mich davon überzeugt hatte, daß hiermit die gleichen Resultate erzielt werden, wie mit dem umgefüllten Casein.

Die erste Versuchsreihe stellte ich nun unter den gleichen Versuchsbedingungen an wie *Ylppö*. In Tabelle I, 1 und 2 finden sich die Ergebnisse meiner Versuche an zwei Caseinsorten, von zwei verschiedenen Ammen. Die Konzentration der Caseinlösung war bei mir 0,2 Proz., auch *Ylppö* arbeitete mit solchen Lösungen, trotzdem er anscheinend irrtümlich 0,1 Proz. anibt. Es zeigte sich aber in meinen Wiederholungsversuchen, wie auch schon *Ylppö* gefunden hatte, kein deutliches Flockungsoptimum, sondern nur mehr oder minder starke Trübungen. Es schien mir daher Essigsäure zu meinen Ausflockungsversuchen keine geeignete Säure zu sein.

Diese Gründe veranlaßten mich, bei den Versuchen nach *Ylppö* keine p_{H} -Bestimmungen zu machen, sondern gleich einen anderen Weg einzuschlagen. Ich benutzte die von *Hugo Meyer* verwandte Ausflockungsmethode für meine Versuche mit gutem Erfolg. Bei dieser Methode werden konzentriertere Caseinlösungen benutzt, in denen sich außerordentlich genau das Flockungsoptimum bestimmen läßt. Es wurden jedesmal 0,3 g Casein in 32 ccm n/200 Natronlauge im Wasserbad bei 40° *vollkommen* gelöst auf 50 ccm aufgefüllt und mit den frischen Caseinlösungen das Flockungsoptimum bestimmt. Danach wurde mit der Gaskette die $[H^+]$ gemessen. Da es nicht vorauszusehen war, ob das Flockungsoptimum der einzelnen Caseine im Laufe der Zeit immer das gleiche war, so wurde von drei Frauen innerhalb $\frac{3}{4}$ Jahre fünfmal zu verschiedenen Zeiten aus frisch ausgespritzter Frauenmilch neues Casein hergestellt und verarbeitet. Bei zwei weiteren Frauen konnte aus äußeren Gründen nur zweimal frisches Casein hergestellt werden. Mit der sechsten Caseinsorte konnte ich nur zwei Versuche anstellen.

In den folgenden Tabellen findet sich eine Zusammenstellung des Flockungsoptimums der verschiedenen Frauenmilchcaseine und gleichzeitig die Angabe des isoelektrischen Punktes der einzelnen Caseinsorten.

Versuchsreihe I₁ (wie *Ylppö*). *Amanda K.*

0,2 Proz. Casein + n ₁₀ CH ₃ COOH + H ₂ O	Röhrchen									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nach 1 ¹ / ₂ Stunde bei 20° . . .	—	(+)	(+)	+	++	+++	+++	++		(+)
Nach 1 ¹ / ₂ Stunde bei 40° . . .	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+	+
Nach 12 Stdn. . .	+	+	++	++	++	+++	+++	+++	+	+

Fragliches Optimum in Röhrchen 6 oder 7.

Versuchsreihe I₂ (wie *Ylppö*). *Strohmeyer.*

0,1 Proz. Casein + n ₁₀ CH ₃ COOH + H ₂ O	Röhrchen								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nach 1 ¹ / ₂ Std. bei 20°	(+)	(+)	+	+	+	+	(+)	(+)	—
1 ¹ / ₂ " 40°	(+)	+	++	+++	+++	+++	+	(+)	(+)
12 Stdn. . .	+	++	+++	×	+++	++	+	+	(+)

Flockungsoptimum in Röhrchen 4.

± = Trübung. × = Flockung.

Versuchsreihe II₁. *Kardell* (30. März 1926). Temperatur 40°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
H ₂ O cem	0,8	0,75	0,70	0,65	0,60	0,55	0,52	0,50	0,47	0,45	0,40	0,35	0,30
n 100 HCl cem	0,2	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,48	0,50	0,53	0,55	0,60	0,65	0,70
Caseinlg. cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	—	+	+	+	++	++	×	×	×	×	×	+	+

1. 30. III. 1926. Optimum der Flockung bei 0,53 n/100 HCl $p_H = 4,13 [H^+]$
 2. 20. IV. 1926. " " " " 0,53 n/100 HCl $p_H = 4,17 [H^+]$
 3. 15. V. 1926. " " " " 0,55 n/100 HCl $p_H = 4,14 [H^+]$
 4. 26. V. 1926. " " " " 0,53 n/100 HCl $p_H = 4,11 [H^+]$
 5. 16. XII. 1926. " " " " 0,52 n/100 HCl $p_H = 4,14 [H^+] = 7,4 \cdot 10^{-5}$.

(Nicht umgefülltes Casein.)

Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte *Kardell* $p_H = 4,14 [H^+] = 7,25 \cdot 10^{-5}$.

Versuchsreihe II₂. *Strohmeyer* (31. März 1926). Temperatur 40°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H ₂ O cem	0,70	0,65	0,60	0,57	0,55	0,52	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
n 100 HCl cem	0,30	0,35	0,40	0,43	0,45	0,48	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70
Caseinlösung cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	+	++	×	×	×	×	×	++	++	+	—

1. Optimum der Flockung bei 0,43 $p_H = 4,68$.
 2. 20. IV. 1926. " " " " 0,43 $p_H = 4,59$.
 3. 16. V. 1926. " " " " 0,44 $p_H = 4,60$.
 4. 25. V. 1926. " " " " 0,43 $p_H = 4,67$.
 5. 16. XII. 1926. " " " " 0,44 $p_H = 4,60$.

(Nicht umgefülltes Casein.)

Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte *Strohmeyer* $p_H = 4,66 [H^+] = 2,19 \cdot 10^{-5}$.

Versuchsreihe II₃. *Starck* (31. März 1926). Temperatur 41°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H ₂ O cem	0,65	0,60	0,55	0,52	0,50	0,47	0,45	0,40	0,35	0,30	0,25
n/100 HCl . . . cem	0,35	0,40	0,45	0,48	0,50	0,53	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75
Caseinlösung cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	+	++	×	×	×	×	×	×	+	+	—
1. 31. III. 1926	Optimum der Flockung bei 0,50 p _H = 4,26.										
2. 21. IV. 1926	" " " " 0,50 p _H = 4,21.										
3. 16. V. 1926	" " " " 0,52 p _H = 4,27.										
4. 17. VI. 1926	" " " " 0,50 p _H = 4,28.										
5. 17. XII. 1926	" " " " 0,51 p _H = 4,24.										
(Nicht umgefülltes Casein.)											
Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte <i>Sta.</i> p _H = 4,255 [H ⁺] = 5,56 · 10 ⁻⁵ .											
+ = Trübung, × = Flockung.											

Versuchsreihe II₄. *Elsa* (28. März 1926). Temperatur 40°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H ₂ O cem	0,65	0,60	0,57	0,55	0,52	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30	0,25
n/100 HCl . . . cem	0,35	0,40	0,43	0,45	0,48	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75
Caseinlösung cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	+	++	×	×	×	×	+	+	+	+	—
1. 28. III.	Optimum d. Flockg. b. 0,48 p _H = 4,11.										
2. 18. VI. Kontrolle	" " " " 0,48 p _H = 4,08.										
Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte <i>Elsa</i> p _H = 4,10 [H ⁺] = 7,95 · 10 ⁻⁵ .											
+ = Trübung, × = Flockung.											

Versuchsreihe II₅. *Grete* (20. Mai 1926). Temperatur 45°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H ₂ O cem	0,65	0,60	0,55	0,50	0,47	0,45	0,42	0,40	0,37	0,35	0,30
n/100 HCl . . . cem	0,35	0,40	0,45	0,50	0,53	0,55	0,58	0,60	0,63	0,65	0,70
Caseinlösung cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	(+)	+	++	++	(×)	×	×	×	(×)	++	(--)
1. 25. V.	Optimum der Flockung bei 0,58 n/100 HCl p _H = 4,45.										
2. 18. VI.	" " " " 0,58 " " p _H = 4,49.										
Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte <i>Grete</i> p _H = 4,47 [H ⁺] = 3,39 · 10 ⁻⁵ .											
+ = Trübung, × = Flockung.											

Versuchsreihe II₆. *Elsa* (20. Mai 1926). Temperatur 42°.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
H ₂ O cem	0,70	0,65	0,60	0,55	0,52	0,50	0,47	0,45	0,40	0,35	0,30
n/100 HCl . . . cem	0,30	0,35	0,40	0,45	0,48	0,50	0,53	0,55	0,60	0,65	0,70
Caseinlösung cem	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	—	+	++	++	+	×	×	×	+	+	—
1. 20. V.	Optimum der Flockung bei 0,50 n/100 HCl . . . p _H = 4,23.										
2. 18. VI.	" " " " 0,50 " " . . . p _H = 4,25.										
(Nicht umgefülltes Casein.)											
Isoelektrischer Punkt für Caseinsorte <i>Elsa</i> p _H = 4,24 [H ⁺] = 5,76 · 10 ⁻⁵ .											
+ = Trübung, × = Flockung.											

Versuchsreihe III₁. *Kardell*. Casein + NaCl.

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
H ₂ O ccm	0,50	0,45	0,40	0,37	0,35	0,32	0,30	0,25	0,20	0,15	0,10	0,05	—
5proz. NaCl ccm	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
n/100 HCl . . . ccm	0,30	0,35	0,40	0,43	0,45	0,48	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80
Caseinlösung ccm	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ergebnis	++	×	×	×	×	×	×	×	×	×	+	+	+

Flockungsoptimum bei 0,55 n/100 HCl $p_H = 5,33$.
 + = Trübung. × = Flockung.

Die Versuche bestätigen zunächst die von *Hugo Meyer* gefundene verschiedene Flockbarkeit der einzelnen rein hergestellten Caseine. Weiter ergab sich aber auch eine Bestätigung der Vermutung bezüglich individueller Verschiedenheiten des isoelektrischen Punktes der Caseine. Es läßt sich zeigen, daß der isoelektrische Punkt der einzelnen Frauenmilchcaseine nicht nur zwischen 2,19 und $7,95 \cdot 10^{-6}$ liegt (*Ylppö* $4,5$ und $8,2 \cdot 10^{-6}$), sondern daß er bei dem Casein verschiedener Frauen verschieden, *bei derselben Frau aber immer konstant ist*. Auch bei wiederholter ganz frischer Herstellung der Caseine war der isoelektrische Punkt bei der bestimmten Frau immer der gleiche. *Selbst die ohne weitere Reinigung hergestellten Caseine zeigen diese Eigenschaften* (Tabelle II, 1 bis 3, und II, 6).

Nun ist schon seit langem bekannt, daß die Salze auf die Ausflockung des Caseins von großem Einfluß sind, namentlich wird durch Salzzusatz zu Caseinlösungen eine starke Verbreiterung der Flockungszone herbeigeführt. Außerdem verschiebt sich bei Salzzusatz der isoelektrische Punkt der Proteinlösungen. *Michaelis* hatte bei der Bestimmung des isoelektrischen Punktes der einzelnen Eiweißkörper diese Verschiebung bei einzelnen Salzen untersucht und gefunden, daß NaCl-Zusatz den isoelektrischen Punkt einer Eiweißlösung nach rechts, d. h. nach der alkalischen Seite hin verschiebt.

Versuchsreihe III₁₋₄. Casein + 0,2 ccm 5proz. NaCl.

Casein von	Isoelektrischer Punkt vor Salzzusatz	Isoelektrischer Punkt nach Salzzusatz	Mittelwert p_H
<i>Kardell</i>	$p_H = 4,14$	1. $p_H = 5,33$ 2. $p_H = 5,36$	5,345
<i>Strohmeyer</i>	$p_H = 4,66$	1. $p_H = 5,64$ 2. $p_H = 5,58$	5,61
<i>Stark</i>	$p_H = 4,25$	1. $p_H = 5,44$ 2. $p_H = 5,46$	5,45
<i>Elsa</i>	$p_H = 4,11$	1. $p_H = 5,32$ 2. $p_H = 5,36$	5,34

Die Tabelle III, 1 bis 4, zeigt an einer Caseinsorte als Beispiel die auch bei den anderen Caseinen gefundene Verbreiterung der Flockungszone. Die andere Zusammenstellung läßt die Verschiebung des isoelektrischen Punktes der einzelnen Caseine durch eine 5proz. NaCl-Lösung nach der alkalischen Seite hin erkennen. *Die Verschiebung des isoelektrischen Punktes ist auch hierbei im absoluten Betrage gleich; es bestehen somit dieselben Unterschiede des isoelektrischen Punktes der einzelnen Caseine in elektrolythaltigen Lösungen.*

Die Hypothese von *Hugo Meyer*, daß die individuellen Unterschiede des Frauenmilchcaseins sich nicht nur auf die Flockbarkeit beschränken, hat durch meine Untersuchungen über das individuelle Verhalten des isoelektrischen Punktes verschiedener Frauenmilchcaseine eine neue Stütze erfahren. Weitere Untersuchungen der verschiedenen Tiercaseine dürften ebenfalls mit aller Wahrscheinlichkeit ein solches individuelles Verhalten des isoelektrischen Punktes der Caseine zeigen.

Literatur.

- 1) *H. Meyer*, Arch. f. Kinderheilk. 75, 211, 1925. — 2) *Derselbe*, diese Zeitschr. 178, 82, 1926. — 3) *Ylppö*, Zeitschr. f. Kinderheilk. 8, 224, 1913. — 4) *Mislowitzer*, diese Zeitschr. 159, 72, 1925. — 5) *Langstein-Edelstein*, Jahrb. f. Kinderheilk., 72. Erg.-H., S. 1, 1910.

Über die Rolle der Schwermetalle bei der Autoxydation von Zuckerlösungen.

Von
Hans Adolf Krebs.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

| (*Eingegangen am 16. November 1926.*)

Mit 11 Abbildungen im Text.

Ausgangspunkt dieser Arbeit war die Beobachtung von Herrn *O. Warburg*, daß die Autoxydation von Zuckern in ammoniakalischer Lösung durch Blausäure antikatalytisch gehemmt wird. Hiernach schien keine wahre Autoxydation vorzuliegen, sondern eine Sauerstoffübertragung durch Metalle. Ich habe diese Frage auf Vorschlag von Herrn *Warburg* näher untersucht.

Zunächst fand ich, daß sich die Oxydation von Zuckern in ammoniakalischer Lösung in wesentlichen Punkten von der Oxydation in anderen Alkalien, beispielsweise Natronlauge, unterscheidet. So ist die Geschwindigkeit der Oxydation bei gleicher Hydroxylionenkonzentration in Ammoniak um ein Vielfaches (bis um ein Hundertfaches) größer als in anderen Alkalien. Fructose wird in fast neutralen Ammoniaklösungen bei Körpertemperatur mit erheblicher Geschwindigkeit oxydiert.

Weiterhin fand ich, daß der Salzgehalt der ammoniakalischen Zuckerlösungen von großer Bedeutung ist. So verlief die Oxydation in einer Lösung, die 1 mol. Calciumchlorid enthielt, 10mal so schnell als in calciumchloridfreier Lösung. Auch die Oxydation in diesem Milieu wird durch Blausäure antikatalytisch gehemmt. Wie Blausäure wirken andere schwermetallbindende Substanzen. Schwefelwasserstoff und Pyrophosphat.

Fügt man Schwermetallsalze zu den ammoniakalischen Zuckerlösungen, so steigt die Oxydationsgeschwindigkeit, und zwar sind die calciumchloridhaltigen Lösungen besonders empfindlich gegen Schwer-

metall. Drückt man die Wirksamkeit der zugesetzten Metalle durch den Quotienten

$$\frac{\text{Kubikmillimeter verbrauchten Sauerstoffs}}{\text{Milligramm Metall} \times \text{Stunden}}$$

aus, so findet man Werte bis zu 30000, das ist die Größenordnung der Reaktionsfähigkeit des Eisens in der lebenden Zelle¹⁾.

In Lösungen, die Ammoniak, Calciumchlorid und Schwermetallspuren enthalten, oxydieren sich bei ganz schwach alkalischer Reaktion Fructose, Glucose, Galaktose, Mannose und Maltose. In allen diesen Fällen beschleunigen Schwermetalle und hemmen Blausäure, Schwefelwasserstoff und Pyrophosphat die Oxydation.

Was die Oxydation von Zuckern in anderen als ammoniakalischen Lösungen anbetrifft, so ist bereits bekannt, daß Fructose, Dioxyaceton und Glycerinaldehyd in neutralen Phosphatlösungen durch molekularen Sauerstoff oxydiert werden²⁾, und daß es Metalle sind, die die Oxydation vermitteln³⁾. *H. A. Spoechr* untersuchte die Oxydation von Zuckern in Pyrophosphatlösungen, denen er Eisen zusetzte⁴⁾. Ich fand, daß sowohl Fructose als auch Glucose, Galaktose, Mannose und Maltose durch molekularen Sauerstoff bei Körpertemperatur angegriffen werden, wenn man ihren wässrigen Lösungen *Bicarbonat* zusetzt. Auch hier beschleunigen Schwermetalle und hemmen Blausäure, Schwefelwasserstoff und Pyrophosphat die Oxydation.

Aus der beschleunigenden Wirkung der Schwermetalle und der hemmenden Wirkung der Komplexbildner ist zu schließen, daß die Kohlehydrate in ammoniakalischer und bicarbonathaltiger Lösung nicht direkt mit dem molekularen Sauerstoff reagieren, sondern durch Vermittlung von Schwermetallen. So erweist sich wiederum ein zuerst für die lebendige Substanz aufgestelltes Prinzip außerhalb der Zelle, bei der „Autoxydation“ physiologisch wichtiger Substanzen, als gültig.

Ob auch die Oxydation der Zucker in *stark* alkalischen Lösungen nur scheinbar eine Autoxydation, in Wirklichkeit aber eine durch Metalle vermittelte Oxydation ist, habe ich nicht untersucht. Offen bleibt ferner die Frage, zu welchen Endprodukten die Oxydation in den ammoniakalischen und bicarbonathaltigen Lösungen führt. Kohlensäure bildet sich im allgemeinen nicht, sondern nur in solchen ammoniakalischen Lösungen, die Phosphat enthalten.

¹⁾ *O. Warburg*, diese Zeitschr. **152**, 480, 1924.

²⁾ *O. Warburg* und *M. Yabusoe*, ebendasselbst **146**, 380, 1924.; *F. Wind*, ebendasselbst **159**, 58, 1925

³⁾ *O. Meyerhof* und *K. Matsuoka*, ebendasselbst **150**, 1, 1924.

⁴⁾ *H. A. Spoechr*, Journ. Americ. Chem. Soc. **46**, 1494. 1924; **48**, 107 und 236, 1926.

Die Wiedergabe der Versuche zerfällt in folgende Abschnitte:

A. Methodik.

- B. Oxydation von Kohlehydraten in ammoniakalischen Lösungen.
1. Zeitlicher Verlauf der Fructoseoxydation.
 2. Beeinflussung der Oxydationsgeschwindigkeit durch Schwermetalle, Blausäure, Schwefelwasserstoff und Pyrophosphat.
 3. Oxydation von Glucose, Galaktose, Mannose und Maltose.
 4. Oxydation von Fructose und Glucose in Ammoniumphosphatlösungen.
- C. Oxydation von Kohlehydraten in Bicarbonatlösungen.

A. Methodik.

Die Oxydationsgeschwindigkeit habe ich manometrisch gemessen. Für sämtliche Versuche mit ammoniakhaltigen Lösungen benutzte ich die gleiche Anordnung wie *O. Warburg* und *M. Yabusoe*¹⁾.

Bei der Oxydation von Kohlehydraten in Bicarbonatlösungen entstehen Säuren, die aus dem Bicarbonat Kohlensäure in Freiheit setzen. Es ändert sich also in der Gasphase über der Flüssigkeit gleichzeitig der Partialdruck von zwei Gasen, von Sauerstoff und von Kohlensäure. Zur Messung des Gaswechsels sind hier zwei Gefäße (Form diese Zeitschr. 152, 58, 1924), die — bei gleichem Gesamtvolumen — verschiedene Mengen Flüssigkeit enthalten, zu benutzen²⁾. Dabei ist zu berücksichtigen, daß konzentrierte Bicarbonatlösungen, die mit einem Gasgemisch von einigen Volumprozenten Kohlensäure bei 38° im Gleichgewicht stehen, beträchtliche Mengen Carbonat enthalten. Eine Lösung, die in bezug auf Bicarbonat 0,5 molar ist und die mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure im Gleichgewicht steht, ist bei 38° etwa 0,1 molar in bezug auf Carbonat, wie sich (unter vereinfachenden Voraussetzungen) aus den Messungen von *A. Baird Hastings*³⁾ berechnen läßt. Das Carbonat bindet einen Teil der bei der Oxydation entstehenden Säuren, wobei es sich zu Bicarbonat umsetzt. Es entsteht also nicht für jedes auftretende Säureäquivalent ein Molekül freier Kohlensäure. Die Säuremenge, die durch Carbonat gebunden wird, muß in jedem Falle bestimmt werden⁴⁾.

Bequemer für die manometrische Messung ist es, dem Bicarbonat noch Carbonat hinzuzufügen. Dann bindet das Carbonat die bei der Oxydation entstehenden Säuren vollständig, und die Veränderung des Gasdrucks rührt allein von der Abnahme des Sauerstoffdrucks her; der Kohlensäurepartialdruck bleibt praktisch konstant.

¹⁾ *O. Warburg* und *M. Yabusoe*, diese Zeitschr. 146, 380, 1924.

²⁾ *O. Warburg*, ebendasselbst 152, 51, 1924.

³⁾ *A. Baird Hastings* und *J. Sendroy*, Journ. of biol. chem. 65, 445, 1925.

⁴⁾ *O. Warburg*, diese Zeitschr. 164, 481, 1925.

B. Oxydation von Kohlehydraten in ammoniakalischen Lösungen.

1. Zeitlicher Verlauf der Fructoseoxydation.

Wir mischen 9 Teile einer dreifach normalen, wässrigen Ammoniumchloridlösung mit einem Teile dreifach normaler Ammoniaklösung (p_H des Gemisches etwa 8,0), bringen in das Gemisch so viel Fructose (Lävulose I, *Kahlbaum*), daß die Fructosekonzentration 1 Proz. beträgt, und leiten bei 37,5° durch die Lösung Sauerstoff hindurch. Von Zeit zu Zeit entnehmen wir der Lösung 10 ccm Flüssigkeit und messen manometrisch den Sauerstoffverbrauch (Tabelle I).

Tabelle I.

Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit nach der Herstellung der Lösung	In einer Stunde von 10 ccm Lösung verbrauchter Sauerstoff in cmm	Zeit nach der Herstellung der Lösung	In einer Stunde von 10 ccm Lösung verbrauchter Sauerstoff in cmm
1 Stunde	125	24 Stunden	127
2 Stunden	144	48 "	70
3 "	152	72 "	66
4 "	159		

Aus den Zahlen der Tabelle geht hervor, daß die Geschwindigkeit der Oxydation in den ersten Stunden langsam ansteigt und dann im Verlauf von Tagen allmählich absinkt. Der Umsatz ist von der gleichen Größenordnung wie bei der Oxydation der Fructose in Phosphatlösungen. *Warburg* und *Yabusoe* fanden, daß in einem einfach molaren Phosphatgemisch vom p_H etwa 7,7 pro Stunde bis zu 0,3 Proz. des Fructosegewichts an Sauerstoff verbraucht wird. In unserem Falle beträgt der Sauerstoffverbrauch bis zu 0,23 Proz. des Fructosegewichts in der Stunde.

Glucose wird bei gleicher Versuchsanordnung ungefähr 30mal langsamer oxydiert als Fructose.

Variiert man die Konzentration der Fructose und hält die Versuchsbedingungen im übrigen konstant, so steigt die Geschwindigkeit der Oxydation etwa proportional der Fructosekonzentration (Tabelle II).

Tabelle II.

Abhängigkeit der Oxydationsgeschwindigkeit von der Fructosekonzentration. 16 Teile einfach molares Ammoniumchlorid + 1 Teil einfach molares Ammoniak (p_H etwa 7,7). Gasraum: Luft. 37,5°.

Konzentration der Fructose in Proz.	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung in der ersten Stunde (in cmm)
1	13
2	30
4	63
8	144

Läßt man die Konzentration des Puffergemisches ansteigen, so nimmt die Geschwindigkeit der Oxydation im etwa gleichen Maße wie die Pufferkonzentration zu (Tabelle III).

Tabelle III.

Abhängigkeit der Oxydationsgeschwindigkeit von der Konzentration des Ammoniumchlorids (8 Teile)-Ammoniak (1 Teil)-Gemischs. p_H etwa 8,0. 2 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. 37,5°.

	Konzentration des Puffergemischs			
	m/8	m/4	m/2	m/1
Sauerstoffverbrauch (cmm) von 10 ccm Lösung in der ersten Stunde	10,5	19,5	33	64

Vom Sauerstoffdruck ist die Geschwindigkeit der Oxydation, wie aus Tabelle IV zu ersehen ist, innerhalb weiter Grenzen unabhängig. Sinkt der Sauerstoffdruck von einer Atmosphäre auf den fünften Teil, so bleibt die Oxydationsgeschwindigkeit unverändert.

Tabelle IV.

Abhängigkeit der Oxydationsgeschwindigkeit vom Sauerstoffdruck. Zusammensetzung der Lösung: 16 Teile einfach normales Ammoniumchlorid + 1 Teil einfach normales Ammoniak (p_H etwa 7,7). 4 Proz. Fructose. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)	
	Gasraum Sauerstoff	Gasraum Luft
60'	66	63
60	68	65
60	69	71

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Zur Herstellung verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen mischen wir Ammoniumchlorid und Ammoniak in verschiedenen Verhältnissen; wir berechnen die Wasserstoffionenkonzentration nach der Puffergleichung:

$$[H^+] = \frac{k_w}{k} \times \alpha \cdot \frac{[NH_4Cl]}{[NH_3]}$$

wo k_w die Dissoziationskonstante des Wassers ist, k die Dissoziationskonstante des Ammoniaks, α der Dissoziationsgrad¹⁾ des Ammonium-

¹⁾ Der Einfachheit wegen benutze ich hier noch die alte Ausdrucksweise.

Tabelle V.

Abhängigkeit der Oxydationsgeschwindigkeit von der Wasserstoffionen-
konzentration. Gasraum: Luft. 37,5°.

	128 T. n NH ₄ Cl 1 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 6,8	32 T. n NH ₄ Cl 1 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 7,4	8 T. n NH ₄ Cl 1 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 8,0	2 T. n NH ₄ Cl 1 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 8,6	1 T. n NH ₄ Cl 2 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 9,2	1 T. n NH ₄ Cl 8 T. n NH ₃ 2 Proz. Fructose p _H etwa 9,8
Sauerstoffver- brauch (cmm) von 10 ccm Lösung in der ersten Stunde	3,1	16,5	80	211	484	1008

chlorids, und die Klammern molare Konzentrationen bedeuten. k_{11} setze
ich = $3,13 \cdot 10^{-14}$, $k = 1,96 \cdot 10^{-5}$ (37°).

Die Oxydationsgeschwindigkeit steigt, wie aus Tabelle V hervor-
geht, erheblich mit zunehmender Alkaleszenz. Sie wird etwa bei p_H 6,8
meßbar. Steigt die Konzentration der Hydroxylionen von $2,1 \cdot 10^{-7}$
(p_H 6,8) auf $3,3 \cdot 10^{-6}$ (p_H 8,0), so wächst die Geschwindigkeit der
Oxydation etwa proportional der Hydroxylionenkonzentration. Nimmt
die Hydroxylionenkonzentration weiter zu, so steigt auch die Oxydations-
geschwindigkeit weiter, jedoch langsamer als die Hydroxylionen-
konzentration. Es handelt sich — in dem untersuchten p_H-Bereich —
nicht etwa um die bekannte Oxydation der Fructose in Alkalien, denn
vergleichen wir die Geschwindigkeit der Oxydation in einem Sörensen-
schen Glykokoll-Natronlaugegemisch und in einem Ammoniumchlorid-
Ammoniakgemisch bei etwa gleichem p_H, so finden wir, daß bei p_H 8,9
in dem Sörensen'schen Gemisch die Geschwindigkeit der Oxydation
64mal kleiner ist als in dem Ammoniakgemisch. Bei p_H 8,9 beruhen
also 98,5 Proz. des Sauerstoffverbrauchs auf einer Wirkung oder Mit-
wirkung des Ammoniaks und nur 1,5 Proz. auf einer Wirkung allein
der Hydroxylionen.

Oxydationsgeschwindigkeit in Calciumchlorid.

Setzt man neutrale Salze der Alkalien und des Magnesiums (Natrium-
chlorid, Natriumsulfat, Natriumacetat, Kaliumchlorid, Kaliumrhodanid,
Lithiumchlorid, Magnesiumchlorid) zu dem Ammoniumchlorid-Ammoniak-
gemisch hinzu, so daß die Salzkonzentration einfach molar ist, so wird die
Geschwindigkeit der Oxydation nicht sehr wesentlich beeinflusst. Die
Salze beschleunigen die Oxydation in der Reihenfolge



Die Beschleunigung beträgt im Höchstfalle (beim Na₂SO₄) etwa 100 Proz.
Kaliumrhodanid setzt die Geschwindigkeit der Oxydation auf 25 Proz.
herab.

Tabelle VI.

Einfluß von Neutralsalzen auf die Oxydationsgeschwindigkeit. Jedes Gefäß enthielt 5 ccm eines einfach normalen Ammoniumchlorid (8 Teile)-Ammoniak (1 Teil)-Gemischs mit 8 Proz. Fructose + 5 ccm der zweifach molaren (bei BaCl₂ 1,66fach molaren) Lösung des Salzes. In das Gefäß „ohne Salzzusatz“ wurden 5 ccm Wasser dazugegeben. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)					
	ohne Salzzusatz	mit einfach mol. Ca Cl ₂	mit einfach mol. Ca (NO ₃) ₂	mit einfach mol. Sr Cl ₂	mit 0,83 mol. Ba Cl ₂	mit einfach mol. Mg Cl ₂
10 Minuten . .	11,5	73	44,5	53	42,5	18,3
20 „ . .	23	147	88	106	84,5	38,5
30 „ . .	34,5	217	132	159,5	126	60

Großen Einfluß auf den Oxydationsvorgang haben Calcium-, Strontium- und Bariumsalze. In dem Beispiel der Tabelle VI bewirkt Calciumchlorid (einfach molar) eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs auf über das Sechsfache. Calciumnitrat, Strontiumchlorid und Bariumchlorid sind in diesem Versuch etwas weniger wirksam (vgl. auch Abb. 1). Es zeigte sich, daß Wirksamkeit der Erdalkalisalze außerordentlich wechselnd ist. Ursache dafür ist der schwankende Gehalt der Salze an Verunreinigungen mit Schwermetallen (siehe Abschnitt 2).

Fructose ist in konzentrierten Neutral-salzlösungen bei Abwesenheit von Ammoniak durch molekularen Sauerstoff nicht oxydabel [ausgenommen in Phosphat-, Arseniat- und Bicarbonatlösungen¹⁾].

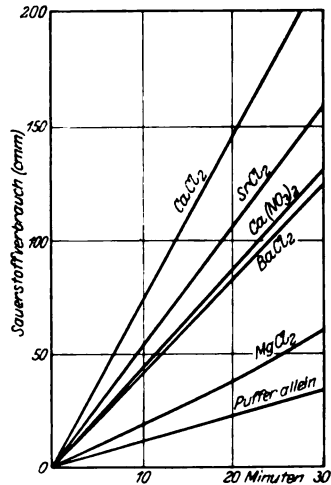


Abb. 1. Beschleunigung der Oxydation durch Erdalkalisalze. Graphische Darstellung der Tabelle VI.

¹⁾ Erwähnenswert ist, daß ebendieselben Salze, die die Oxydation der Fructose stark beschleunigen, auch die spezifische Drehung der Fructose stark verändern. Nach E. Rimbach und O. Weber (Zeitschr. f. physikal. Chem. 51, 473, 1905) dreht Fructose, in 1,6fach molarem Calciumchlorid, Strontiumchlorid oder Bariumchlorid gelöst, um 20 bis 21 Proz. stärker links als bei Lösung in salzfreiem Wasser. Magnesiumchlorid in gleicher Konzentration erhöht dagegen die Drehung nur um 7 Proz. Alkalisalze sind nach Versuchen von N. Wender (diese Zeitschr. 80, 357, 1911) noch weniger wirksam. Die Drehungsänderung ist etwa proportional der Salzkonzentration und fast unabhängig von der Fructosekonzentration (siehe hierzu E. E. Walker und H. E. Armstrong, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A, 88, 246, 1913; 90, 375, 1914).

2. *Beeinflussung der Oxydationsgeschwindigkeit durch Schwermetalle, Blausäure, Schwefelwasserstoff und Pyrophosphat.*

Beschleunigung der Oxydation durch Schwermetalle.

Zusatz von Schwermetallen zu einem Ammoniumchlorid-Ammoniak-Fructosegemisch (*ohne* Calciumchlorid) steigert die Geschwindigkeit der Oxydation nur verhältnismäßig wenig. So beträgt in dem Beispiel der Tabelle VII die Beschleunigung durch Zusatz von 10^{-3} mol. Ferrosulfat etwa 65 Proz.¹⁾ Der Quotient $Q_{\text{Schwermetall}}$

$$\frac{\text{Kubikmillimeter verbrauchten Sauerstoffs}}{\text{Milligramm Metall} \times \text{Stunden}}$$

der die katalytische Wirksamkeit des Schwermetalls mißt²⁾, berechnet sich danach für das hinzugefügte Eisen auf den Wert 91, während für lebende Zellen die Werte zwischen 10000 und 100000 und für die Cystein-Eisenkatalyse über 100000 liegen²⁾.

Tabelle VII.

Einfluß von Eisenzusatz auf die Oxydationsgeschwindigkeit.

Lösung: 8 Teile 0,5 mol. NH_4Cl + 1 Teil 0,5 mol. NH_3 (p_{H} etwa 8,0).
4 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)	
	ohne Fe-Zusatz	mit 10^{-3} mol. FeSO_4
30	33,5	59
60	73	123
90	112	188
120	152	254

Durch den Zusatz von viel Calciumchlorid wird die katalytische Wirksamkeit des hinzugefügten Schwermetalls (Kupfer, Mangan, Eisen) mächtig gesteigert (Tabelle VIII, Abb. 2). Kupfer (als CuSO_4 hinzugegeben) ist am stärksten wirksam, ebenso wie bei der Fructoseoxydation in Phosphatlösungen. Die Werte der Quotienten sind: $Q_{\text{Cu}} = 29700$, $Q_{\text{Mn}} = 22300$, $Q_{\text{Fe}} = 2700$ (bei p_{H} etwa 8,5).

¹⁾ Das FeSO_4 muß zur Fructoselösung hinzugegeben werden, bevor das Ammoniak zugesetzt wird. Anderenfalls wird das Eisen als Hydroxyd ausgefällt und ist katalytisch unwirksam. Mischt man dagegen in der Reihenfolge Fructose—Eisen—Ammoniak, so bleibt das Eisen in Lösung.

²⁾ O. Warburg, diese Zeitschr. 152, 479, 1924.

Tabelle VIII.

Beschleunigung der Oxydation durch Schwermetalle. Zusammensetzung der Lösung: 2 mol. CaCl_2 ; 1,5 mol. Ammoniumchlorid (4 Teile)-Ammoniak (1 Teil); p_H etwa 8,5. 1 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. $37,5^\circ$.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 6 ccm Lösung (in cmm)			
	ohne Schwermetallzusatz	+ 0,03 mg Fe (als FeCl_3)	+ 0,03 mg Mn (als MnSO_4)	+ 0,03 mg Cu (als CuSO_4)
10'	17,5	33	130	170
20	36,5	64	265	338
30	57	98	394	503

Die Wirksamkeit ist also von der gleichen Größenordnung wie bei dem Schwermetall in lebenden Zellen. Die Größe der Quotienten ist von der H-Ionenkonzentration abhängig. Mit zunehmender Acidität werden die Quotienten kleiner, und zwar für die verschiedenen Metalle in verschiedenem Grade. So betragen die Werte in einem Versuch bei p_H etwa 7,4 für Q_{Cu} 4050, für Q_{Mn} 340, für Q_{Fe} 1280. Während bei p_H 8,5 Mangan stärker katalysiert als Eisen, ist demnach bei p_H 7,4 Eisen wirksamer als Mangan.

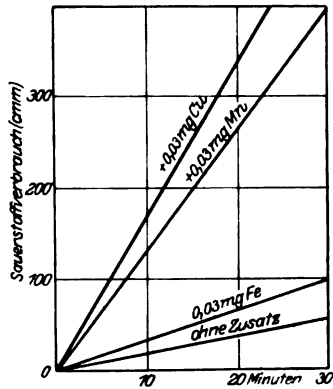


Abb. 2.
Beschleunigung der Oxydation durch Schwermetalle.
Graphische Darstellung der Tabelle VIII.

Mit der Abnahme der Calciumchloridkonzentration nimmt auch die

Tabelle IX.

Abhängigkeit der katalytischen Wirksamkeit des Kupfers von der Calciumchloridkonzentration. Zusammensetzung der Lösung: 4 Teile NH_4Cl (1,5 norm.) + 1 Teil NH_3 (1,5 norm.). 0,5 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. $37,5^\circ$.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 4 ccm Lösung (in cmm)		
	2 mol. CaCl_2 ohne Schwermetallzusatz	0,5 mol. CaCl_2 + 0,02 mg Cu	2 mol. CaCl_2 + 0,02 mg Cu
20'	14,5	40,5	104,5
30	31,5	86,5	206
60	50	135	303

katalytische Wirksamkeit des Schwermetalls ab. Als Beispiel gebe ich Tabelle IX und Abb. 3 wieder. Q_{Cu} beträgt bei zweifach molarem Calciumchlorid 12700, bei 0,5 molarem Calciumchlorid 4300.

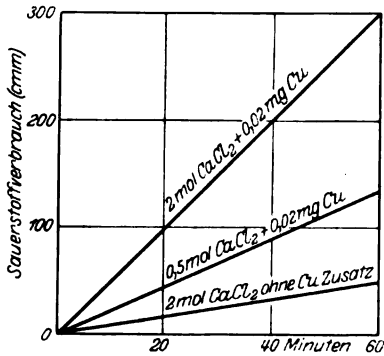


Abb. 3.

Abhängigkeit der katalytischen Wirksamkeit des Kupfers von der Calciumchloridkonzentration. Graphische Darstellung der Tabelle IX.

Die Hemmung der Oxydation durch Blausäure.

Fügt man zu einem Ammoniumchlorid-Ammoniak-Calciumchlorid-Fructosegemisch von einem p_H etwa 8,3 so viel Blausäure hinzu, daß die Blausäurekonzentration 10^{-3} mol. beträgt, so sinkt zunächst die Oxydationsgeschwindigkeit auf den Wert Null. 4 ccm des blausäurefreien Gemischs nehmen in dem angeführten Beispiel (Tabelle X, Abb. 4) in der ersten halben Stunde 146 cmm Sauerstoff auf, das blausäurehaltige Ge-

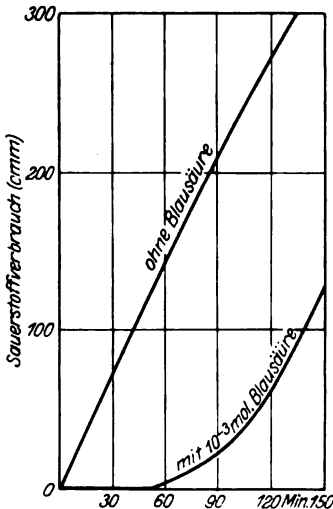


Abb. 4.
Hemmung der Oxydation durch Blausäure. Graphische Darstellung der Tabelle X

Tabelle X.

Einfluß der Blausäure auf die Oxydation der Fructose. Zusammensetzung der Lösung: zweifach molares Calciumchlorid, 1,5fach molares Ammoniumchlorid (4 Teile)-Ammoniak (1 Teil)-Gemisch. p_H etwa 8,5. 0,25 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. $37,5^\circ$.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 2 ccm Lösung (in cmm)	
	ohne Blausäure	mit Blausäure (10^{-3} mol.)
30'	73	0
60	146	3
120	271	61
150	326	126

misch dagegen 0 cmm. Gegen Ende der zweiten halben Stunde beginnt jedoch auch die blausäurehaltige Lösung in zunehmendem Maße Sauerstoff zu verbrauchen, und im Verlauf der dritten Stunde wird die Geschwindigkeit der Oxydation ebenso groß wie in der blausäurefreien Lösung. Die Wirkung der Blausäure ist also völlig reversibel. Fügt man nach der Erholung erneut Blausäure zur Lösung hinzu, so wird die Oxydation wiederum für eine Zeitlang gehemmt. — Die Blausäure bringt in gleicher Weise auch die Wirkung von zugesetztem Schwermetall zum Verschwinden.

Die Wirkung der Blausäure auf die Oxydation ist vom p_H abhängig, ebenso wie das *O. Meyerhof* und *K. Matsuoka*¹⁾ bei der Fructoseoxydation in Phosphatlösungen gefunden haben. Die Hemmung wird mit zunehmender Wasserstoffionenkonzentration kleiner. So hemmte z. B. 10^{-3} mol. Blausäure in einem Versuch bei p_H 7,4 nur noch bis zu 34 Proz. Diese Tatsache steht, wie *Meyerhof* und *Matsuoka* für ihren Fall ausführen, im Einklang mit der Annahme, daß die Oxydation eine Metallkatalyse ist und daß die antikatalytische Wirkung der Blausäure auf einer Reaktion mit dem Schwermetall beruht. Denn Metallcyanverbindungen — insbesondere das hier interessierende Kupfercyan — sind, wie *Meyerhof*²⁾ zeigte, bei neutraler Reaktion weniger beständig als bei ganz schwach alkalischer.

Will man das allmähliche Verschwinden der Blausäurewirkung erklären, so liegt es am nächsten, anzunehmen, daß die Blausäure nicht mehr wirkt, weil sie nicht mehr vorhanden ist. Um diese Annahme zu prüfen, habe ich die Konzentration der Blausäure in der Versuchslösung nach dem Verschwinden der Blausäurewirkung gemessen. Ich säuerte die Versuchslösung [1 Teil einfach normales Ammoniumchlorid + 2 Teile einfach normales Ammoniak. 1 Proz. Fructose, 10^{-3} mol. Blausäure³⁾] mit Schwefelsäure an und destillierte unter vorsichtigem Erwärmen die Blausäure in die eisgekühlte Vorlage (50 ccm n/50 Natronlauge) über. In der Vorlage titrierte ich die Blausäure nach *Denigès*⁴⁾ mit n/100 Silbernitrat. Wurden 10 ccm Versuchslösung sofort nach dem Zugeben der Blausäure destilliert, so erhielt ich etwa 90 Proz. der zugegebenen Blausäure wieder.

Nach sechsständigem Schütteln der Lösung mit Luft bei 37,5° war die (anfängs fast vollständige) Hemmung der Oxydation ver-

1) *O. Meyerhof* und *Matsuoka*, diese Zeitschr. 150, 1, 1924.

2) *O. Meyerhof*, Pflügers Arch. 200, 9, 1923; siehe auch *H. Blaschko*, diese Zeitschr. 175, 68, 1926.

3) Da 10^{-4} mol. Blausäure hier bereits ebenso stark hemmte wie 10^{-3} mol. Blausäure, so war in dieser Lösung durch den Katalysator nur ein kleiner Bruchteil der Blausäure gebunden.

4) *A. Classen*, Theorie und Praxis der Maßanalyse, S. 655.

schwunden. Bei der Bestimmung fand ich jetzt keine Blausäure. Damit ist das Verschwinden der Oxydationshemmung erklärt.

Der Vorgang, durch den die Blausäure aus der Lösung herausgenommen wird, ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Bildung des Cyanhydrins der Fructose¹⁾. Nach *Kiliani*²⁾ entsteht das Cyanhydrin der Fructose in Gegenwart von Ammoniak mit erheblicher Geschwindigkeit bereits bei Zimmertemperatur; die Bedingungen für das Entstehen des Cyanhydrins sind in unserer Versuchsanordnung also gegeben.

Hemmung der Oxydation durch Schwefelwasserstoff.

Schwefelwasserstoff hemmt die Atmung lebender Zellen nach Versuchen von *E. Negelein*³⁾ in etwa gleichen Konzentrationen wie Blausäure. Es lag daher nahe, in unserem Falle die Wirkung des Schwefelwasserstoffs zu untersuchen.

Tabelle XI und Abb. 5 geben einen Schwefelwasserstoffversuch wieder. 10^{-4} mol. Schwefelwasserstoff hemmt die Geschwindigkeit der Oxydation um 75 Proz.⁴⁾

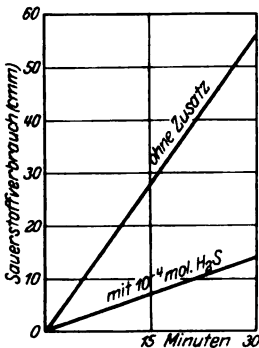


Abb. 5. Hemmung der Oxydation durch Schwefelwasserstoff. Graphische Darstellung der Tab. XI.

Tabelle XI.

Hemmung der Fructoseoxydation durch Schwefelwasserstoff. Zusammensetzung der Lösung: 1 Teil 0,25 norm. Ammoniumchlorid + 1 Teil 0,25 norm. Ammoniak (p_H etwa 8,9). 8 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 3 ccm Lösung (in cmm)	
	ohne Zusatz	mit 10^{-4} mol. Schwefelwasserstoff
15'	28,5	7
30	56	14

Hemmung der Oxydation durch Pyrophosphat.

Pyrophosphat ist ein Komplexbildner, der Schwermetallkatalysen (Cysteinoxydation) hemmt⁵⁾.

¹⁾ Die Blausäure ist nicht etwa durch Luftsauerstoff oxydiert worden, denn die blausäurehaltige Lösung nimmt, wie aus Tabelle X hervorgeht, in der ersten Versuchszeit keinen Sauerstoff auf.

²⁾ *H. Kiliani*, Chem. Ber. 18, 3066, 1885.

³⁾ *E. Negelein*, diese Zeitschr. 165, 203, 1925.

⁴⁾ Ich erwähne, daß Schwefelwasserstoff in ammoniakalischer Lösung durch Luftsauerstoff oxydiert wird. Daher verschwindet hier die antikatalytische Wirkung des Schwefelwasserstoffs nach einigen Stunden.

⁵⁾ *O. Warburg* und *S. Sakuma*, Pflügers Arch. 200, 203, 1923; diese Zeitschr. 142, 68, 1923.

Auch in unserem System wird die Oxydation durch Pyrophosphat gehemmt (Tabelle XII, Abb. 6). Unter den gegebenen Versuchsbedingungen hemmt m/100 Pyrophosphat 24 Proz., m/20 Pyrophosphat 56 Proz.

Tabelle XII.

Hemmung der Fructoseoxydation durch Pyrophosphat. Zusammensetzung der Lösung 4 Teile einfach normales Ammoniumchlorid + 1 Teil einfach normales Ammoniak (p_H etwa 8,3). 4 Proz. Fructose. 37,6°. Gasraum: Luft.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)		
	ohne Zusatz	mit 10^{-3} mol. Natriumpyrophosphat	mit $5 \cdot 10^{-3}$ mol. Natriumpyrophosphat
15'	81,5	62	35,5
30	164	125	72

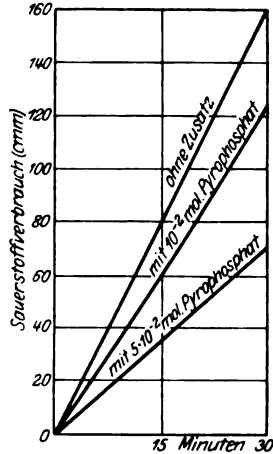


Abb. 6. Hemmung der Oxydation durch Pyrophosphat. Graphische Darstellung der Tabelle XII.

3. Die Oxydation von Glucose, Fructose, Galaktose, Mannose, Maltose.

Wir untersuchten unter Bedingungen, die nach den Versuchen mit Fructose für die Oxydation besonders günstig sind, andere Kohlehydrate und fanden bei der gewählten Versuchsanordnung (vgl. die Legende zu Tabelle XIII), daß auch Glucose, Galaktose, Mannose und das Disaccharid Maltose mit erheblicher Geschwindigkeit verbrennen. Rohrzucker wird nicht oxydiert. Glucose verbrauchte in der Stunde 0,21 Proz. ihres Gewichts an Sauerstoff, Galaktose 0,17 Proz., Mannose 0,099 Proz., Maltose 0,093 Proz.

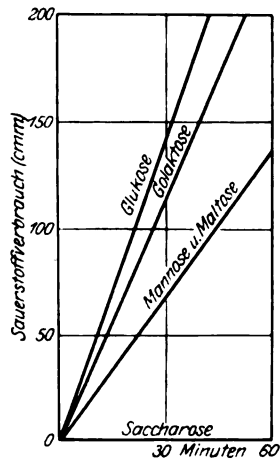


Abb. 7. Graphische Darstellung der Tabelle XIII.

Tabelle XIII.

Oxydation verschiedener Kohlehydrate. Zusammensetzung der Lösung: 4 Teile 1,5 n NH_4Cl + 1 Teil 1,5 n NH_3 (p_H etwa 8,4); 2 mol. $CaCl_2$; 0,1 mg Cu (als $CuSO_4$) in 10 ccm; je 200 mg Zucker. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)			
	Glucose (Merck)	Mannose (Kahlbaum)	Galaktose (Kahlbaum)	Maltose (Kahlbaum)
30'	141	68	116	66
60	290	138	235	130,5

Auch bei diesen Kohlehydraten steigert — soweit die Erfahrungen reichen — Schwermetallzusatz (Kupfer, Mangan, Eisen) die Geschwindigkeit der Oxydation. Als Beispiel sei Tabelle XIV angeführt ($Q_{Cu} = 4700$, $Q_{Mn} = 3400$, $Q_{Fe} = 2000$).

Tabelle XIV.

Beschleunigung der Glucoseoxydation durch Schwermetalle. Zusammensetzung der Lösung: 4 Teile 1,5 n NH_4Cl + 1 Teil 1,5 mol. NH_3 (p_H etwa 8,4), 2 mol. $CaCl_2$, 5 Proz. Glucose. Gasraum: Luft. $37,5^\circ$.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)			
	ohne Zusatz	+ 0,15 mg Cu (als $CuSO_4$)	+ 0,15 mg Fe (als $FeCl_3$)	+ 0,15 mg Mn (als $MnSO_4$)
30'	33	387	188	296
60	70,5	767	363	575

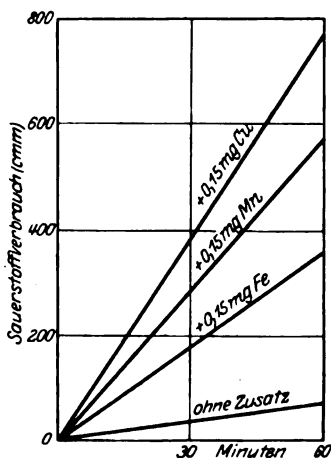


Abb. 8.

Beschleunigung der Glucoseoxydation durch Schwermetalle.
Graphische Darstellung der Tabelle XIV.

4. Die Oxydation von Fructose und Glucose in Ammoniumphosphatlösungen.

Ersetzt man das Ammoniumchlorid durch äquivalente Mengen von Ammoniumsulfat oder Ammoniumnitrat, so bleibt die Geschwindigkeit der Fructoseoxydation etwa gleich groß. In Ammoniumphosphat dagegen addiert sich die Ammoniakwirkung mit der früher¹⁾ beschriebenen Phosphatwirkung. Bei gleicher molarer Konzentration (in bezug auf Phosphat) und bei etwa gleichem p_H ist in Ammoniumphosphat die Geschwindigkeit der Oxydation etwa doppelt so groß wie im Sörensenschen Natrium-Kaliumphosphat (Tabelle XV. Abb. 9).

¹⁾ O. Warburg und M. Yabusoe, diese Zeitschr. 146, 380, 1924.

Tabelle XV.

Vergleich der Oxydationsgeschwindigkeit der Fructose in Ammoniumphosphat und Natriumphosphat. Die Ammoniumphosphatlösung bestand aus 19 Teilen 0,5 mol. sekundären $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ und 1 Teil 0,5 mol. tertiären $[(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4]$ Ammoniumphosphat (p_{H} etwa 8,2). Die Natriumphosphatlösung enthielt die Sörensen-schen Salze im Verhältnis 30:1 (sekundär zu primär) in 0,5 mol. Konzentration (p_{H} etwa 8,2). Fructose 2 Proz. Gasraum: Luft. 37,5°.

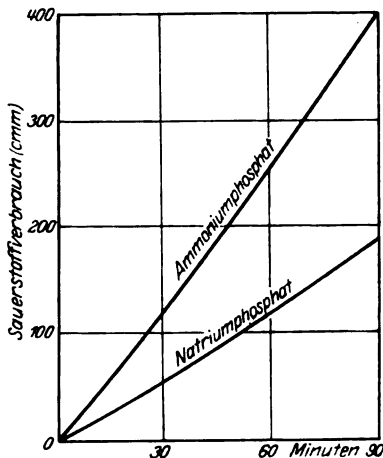


Abb. 9.

Vergleich der Fructoseoxydation in Natriumphosphat und Ammoniumphosphat. Graphische Darstellung der Tabelle XV.

Auch *Glucose* verbrennt in konzentriertem Ammoniumphosphat (in zweifach molarem $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, p_{H} etwa 7,9). Die Geschwindigkeit der Oxydation ist in der ersten Stunde klein; sie nimmt aber allmählich zu und ist in der vierten Stunde etwa 15 mal kleiner als die maximale Geschwindigkeit der Fructoseoxydation unter gleichen Bedingungen (Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Oxydation von Fructose und Glucose in sekundärem Ammoniumphosphat $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$. p_{H} etwa 7,9. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm)	
	2 Proz. Fructose in zweifach mol. sekund. Ammoniumphosphat	2 Proz. Glucose in zweifach mol. sekund. Ammoniumphosphat
60'	744	10
60	711	28,5
60	482	44,5
60	386	52

Zusatz von 10^{-4} mol. Eisen (FeSO_4) beschleunigte die Geschwindigkeit der Glucoseoxydation um etwa 75 Proz. (Tabelle XVII, Abb. 10).

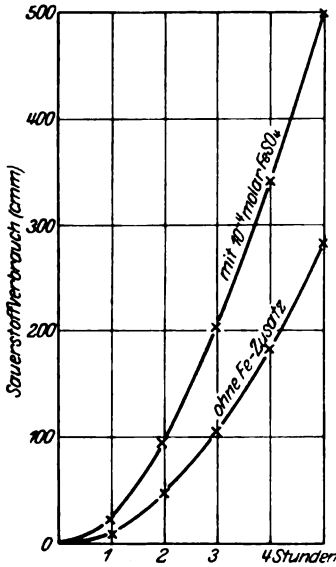


Abb. 10. Beschleunigung der Glucoseoxydation in Ammoniumphosphat durch Eisen. Graphische Darstellung der Tabelle XVII.

Tabelle XVII.

Beschleunigung der Glucoseoxydation in Ammoniumphosphatlösung durch Eisen. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 10 ccm Lösung (in cmm) 4 Proz. Glucose in zweifach mol. sekund. Ammoniumphosphat	
	ohne Zusatz	+ 10 ⁻⁴ mol. FeSO ₄
60'	7.5	23
120	46.5	96
180	105.5	206
240	182	341
300	282	502

Bei der Verbrennung der Fructose in sekundärem Ammoniumphosphat entsteht pro Mol verbrauchten Sauerstoffs 0,14 Mol Kohlensäure (Tabelle XVIII; in Natriumphosphat entsteht 0,3 Mol).

Tabelle XVIII.

Gasraum: Luft. 37,5°.

Trog I.	Trog II.	Trog III.
Hauptraum: 10 ccm 2proz. Fructose in einfach mol. sekund. Ammonphosphat.	Hauptraum: 10 ccm 2proz. Fructose in einfach mol. sekund. Ammonphosphat.	Hauptraum: 10 ccm 2proz. Fructose in einfach mol. sekund. Ammonphosphat.
Einsatz: 1 ccm 5proz. KOH.	Einsatz: 1,5 ccm dreifach norm. Schwefelsäure.	Einsatz: 1,5 ccm dreifach norm. Schwefelsäure.
$v_G = 18,3$ ccm. $v_F = 11$ ccm $k_{O_2} = 1,64.$	$v_G = 14,2$ ccm, $v_F = 11,5$ ccm $k_{O_2} = 1,28$ $k_{CO_2} = 1,77.$	$v_G = 13,7$ ccm, $v_F = 11,5$ ccm $k_{CO_2} = 1,73.$
Nach 45' — 195,5 mm $x_{O_2} =$ — 321 cmm	Nach 45' — 248 mm $x_{CO_2} =$ + 4 cmm nach Einkippen der Schwefelsäure: + 120 mm = + 213 cmm CO ₂	Nach Einkippen der Schwefelsäure zur Zeit t^0 : + 100 mm „präformierte“ CO ₂ = 173 cmm. CO ₂ = 4 + 213 — 173 O ₁ = — 321 = 44 = 321 = 0.14

Kohlensäurebildung bei der Fructoseoxydation in Ammoniumphosphat. Zur Versuchsanordnung siehe O. Warburg und M. Yabusoe, diese Zeitschr. 146, 380, 1924.

C. Oxydation von Kohlehydraten in Bicarbonatlösungen.

Tabelle XIX und Abb. 11 zeigen die Oxydation der Fructose in bicarbonathaltiger Lösung, ihre Beschleunigung durch

Tabelle XIX.

Fructoseoxydation in bicarbonathaltiger Lösung und ihre Beeinflussung durch Schwermetalle, Blausäure, Pyrophosphat und Schwefelwasserstoff. Zusammensetzung der Lösung: 3 Teile 0,5 n Natriumbicarbonat + 1 Teil 0,5 n Natriumcarbonat (p_H etwa 8,9); 1 Proz. Fructose. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 2 ccm Lösung (in cmm)							
	ohne Zusatz	mit 0,005 mg Kupfer (als $CuSO_4$)	mit 0,005 mg Mangan (als $MnSO_4$)	mit 0,005 mg Eisen (als $FeCl_3$)	mit 10 ⁻⁴ mol. Blausäure	mit 10 ⁻³ mol. Pyrophosphat	mit 10 ⁻³ mol. Pyrophosphat	mit 10 ⁻³ mol. Schwefelwasserstoff
30'	61	169.5	182	66.5	0	5	29	4.5
60	125	340	364	136.5	2	11	61	8

Schwermetall (Kupfer, Mangan, Eisen) und ihre Hemmung durch Blausäure, Pyrophosphat und Schwefelwasserstoff (bei p_H etwa 8,9). In der Lösung ohne jeden Zusatz werden pro Stunde 0,88 Proz. des Fructosegewichts an Sauerstoff verbraucht, Zusatz von $\frac{1}{200}$ mg Kupfer (in Form von $CuSO_4$) oder $\frac{1}{200}$ mg Mangan (in Form von $MnSO_4$) steigert die Geschwindigkeit der Oxydation auf etwa das Dreifache ($Q_{Cu} = 42000, Q_{Mn} = 48000$). $\frac{1}{200}$ mg Eisen (in Form von $FeCl_3$) steigert um etwa 12 Proz. ($Q_{Fe} = 3000$).

10⁻⁴ mol. Blausäure hemmt die Oxydation vollständig. Die Hemmung dauerte in diesem Versuch 3 Stunden an. Dann nahm die Geschwindigkeit der Oxydation zu und erreichte den Wert der blausäurefreien Lösung.

10⁻³ mol. Schwefelwasserstoff hemmt die Oxydation 97 Proz., 10⁻² mol. Pyrophosphat 90 Proz., 10⁻³ mol. Pyrophosphat 50 Proz.

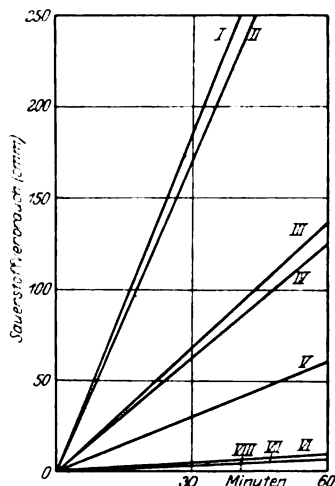


Abb. 11. Graphische Darstellung der Tabelle XIX. Kurve IV ohne Zusatz; Kurve I mit $\frac{1}{200}$ mg Mangan; Kurve II mit $\frac{1}{200}$ mg Kupfer; Kurve III mit $\frac{1}{200}$ mg Eisen; Kurve V mit 10⁻² mol. Pyrophosphat; Kurve VI mit 10⁻³ mol. Pyrophosphat; Kurve VII mit 10⁻³ mol. Schwefelwasserstoff; Kurve VIII mit 10⁻⁴ mol. Blausäure.

Bei der Oxydation entsteht aus Fructose keine Kohlensäure. Denn titriert man nach der Vorschrift von *C. Winkler*¹⁾ das Carbonat und das Bicarbonat am Anfang und am Ende des Versuchs, so findet man, daß für jedes Molekül Bicarbonat, das hinzukommt, ein Molekül Carbonat verschwindet. Wäre Kohlensäure aus Fructose neu gebildet, so wären aus einem Molekül Carbonat zwei Moleküle Bicarbonat entstanden.

Mit zunehmender Wasserstoffionenkonzentration nimmt die Oxydationsgeschwindigkeit ab. So wurden bei p_H etwa 7,8 (Versuchslösung: 0,5 mol. Natriumbicarbonat, 6 Proz. Fructose; Gasraum: 21,7 Vol.-Proz. Kohlensäure in Sauerstoff; 37,5°) in der Stunde 0,06 Proz. des Fructosegewichts an Sauerstoff verbraucht (gegen 0,88 Proz. bei p_H 8,9).

Tabelle XX zeigt, daß auch Glucose, Galaktose, Mannose und Maltose in bicarbonathaltiger Lösung bei Gegenwart von Schwermetall mit erheblicher Geschwindigkeit oxydiert werden. Glucose verbraucht pro Stunde 0,31 Proz. ihres Gewichts an Sauerstoff, Galaktose 0,29 Proz., Mannose 0,26 Proz., Maltose 0,15 Proz.

Tabelle XX.

Oxydation von Glucose, Galaktose, Maltose, Mannose in bicarbonathaltiger Lösung. Zusammensetzung der Lösung: 3 Teile 0,5 n Natriumbicarbonat + 1 Teil 0,5 n Natriumcarbonat (p_H etwa 8,9). Je 5 ccm enthalten 0,1 mg Kupfer (in Form von $CuSO_4$ zugegeben) und 0,250 g des betreffenden Zuckers. Gasraum: Luft. 37,5°.

Zeit	Sauerstoffverbrauch von 5 ccm Lösung in cmm			
	Glucose (Merck)	Galaktose (Kahlbaum)	Maltose (Kahlbaum)	Mannose (Kahlbaum)
20'	69	73	32,5	55
40	146	135	70	121

¹⁾ Siehe *A. Classen*, Theorie und Praxis der Maßanalyse, S. 140.

Goldsol und Proteine.

Von

Mona Spiegel-Adolf.

(Aus dem Institut für medizinische Kolloidchemie der Universität Wien.)

(Eingegangen am 19. November 1926.)

I.

Die Beziehungen von Goldsol zu Eiweißlösungen in ihren verschiedenartigen Erscheinungsformen sind bereits seit langer Zeit der Gegenstand theoretischer Untersuchungen und klinischer Verwertung gewesen. Besonders *R. Zsigmondy* und seine Schüler haben sich eingehend mit diesem Problem beschäftigt und in neuerer Zeit auch eine zusammenfassende Darstellung samt Versuch einer theoretischen Erklärung gegeben¹⁾. Dennoch dürfte die Veröffentlichung der hier gebrachten Versuche, die zum Teil schon mehrere Jahre zurückliegen, nicht ganz der Berechtigung entbehren. Im Bestreben, die verwickelten Verhältnisse der Schutz- und Umschlagswirkung besser überblicken zu können, wurden die Untersuchungen im vorliegenden Falle auf Anregung Prof. *Paulis* an einem physikalisch-chemisch möglichst genau definierten Material ausgeführt.

Materialbeschreibung. Das verwendete Goldsol wurde aus nach *Zsigmondys* Vorschrift hergestelltem Formolgoldsol nach der im Laboratorium geübten Methode durch Dialyse im Faltendialysator²⁾ unter Verwendung von paraffinierten Glaswannen von Elektrolytbeimengungen befreit. Die Beendigung der Reinigung ist am Konstantwerden eines gewissen Minimalwertes der Leitfähigkeit zu erkennen. Dabei wurde die Reaktion des Soles während der Dialyse sauer. Diese adialysablen H-Ionen lassen sich potentiometrisch im Flockungfiltrat³⁾ und durch Leitfähigkeitstitration⁴⁾ im Sole

¹⁾ *E. Joël*, Das kolloide Gold in Biologie und Medizin. Leipzig, Akad. Verlagsges., 1925 (das. Lit.).

²⁾ *A. Erlach* und *Wo. Pauli*, Kolloid-Zeitschr. **84**, 213, 1924.

³⁾ *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, ebendasselbst **84**, 29, 1924; *E. Kautzky* und *Wo. Pauli*, Kolloidchem. Beiträge **17**, 294, 1923.

⁴⁾ *L. Fuchs* und *Wo. Pauli*, Kolloidchem. Beih. **21**, 195, 1926; *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, l. c.

nachweisen. Untersuchungen von *Pauli* und *Fuchs* haben gezeigt, daß die H⁺-Ionen weder auf eine aus dem Pergament der Dialysiersäcke entstammende organische Säure, noch auf Kieselsäure (aus den Glasgefäßen) zu beziehen sind. *Pauli*¹⁾ läßt sie dem invisiblen Anteil des Goldsols entsprechen. Gröberteilige Sole ohne invisible Anteile lassen bei minimaler Leitfähigkeit keine titrierbaren H-Ionen erwarten. In den vorliegenden Untersuchungen wurden beide Arten von Sol herangezogen. Die Herstellungsweise sowie die analytischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften der verwendeten Sole gehen aus der nachstehenden Zusammenstellung hervor:

Tabelle I.

Nr.	Goldsol	$K_{\text{unkorr.}}$	CH	Goldgehalt
I.	Formol, dialys.	$9,71 \cdot 10^{-6}$	$11,4 \cdot 10^{-6}$	44 mg/Liter
II.		$6,62 \cdot 10^{-6}$	titr. neutr.	—
III.	<i>Bredig</i> ⁿ , undialys. ⁿ 2)	$2,6 \cdot 10^{-6}$	$4,54 \cdot 10^{-6}$	60 mg/Liter
IV.	IV = III neutral.	—	titr. neutr.	—
V.	Formol, undialys.	—	$4,15 \cdot 10^{-7}$	—

An Eiweißkörpern wurden Serumalbumin, Pseudo- und Euglobulin, Ovalbumin und Gelatine herangezogen. Zur Darstellung und Reinigung von Ser- und Ovalbumin und Gelatine wurden die in einer vorangegangenen Arbeit gemeinsam mit *Wo. Pauli*³⁾ geübten Verfahren verwendet, das Euglobulin, gemäß den früheren⁴⁾ Angaben, durch Dialyse und Elektrodialyse aus pathologischen Flüssigkeiten dargestellt. Zur Erzielung einer elektrolyt-freien Pseudoglobulinlösung⁵⁾ wurde dieselbe nach Entfernung der Drittelsättigungsfraction durch Halbsättigung mit Ammonsulfat aus Pferdeserum gefällt, sechsmal umgefällt, auf dem Filter mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen (im Waschwasser waren nur ganz geringfügige, durch Sulfosalicylsäure darstellbare Spuren von in halbgesättigter Ammonsulfatlösung löslichem Eiweiß nachweisbar). Der Pseudoglobulinniederschlag wird in destilliertem Wasser aufgenommen, bis zur Leitfähigkeit $5,36 \cdot 10^{-5}$ gegen destilliertes Wasser im Faltendialysator dialysiert, hierauf bis zur Leitfähigkeit $k = 3,7 \cdot 10^{-6}$ (unkorrigiert) bei Verwendung von zwei Pergamentmembranen elektrodialysiert⁶⁾. Der Trockengehalt beträgt 1,2 Proz. Durch Drittelsättigung mit Ammonsulfat ist keine wahrnehmbare Trübung erreichbar. Der Trockengehalt und die physikalisch-chemischen Daten der verwendeten Eiweißlösungen sind aus Tabelle II ersichtlich.

1) *Wo. Pauli*, Kolloid-Zeitschr. 88, 22, 1926.

2) Aus einer noch unveröffentlichten Untersuchung von *Pauli* und *Fischer*.

3) *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, diese Zeitschr. 152, 360, 1924.

4) *M. Adolf*, Kolloidchem. Beih. 17, 1, 1923.

5) Nach unveröffentlichten, gemeinsam mit Prof. *Pauli* ausgeführten Versuchen.

6) Vgl. *M. Spiegel-Adolf*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Artikel „Elektrodialyse“, Bd. III, b.

Tabelle II.

Protein	Trocken- gehalt Proz.	Leit- fähigkeit = <i>K</i> unkorr.	<i>C_H</i>	Herstellungswaise
Seralbumin a .	1,6	—	—	(NH ₄) ₂ SO ₄ -Fraktionierg. Dialyse, Elektrodialyse
" b .	1,2	6,67 · 10 ⁻⁶	5,71 · 10 ⁻⁶	Dialyse, Elektrodialyse b. wiederholt. Salzzusatz
" c .	0,4	5,46 · 10 ⁻⁶	5,20 · 10 ⁻⁶	wie b
Ovalbumin a . .	4,3	1,5 · 10 ⁻⁶	1,75 · 10 ⁻⁵	Dialyse, Elektrodialyse b. wiederholt. Salzzusatz
" b . .	0,8	8,4 · 10 ⁻⁶	1,63 · 10 ⁻⁵	wie a
" c . .	2,0	1,1 · 10 ⁻⁶	—	wie a
Pseudoglobulin .	1,2	3,7 · 10 ⁻⁶	1,32 · 10 ⁻⁶	(NH ₄) ₂ SO ₄ -Fraktionierg. Dialyse, Elektrodialyse
Euglobulin in n/10 KCl . .	2,3	1,24 · 10 ⁻³	5,14 · 10 ⁻⁶	Dialyse, Elektrodialyse. Neutral. d. alkal. Lsg. b. Salzüberschuß
Gelatine „Gold“ dialys.	5,2	1,6 · 10 ⁻⁵	1,45 · 10 ⁻⁵	Dialyse, Elektrodialyse
Gelatine „Gold“ undialys. . . .	1,0	3,28 · 10 ⁻⁴	—	
Gelatine franz. undialys. . . .	1,0	3,93 · 10 ⁻⁴	—	
Gelatine franz. dialys.	1	1,11 · 10 ⁻⁵	—	

II.

Es wurde zunächst der Einfluß von steigenden Mengen der wasserlöslichen Proteine auf die Stabilität des Goldsols untersucht. Wegen ihres besonderen Verhaltens erscheint es zweckmäßig, die Gelatine getrennt zu behandeln. Das Ergebnis der diesbezüglichen Versuche war folgendes: Ser- und Ovalbumin sowie Pseudoglobulin bewirken in gewissen Konzentrationen einen Farbumschlag des roten Goldsols. Die fällenden Konzentrationen gehen aus der nachstehenden kleinen Zusammenstellung hervor.

Tabelle III¹⁾.

Protein	Goldsol I mg/ccm	Goldsol II mg/ccm	Goldsol III mg/ccm	Goldsol IV mg/ccm
Seralbumin a	0,08	0,09	—	—
" b	—	1,04	—	—
" c	—	0,36	0,20	0,20
Ovalbumin a	1,2	—	—	—
" b	1,2	—	—	—
" c	1,2	1,25	—	—
Pseudoglobulin	0,1	0,09	—	—

¹⁾ Goldsol I bis IV, vgl. Tabelle I, Ser- und Ovalbumin 1 bis 4, vgl. Tabelle II.

Die hier angegebenen Konzentrationen stellen Durchschnittswerte dar.

Dazu wäre zu bemerken, daß die verschiedenen Werte für das Serumalbumin von verschiedenen hergestellten Präparaten herkommen. Beobachtungen, wonach die Vorbehandlung des Albumins von Einfluß auf dessen Beziehungen zum Goldsol ist, liegen in der Literatur vor¹⁾.

Drei auf gleiche Weise gewonnene Präparate von Ovalbumin weisen hingegen genau die gleichen Umschlagskonzentrationen auf. Serumalbumin, das durch Ammonsulfatfraktionierung mit nachfolgender Dialyse und Elektrodialyse, also auf eine ganz ähnliche Weise wie das Pseudoglobulin hergestellt worden war, gab Werte derselben Größenordnung für die Umschlagskonzentration. Das Verhalten des dialysierten Goldsols zu elektrolytfreien Proteinlösungen scheint zu einer Differenzierung derselben nicht geeignet zu sein. Die weiteren Zusätze von Eiweiß bis in relativ hohe Konzentrationen für Ovalbumin 5,0 mg pro 1 ccm, für Serumalbumin 50,0 mg pro 1 ccm, für Pseudoglobulin 1,0 mg pro 1 ccm, bewirken keine sichtbare Änderung des einmal erfolgten Umschlags. Alle Versuche, die den hier mitgeteilten Ergebnissen zugrunde liegen, wurden mit genau den gleichen Resultaten an H-Ionen-haltigen und H-Ionen-freien Goldsolen ausgeführt. Auf die Tatsache, daß die untersuchten reinen Eiweißlösungen in Goldsolen einen Farbumschlag hervorrufen, bleibt es ohne nennenswerten Einfluß, ob das betreffende Sol titrimetrisch nachweisbare freie H-Ionen aufwies oder nicht. Um jedoch dieses Verhalten ganz sicherzustellen, wurde ein durch elektrische Zerstäubung hergestelltes H-Ionen-haltiges Goldsol mit genau derjenigen Menge Na-Lauge versetzt, welche zur Erreichung des tiefsten Punktes der Leitfähigkeitstitrationskurve notwendig ist. Ein solches Sol enthält weder freie H-Ionen noch NaOH. Es konnte nur festgestellt werden, daß ein so behandeltes Sol gegenüber dem oben verwendeten Serumalbumin das gleiche Verhalten zeigt wie das H-Ionen-haltige vor der Neutralisierung.

Vergleichen wir zunächst die in der Literatur niedergelegten Ergebnisse mit den vorliegenden Befunden, so zeigt sich, daß die letzteren eine Bestätigung der Resultate von *Pauli* und *Flecker*²⁾ bilden. Denn diese Autoren haben festgestellt, daß lange dialysiertes globulinfreies Serumweiß, welches also eine Mischung von Albumin und Pseudoglobulin darstellt, auf Goldsol färend wirkt. Ebenso haben *Heubner* und *Jakobs* zeigen können, daß ihre sämtlichen sorgfältig gereinigten Albumin- und Globulinlösungen die Farbe der Goldsollösung spontan gegen Violett änderten³⁾.

Diese Befunde haben von *Zsigmondy* und seinen Schülern (so *J. Reitstötter*) eine doppelte Kritik erfahren. Einerseits wurde von *Zsigmondy* der Einwand gemacht, daß das von *Pauli* und *Flecker* verwendete Eiweiß durch die achtwöchige Dialyse verändert worden sei. Als besonderes

¹⁾ Vgl. hierzu *W. Heubner* und *Fr. Jakobs*, diese Zeitschr. **58**, 352, 1913; *A. Fodor*, Die Grundlagen der Dispersoidchemie. Steinkopff 1925; *M. Spiegel-Adolf*, diese Zeitschr. **170**, 126, 1926.

²⁾ *Wo. Pauli* und *L. Flecker*, diese Zeitschr. **41**, 482, 1912.

³⁾ Anmerkung während der Korrektur: Auch *R. Wernicke* und *F. Modern* (Rev. d. l. Soc. Argent. d. Biolog. Jg. **2**, 143, 1926) bestätigen die Befunde der *Pauli*-schen Schule.

Kriterium für diese Behauptung wird die ohne weiteren Säurezusatz nachweisbare Hitzekoagulierbarkeit dieses Proteins angeführt, welche von *Pauli* als Kriterium der genügenden Reinheit betrachtet wird. Nun wurde aber in einer früheren eingehenden Untersuchung¹⁾ der Nachweis erbracht, daß das mit Elektrodialyse behandelte Seralbumin das gleiche Verhalten zeige, wie das durch protrahierte Dialyse hergestellte. Ferner wurde gezeigt, daß ein solches sauer reagierendes Albumin ohne weiteren Zusatz beim Erhitzen koaguliert, entsprechend der von *Sörensen* und *Jürgensen*²⁾ geäußerten Vermutung, daß die saure Reaktion, die am günstigsten für die Koagulation einer reinen Eiweißlösung erscheine, bestimmt ist durch die eigene Reaktion des Eiweißes.

Den zweiten Einwand gegen die *Pauli-Fleckerschen* Versuche bzw. den Versuch einer Erklärung derselben bringt *Joël*. Von der Angabe in der Arbeit von *M. Adolf* und *Wo. Pauli* ausgehend, daß das dialysierte Goldsol sauer reagiere, ist Verfasser geneigt, die Proteinfällung des dialysierten Sols derjenigen gleichzusetzen, welche Eiweiß in angesäuertem Formolsol hervorbringt. Der obige Versuch, welcher dartut, daß die Eiweißfällung des Goldsols auch dann nachweisbar ist, wenn das letztere sicher neutral reagiert, dürfte genügen, um die Erklärung von *Joël* abzulehnen. Ebenso geht aus denselben hervor, daß ohne im Gegensatz zu andersartigen Beobachtungen von *H. A. Krebs* zu stehen, die geringe H-Ionenkonzentration unseres dialysierten Goldsols keinesfalls als „einer der wesentlichen Faktoren für die Reaktion zwischen Goldsol und Eiweißkörper zu betrachten ist“³⁾. Für die oben gebrachte Auffassung spricht auch das Folgende: *Joël* hat die Reaktionen des sauren Goldes mit Eiweiß „als Spezialfall der gegenseitigen Fällung entgegengesetzt geladener Kolloide aufgefaßt“. Für diese Reaktion erscheint es jedoch charakteristisch, daß bei überschüssigem Zusatz des einen Kolloids eine Wiederauflösung des Niederschlags erfolgt, wobei der entstehende Komplex die Ladung des in größerer Menge vorhandenen Bestandteils trägt. Ein solches Verhalten ist auch für die Reaktion von Goldsol mit Eiweißsalzen (s. weiter unten) kennzeichnend. Nun ist im obigen der Nachweis erbracht worden, daß selbst ein recht beträchtlicher Eiweißüberschuß keine Wiederauflösung des Niederschlags bewirkt. Trotzdem erscheint es möglich, die Fällung des Goldsols durch elektrolytfreie Proteine und die fehlende Wiederauflösung im Überschuß derselben auf Reaktion entgegengesetzt geladener Kolloide zurückzuführen. Positiv wirkende Gruppen dürften die oben untersuchten Proteine bei der in Betracht kommenden, der isoelektrischen nahestehenden Reaktion in genügendem Maße enthalten, wie dies auch in ihrem Zwitterionencharakter zum Ausdruck kommt. Diese Auffassung vertreten z. B. *W. Reinders* und *W. M. Bendien*⁴⁾. Diese nehmen an, daß, falls bei einem Gelatinemolekül die dasselbe aufbauende Kette genügend lang und verzweigt ist, so daß die verschiedenen geladenen Gruppen voneinander wenig beeinflusst werden, es

¹⁾ *M. Spiegel-Adolf*, l. c.

²⁾ *S. P. L. Sörensen* und *E. Jürgensen*, diese Zeitschr. **81**, 397, 1911.

³⁾ *H. A. Krebs*, *Klin. Wochenschr.*, 4. Jahrg., Nr. 27, 1925, S. 1289.; diese Zeitschr. **159**, 311, 1925.

⁴⁾ *W. Reinders* und *W. M. Bendien*, *Chem. weekbl.* **22**, 481, 1925. Nach einem Referate von *Zehuisen* (Utrecht), *Ber. über d. ges. Physiol. u. Pharm.* **85**, 379, 1926.

möglich sei, daß in neutraler oder selbst in schwach alkalischer Lösung „ungeachtet des Übergewichts der negativen Gruppen auch die Wirkung der positiven derartig geltend wird, daß sie ein negatives Goldteilchen zu binden vermögen“. Weiter wäre der Gedanke naheliegend, daß eine Verstärkung dieser positiven Ladung des Proteins durch die Reaktion desselben mit CO_2 hervorgerufen wird. Entgegen früher geäußerten Ansichten¹⁾ über den Reaktionsmechanismus der letzteren mit Albumin hat *Pauli*²⁾ sich einer Auffassung zugewandt, wonach auch die Kohlensäure mit dem Eiweiß nach dem Typus der normalen Säurebindung reagiert. Die eingangs erwähnten Versuche waren mit Eiweißlösungen ausgeführt worden, die mit der kohlenstoffreichen Laboratoriumsluft im Gleichgewicht waren. Nun ist bereits in der oben erwähnten Mitteilung gezeigt worden, daß die unmittelbar nach der Elektrodialyse sehr geringe Leitfähigkeit der Eiweißlösungen beim Stehen beträchtlich ansteigt. Die Tatsache wurde damals auf eine Reaktion mit der CO_2 der Luft zurückgeführt. Von dieser Feststellung ausgehend, wurde die Reaktion des Goldsols mit unmittelbar aus dem Elektrodialyseapparat entnommenen Eiweißlösungen ausgeführt und dieselben tunlichst vor Luftzutritt geschützt. Bei der zur Verfügung stehenden, recht primitiven Versuchsanordnung (Beschleunigung der notwendigen Hantierungen und Abschluß unter Paraffin) erscheint es vielleicht begreiflich, daß die Resultate nicht immer genau reproduzierbar waren. Sie sollen daher noch den Gegenstand einer eingehenden Untersuchung mit vervollkommener Methodik bilden. Jedoch konnte mehrmals, sowohl beim Ser- als auch beim Ovalbumin festgestellt werden, daß dieselben unmittelbar nach ihrer Entnahme aus dem Elektrodialysierapparat keine Fällung im Goldsol hervorriefen. Diese blieb auch aus, wenn die möglichst rasch hergestellte Goldsol-Eiweißmischung unter Paraffin luftdicht eingeschlossen wurde. Wenn nach 24 Stunden das Gefäß geöffnet wurde, so trat nachträglich Goldfällung ein. Schließlich konnte gezeigt werden, daß Eialbumin, welches unmittelbar nach der Elektrodialyse das Goldsol nicht fällte, diese Eigenschaft durch Einleitung von Kohlensäure sogleich zurückgewann. In einem Kontrollversuch, wobei das Eiweiß durch mit Kohlensäure durchleitetes Wasser ersetzt war, blieb das Goldsol unverändert. Ein diesbezügliches Versuchsbeispiel wird im Anhang mitgeteilt, Tabelle IV.

Diese Feststellungen sind zweifellos von Wichtigkeit für das Verständnis der oben geschilderten Goldsolfällung durch reine Eiweißlösungen und müssen bei einer theoretischen Darstellung dieses Gebietes ihre Berücksichtigung finden.

III.

Von besonderem Interesse für das Verständnis der von *Zsigmondy* gebrachten Theorie der Schutzkolloidwirkung sind die Versuche von *Menz*³⁾ an der Gelatine geworden.

¹⁾ *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, l. c.

²⁾ *Wo. Pauli*, *Kolloid-Zeitschr.* **40**, 185, 1926.

³⁾ *W. Menz*, *Zeitschr. f. physik. Chem.* **66**, 129, 1909.

Dieser Autor hatte festgestellt, daß auch der Gelatine bei einem bestimmten Dispersitätsgrad eine fallende Wirkung auf Goldsol zukommt. Dieselbe hängt nach *Menz* von der Konzentration und dem Alter der Ausgangslösung ab.

Als Material wurde in unseren Versuchen nach den Angaben von *Menz* „französische“ Gelatine verwendet, die sowohl im ursprünglichen Zustande als auch nach elektrodialytischer Reinigung (wobei die Leitfähigkeit von $K = 3,94 \cdot 10^{-4}$ auf $K = 1,11 \cdot 10^{-5}$ sinkt) bezüglich ihres Goldsol-flockungsvermögens untersucht wurde. Außerdem wurde auch eine Gelatine Marke „Gold“ im elektrodialysierten Zustande herangezogen. An Goldsolen wurde außer den eingangs beschriebenen H-Ionen-haltigen und H-Ionen-freien dialysierten Goldsolen auch ein undialysiertes Formol-Goldsol untersucht.

Aus den Versuchen ergibt sich folgendes: Die Angaben von *Menz* bei einer der seinigen entsprechenden Versuchsanordnung können vollständig bestätigt werden. Dasselbe haben auch *Elliott* und *Sheppard*¹⁾ gefunden. Ähnliche Befunde können aber auch mit der elektrodialysierten französischen Gelatine erhoben werden, während die „Goldgelatine“, die vielleicht durch die Vorbehandlung etwas abgebaut war — die 1proz. Lösung gelatinierte nicht mehr —, keinerlei Verfärbung des Goldes bewirkte. Somit scheint der Elektrolytgehalt der Gelatine ohne Einfluß auf das genannte Phänomen zu sein, wie es auch bei den hohen Verdünnungsgraden der wirksamen Konzentrationen begreiflich erscheint. Verwendet man jedoch dialysiertes Goldsol, so wird auch, bei sonst genauer Befolgung der *Menz*schen Versuchsanordnung, das Reaktionsphänomen vollständig vermißt, gleichgültig, ob nun das saure oder das neutrale Sol zur Verwendung kam. Dieser Befund ließ es als möglich erscheinen, daß nicht nur der Zustand der Gelatine, sondern auch gewisse bei der Dialyse modifizierbare Eigenschaften des Goldsols bei der Verfärbung desselben durch Gelatine beteiligt sein könnten. In erster Linie kamen da die durch die Dialyse entfernbaren Elektrolytreste des Formolsols in Betracht. Bei Zugrundelegung der ursprünglich zur Solbereitung verwendeten Reagensmenge konnte ermittelt werden, daß das undialysierte Sol noch etwa $n/1000$ KCl und $n/1000$ K als Carbonat bzw. Bicarbonat enthält. Diese Salze wurden nun in dieser Endkonzentration einzeln und zusammen Portionen des dialysierten H-Ionenfreien Goldsols zugesetzt. Es wurde das Verhalten dieser Mischungen mit elektrodialysierter und mit nicht vorgereinigter französischer Gelatine, die nach *Menz* bereitet war, untersucht. Dabei zeigte sich nun, daß das mit K_2CO_3 versetzte Goldsol mit Gelatine keine Reaktion gibt, somit nicht die Reaktion des dialysierten Goldsols uns sein Verhalten erklärt. Wohl aber tritt die Verfärbung bei Verwendung von

¹⁾ *Elliott* und *Sheppard*, Journ. Ind. Eng. Chem. 13, 699, 1921.

kaliumchloridhaltigem Sol und mit demjenigen ein, welches mit KCl und K_2CO_3 gleichzeitig beschickt worden war. Die Reaktion erfolgte genau in der gleichen Stärke und bei der gleichen Gelatinekonzentration, wie bei Verwendung von undialysiertem Sol und konnte ebenso wie bei letzterem mit elektrodialysierter und einer nicht weiter gereinigten französischen Gelatine hervorgerufen werden. Das KCl konnte durch $BaCl_2$ der gleichen Endnormalität mit dem gleichen Ergebnis ersetzt werden. Tabelle V des Anhangs enthält ein entsprechendes Versuchsbeispiel. Trotz des scheinbaren Widerspruchs sind diese Befunde in guter Übereinstimmung mit der von Joël gebrachten Darstellung der diesbezüglichen Ergebnisse der Zsigmondy'schen Schule.

Joël formuliert dieselben dahin, daß möglichst grobteilige Gelatine Goldsol (undialysiertes) ohne Anwesenheit von NaCl oder anderen Elektrolyten fällt. Die gleiche feinteilig gemachte Gelatine hat kein goldfällendes Vermögen, gewinnt jedoch dieses letztere durch Zusatz von für Goldsol an sich unterschwelligem Kochsalzkonzentrationen. Die obigen Befunde besagen demnach, daß der Unterschied im Fällungsmechanismus zwischen grob- und feinteiliger Gelatine nur ein quantitativer ist, da beide zur Goldsolfällung die Anwesenheit eines Neutralsalzes benötigen. Nur genügt bei der grobteiligen Gelatine die im undialysierten Goldsol enthaltene KCl-Menge. Somit besteht auch kein Anhaltspunkt, um, mit Joël, einen verschiedenen Fällungsmechanismus für Gelatine von verschiedenem Dispersitätsgrad anzunehmen. Nach Zsigmondy und Joël wirkt die grobteilige Gelatine dadurch fällend, daß infolge zwischen Gold- und Schutzkörperteilchen angenommenen, auch bei gleichsinniger Ladung eine Vereinigung der Eiweiß- und Goldteilchen anstrebbenden Anziehungskräften die in überwiegender Zahl vorhandenen Goldteilchen sich dicht an die Schutzkolloidteilchen anlagern und so den Farbumschlag der Lösung bedingen. Hingegen wird von denselben Autoren die Goldfällung von feinteiliger Gelatine bei Kochsalzzusatz als echte Elektrolytkoagulation aufgefaßt, indem „das Salz absorbierende Eiweißteilchen gewissermaßen als Konduktor des nunmehr schwellig gewordenen Elektrolyten wirkt“.

Aus dem oben Gebrachten geht jedoch hervor, daß bei Elektrolytabwesenheit auch grobdisperse Gelatine keine Flockung hervorbringt, daß somit für Gelatine wenigstens der von Zsigmondy und Joël angenommene Fällungsmodus nach unseren Versuchen nicht streng den experimentellen Tatsachen entspricht, sondern wahrscheinlich auch in diesem Falle an eine Elektrolytkoagulation zu denken ist. Nach unserer Auffassung bestünde somit nur ein gradueller Unterschied zwischen grob- und feindisperser Gelatine, indem die Kombination ersterer von einer außerordentlich gesteigerten Elektrolytempfindlichkeit ist. Es wird eine weitere eingehenden Untersuchung der übrigen von Zsigmondy und seinen Schülern verwendeten Substanzen, besonders der anorganischen notwendig sein,

um festzustellen, ob die hier gemachten Befunde nur der Gelatine eigentümlich oder allgemeiner Natur sind.

IV.

In weiteren Versuchen wurde dann die Reaktion des Goldsols mit den Verbindungen der Proteine mit Säuren, Laugen und Neutralsalzen untersucht. Im Hinblick auf die eingangs erwähnten Versuche von *Zsigmondy* und seinen Schülern über die Reaktion des sauren Goldes mit Eiweißlösungen wurden, zunächst die Beziehungen des durch Reaktion mit Säure positiv geladenen Proteins zum Goldsol geprüft. Nachdem nun eingehende Untersuchungen am *Paulischen* Institut den Nachweis erbracht haben, daß Albumin sich in wechselnden Verhältnissen mit Säuren zu verbinden vermag, d. h. das Eiweiß bei steigendem Säurezusatz unter Erschließung neuer Valenzen einem im Säureüberschuß konstanten Säurebindungsmaximum zustrebt, so wurde zunächst eine Versuchsanordnung getroffen, bei welcher die Wirkungsweise verschiedenwertiger Albuminionen beobachtet werden konnte. Endlich wurde, von früheren Beobachtungen am Albumin¹⁾ und Globulin²⁾ ausgehend, auch die Rolle verschiedener Säuren untersucht. Zu diesem Zwecke wurden gleiche Mengen Albumin mit verschiedenen Mengen Säuren versetzt und wechselnde Mengen dieser Mischung gleichen Mengen Goldsols zugefügt, wobei das Volumen durch Ergänzung mit destilliertem Wasser konstant gehalten wurde. Die Versuche wurden gleichzeitig am Ser- und Ovalbumin durchgeführt und zeigten die folgenden Ergebnisse:

Bei Verwendung von Säurealbuminlösungen, in welchen entsprechend der potentiometrischen Messung der größte Teil der HCl an das Eiweiß gebunden war, verhalten sich die letzteren gegenüber dem Goldsol wie positive Kolloide, indem sie dieses in geringen Konzentrationen fällen, in höheren jedoch in Lösung halten, wobei der goldhaltige Komplex positiv geladen erscheint. Die in der fällenden Konzentration des Eiweißsalzes enthaltene Albuminmenge beträgt nur einen Bruchteil von der ohne Säurezusatz Goldsol allein fällenden Menge (Versuchsbeispiel 6). Die Größe der fällenden Eiweißsalzkonzentration ist abhängig von dem Eiweiß-Säureverhältnis. Verwendet man nämlich Eiweißlösungen mit höheren Säurezusätzen (die aber erfahrungsgemäß noch zum größeren Teile gebunden werden), so erfolgt Fällung und Wiederauflösung bereits in niedrigeren Eiweißkonzentrationen (Versuchsbeispiel 7). Dabei zeigten sich, gemäß den Erfahrungen über die Bindung starker Säuren an Albumine, daß bei

1) *Wo. Pauli* und *M. Hirschfeld*, diese Zeitschr. **62**, 245. 1914.

2) *M. Adolf*, Kolloidchem. Beih. **18**, 223. 1923.

Berücksichtigung der gleichen Molarität die Rolle des Anions zurücktritt (Versuchsbeispiel 8). Wird das Säurebindungsvermögen des Eiweißes überschritten, so erfolgt auch im Überschuß des Fällungsmittels nicht mehr reversible Säurefällung.

Um mit den *Zsigmondyschen* und *Gannsschen* Angaben betreffs der Umschlagszahlen verschiedener Eiweißkörper vergleichbare Tatsachen zu gewinnen, wurden aus den obigen Versuchen diejenigen zusammengestellt, aus welchen die Rolle der Albuminvermehrung bei konstantem Säuregehalt hervorgeht. Es ergab sich konform mit den oben festgestellten Tatsachen, daß nur, wenn die Fällung durch überschüssige Säure bedingt ist, weiterer Albuminzusatz es vermag, diese Erscheinung zum Verschwinden zu bringen. In ganz ähnlicher Weise wie Säurealbumine verhalten sich die Verbindungen dieser Proteine mit Schwermetallsalzen (CuCl_2), Tabelle IX.

Nachdem schon ältere Untersuchungen¹⁾ am *Paulischen* Institut den Nachweis erbracht hatten, daß Gelatine in ähnlicher Weise mit Salzsäure reagiert wie Albumin, so schien es nicht ohne Aussicht, das beim Albumin festgestellte Verhalten auch bei der Gelatine nachzuweisen. Es war dies um so mehr zu erwarten, als ja nach Feststellungen von *Zsigmondy* Gelatine saures Goldsol umzuschlagen vermag. Es konnte bei Verwendung einer konstanten, für das Goldsol unterschwelligeren Säurekonzentration und Variierung der Gelatinezusätze auch gezeigt werden, daß bei einem bestimmten Eiweiß-Säureverhältnis (0,0001 bis 0,0002 g Gelatine n/100 HCl Endnormalität) die Kombination das Goldsol zum Umschlag bringt. Höhere Gelatinekonzentrationen bei gleichem Säuregehalt bewirken keinen Umschlag des Sols mehr. Die fällende Gelatinemenge ist in der Größenordnung der von *Zsigmondy* festgestellten Umschlagszahl. Nach der von *Joël* formulierten Deutung dieser Erscheinung wäre das geschilderte Phänomen als eine typische Fällung zweier entgegengesetzt geladener Kolloide anzusehen. Es wird ausdrücklich hervorgehoben, daß der HCl-Zusatz ausschließlich auf das Eiweiß, nicht aber auf das Goldsol wirke, welches „seinen Zerteilungsgrad und seine negative Ladung in schwachsaurer Lösung beibehält, sich also als das stabile Kolloid erweist“. Gegen diese Deutung konnten zweierlei Einwände erhoben werden. Zunächst war in einer früheren Arbeit²⁾ gezeigt worden, daß durch unterschwellige Säurezusätze die Empfindlichkeit eines dialysierten Goldsols gegenüber Neutralsalzen beträchtlich gesteigert wird. Es handelt sich in diesem Falle nicht um eine rein additive Wirkung, da $\frac{2}{5}$ der wirksamen HCl-Menge den Schwellenwert von KCl auf $\frac{1}{5}$, von

¹⁾ *K. Manabe* und *J. Matula*, diese Zeitschr. 52, 369, 1913.

²⁾ *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, l. c.

BaCl₂ auf $\frac{1}{20}$ der wirksamen Konzentration herabsetzt. Schon damals wurde auf die Bedeutung dieser Erscheinung für die Flockung von sauren Solen durch Eiweiß hingewiesen.

Zweitens muß in Betracht gezogen werden, daß es sich bei einer der *Zsigmondyschen* entsprechenden Versuchsanordnung, es befinden sich bei derselben 0,0001 bis 0,0002 g Gelatine mit einer Säureendkonzentration von $n/100$, gar nicht um die Entstehung eines neutralen Eiweißsalzes handeln kann. Die verwendete Gelatine-Säurekombination muß natürlich als ein Eiweißsalz mit Säureüberschuß aufgefaßt werden. So betrug die potentiometrisch bestimmte H-Ionenkonzentration in einem sonst Goldsol fällenden Gelatine-Salzsäuregemisch $1,04 \cdot 10^{-4}$, während ohne Gelatine unter sonst gleichen Bedingungen die H-Ionenkonzentration etwa $2,3 \cdot 10^{-4}$ erreichte. Die Normalität des entstandenen Glutinchlorids kann ungefähr der Differenz dieser beiden H-Ionenwerte gleichgesetzt werden. Es läßt sich nun zeigen, daß Goldsol, das mit der obigen Konzentration an freier Säure versetzt worden ist, durch eine KCl-Menge gefällt werden kann, die der oben berechneten Normalität des Glutinchlorids entspricht. Dem letzteren käme also eher eine echte Salz- als eine Kolloidwirkung zu. Aus diesem einen Beispiel, das zum Zwecke der Verallgemeinerung seines Ergebnisses wohl noch durch Untersuchung anderer Substanzen gestützt werden müßte, würde somit hervorgehen, daß der von *Zsigmondy* in sauren Goldsolen durch Eiweißlösungen hervorgerufene Umschlag auf einer kombinierten Säure-Salzwirkung beruht.

V.

Der Vollständigkeit wegen wurde auch das Verhalten von Laugenalbumin zu Goldsol in den Bereich der vorliegenden Untersuchungen gezogen, da von der Reaktion zweier gleich geladener Kolloide keine besonderen sichtbaren Erscheinungen zu gewärtigen waren. Ebenso wie bei den Säurealbuminversuchen wurden Mischungen von gleichem Eiweißgehalt und in diesem Falle verschiedenen Laugenkonzentrationen hergestellt und auch die weiter oben beschriebene Versuchsanordnung befolgt. Es zeigte sich dabei, daß eine verhältnismäßig beträchtliche Laugenkonzentration der ursprünglichen Mischungen notwendig ist, um den fällenden Einfluß des untersuchten Serumalbumins zu beseitigen; noch bei einer Endkonzentration von 0,00125 n NaOH auf 1 proz. Albumingehalt wird eine Fällungsreihe erzielt, welche genau derjenigen entspricht, die das reine Albumin gibt (Versuchsbeispiel 10). Es erscheint daher auch verständlich, daß die viel geringeren NaOH-Mengen, die zur Neutralisierung der freien H-Ionen des Goldsols verwendet worden sind, in dessen Beziehungen zum Albumin nicht merkbar werden.

Erst bei der doppelten Laugenkonzentration (0,0025 n) erfolgte bei den gleichen Albuminmengen keine Fällung des Goldsols mehr. Auch wird das mit diesen Alkalieiweißlösungen versetzte Goldsol gegen die Wirkung von sonst fällenden KCl-Zusätzen unempfindlich.

VI.

Für die klinische Bedeutung der Goldsolreaktion scheint die Rolle der Euglobuline und besonders deren Verhalten zu den wasserlöslichen Proteinen im Mittelpunkt des Interesses zu stehen. Die vorliegende Untersuchung, die ausschließlich zur Aufklärung einiger physikalisch-chemischer Probleme dienen sollte, berücksichtigt nur die Beziehungen des Euglobulins zu Neutralsalzen. Im Gegensatz zu den bisher untersuchten wasserlöslichen Proteinen konnte die Wirksamkeit von Euglobulin nur in Salzgegenwart untersucht werden, so daß die fallende bzw. schützende Wirkung der letzteren nicht auszuschließen war. Es wurde eine 0,7proz. Euglobulinlösung in $n/10$ KCl als Ausgangslösung verwendet, dieselbe war durch Schütteln von elektrolytfreiem Globulin in der KCl-Lösung hergestellt worden und konnte wegen beträchtlichen Salzüberschusses noch weitgehend verdünnt werden, ohne daß Globulin ausfiel. Es wurden die folgenden Versuchsanordnungen befolgt: In einem Versuch blieb der Euglobulingehalt bei steigender KCl-Konzentration konstant, in einem zweiten wurde die ursprüngliche Lösung fortlaufend mit Wasser verdünnt, und schließlich wurde in einer dritten Versuchsreihe die ursprüngliche Lösung mit gleichkonzentriertem KCl im Verhältnis 1 : 10 verdünnt. Als Ergebnis dieser Versuche konnte folgendes festgestellt werden: Salzglobulin in Mengen zugesetzt, so daß der Salzgehalt allein unerschwerlich in bezug auf das Goldsol ist, bringt das letztere zum Umschlag. Weiterer KCl-Zusatz, der allein das Goldsol ausfällen würde, verhindert die fallende Wirkung des ursprünglichen Salzglobulins. Hingegen läßt Verdünnung der fallenden KCl-Globulinmenge auf das Zehnfache bei Erhaltung des Verhältnisses zwischen Salz und Globulin noch Violettfärbung erkennen. Schließlich konnte gezeigt werden, daß dieselbe Menge KCl, die bei höherem Euglobulingehalt den Umschlag nicht verhindert, ihn bei niederem Euglobulingehalt zu hemmen vermag (hierzu Versuchsbeispiele 11 bis 13). Danach scheint das Entscheidende das Verhältnis Euglobulin : Kaliumchlorid zu sein. Wir hätten infolgedessen die Reaktion von salzärmeren und salzreichen Globulinverbindungen zu unterscheiden, von denen die ersteren fällend auf das Goldsol wirken, die letzteren dasselbe nicht nur nicht scheinbar unverändert lassen, sondern es gegen Zusatz von weiteren fallenden Neutralsalzkonzentrationen schützen. Dabei dürften die herausgegriffenen Typen von Salzglobulin-

verbindungen wahrscheinlich nur Endglieder einer kontinuierlichen Reihe darstellen. Für dieses Verhalten der Salzglobulinverbindungen existiert ein physiko-chemisches Korrelat. So haben *Fodor*¹⁾ und Verfasser²⁾ zeigen können, daß der Ladungssinn der Salzglobulinverbindungen vom Verhältnis Euglobulin : Salz abhängig ist; während die salzärmeren Verbindungen anodischen oder amphoterer Wanderungssinn zeigen, wandern die salzreicheren im elektrischen Strome zur Kathode. Nun besteht ein gewisser Parallelismus im Verhalten von Salzglobulin und der Salzverbindungen der lyophilen Proteine (beide Albumine und Pseudoglobulin) zum Goldsol. So haben bereits die Untersuchungen von *Pauli* und *Flecker* gezeigt, daß die fällende Wirkung von reinem Serum oder Albuminlösungen durch Zusatz von Neutralsalzen, doch nur von einer bestimmten Konzentration an, verhindert wird. Die Versuchsanordnung zur Nachprüfung dieser Angaben unterschied sich schon dadurch von den *Zsigmondyschen* Vorschriften zur Bestimmung der Schutzzahlen, daß wegen der fällenden Wirkung der reinen Eiweißlösungen dieselben zuerst mit dem Neutralsalz versetzt und dann dem Goldsol zugegeben wurden. Untersuchungen von *Pauli* und *Oryng*³⁾ hatten gezeigt, daß KCl in Zusätzen bis 0,05 n teilweise von Albumin gebunden wird. Dieser Eiweißkomplex erweist sich im Überführungsversuch, der an beiden Albuminarten und am Pseudoglobulin durchgeführt worden ist, entsprechend den bisherigen Angaben⁴⁾ als negativ geladen. Goldsol wird durch Zusatz dieser Salzeiweißmischungen gefällt (Versuchsbeispiel 14). Wird nun die Konzentration des KCl auf n/10 erhöht, so wird das Goldsol durch kleine Mengen dieser Mischung gefällt, durch größere jedoch in Lösung gehalten. Tabellen XIV bis XVI. Die Ergebnisse werden nicht modifiziert, wenn statt KCl, LiCl oder K₂SO₄ verwendet werden. Weiterer Salzzusatz, wobei der KCl-Gehalt bis auf das Fünffache der sonst fällenden Konzentration erhöht wurde, verschiebt nur den Solfällungspunkt in niedrigere Eiweißkonzentrationen. Mit größeren Mengen dieses Gemisches versetztes Goldsol erscheint stabil. Diese Erscheinung kann eventuell mit der Schutzwirkung verglichen werden. Dieses salzreichere Eiweiß erweist sich im physikalisch-chemischen Sinne aber von der salzärmeren Verbindung verschieden und scheint im Überführungsversuch positiv geladen zu sein (Tabelle XVII). *Wo. Pauli*⁵⁾ hat bereits über diese hier erwähnten Verhältnisse berichtet und versucht, den-

1) *A. Fodor*, Kolloid-Zeitschr. **30**, 313, 1922.

2) *M. Adolf*, Kolloidchem. Beih. **18**, 275, 1923.

3) *Th. Oryng* und *Wo. Pauli*, diese Zeitschr. **70**, 368, 1915.

4) *Wo. Pauli*, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 531, 1906.; *K. Manabe* und *J. Matula*, diese Zeitschr. **52**, 369, 1913.

5) *Wo. Pauli*, Kolloid-Zeitschr. **40**, 185, 1926.

selben eine theoretische Deutung zu geben. Aus dem hier Gebrachten geht hervor, daß, entgegen der von klinischer Seite geäußerten Ansicht [*H. A. Krebs*¹⁾], die elektrische Ladung der Eiweißkörper durch die H-Ionenkonzentration des Mediums und ihren isoelektrischen Punkt allein nicht bestimmt sein muß. Aber auch das mit dieser Salzeiweißlösung versetzte Goldsol zeigt deutlich einen positiven Wanderungssinn im elektrischen Strome. Es scheint somit, daß die betreffende Salzalbuminverbindung die Fähigkeit besitzt, als positives Kolloid das negative Goldsol umzuladen, ähnlich wie es das Albumin in Verbindung mit Säuren vermag und entsprechend den Salzglobulinverbindungen. Wieweit der bislang festgestellte Unterschied zwischen Globulin und Albumin bezüglich ihrer Goldsolwirkung auf der nicht immer vergleichbaren Versuchsanordnung, wieweit auf dem vielleicht verschiedenen Salzbindungsvermögen dieser Proteine beruhen vermag, ob dieser Unterschied überhaupt ein qualitativer und nicht vielmehr ein rein quantitativer ist, muß erst in weiteren Untersuchungen festgestellt werden. Der positiv geladene Goldsolsalzeiweißkomplex scheint gegen Neutralsalzzusatz weniger empfindlich zu sein als das Goldsol (Tabelle XVIII). Das gleiche Phänomen konnte übrigens auch bei mit Säurealbumin versetztem Goldsol nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich, daß bei gleichem Albumingehalt die Toleranz des Goldsols gegenüber sonst fällenden KCl-Konzentrationen mit steigendem Säurezusatz, also bei Zunahme der positiven Ladung des Albumins, vermehrt ist (Beispiel 19). Die Tatsache, daß in Gegenwart gewisser Proteine, die im reinen Zustande das Goldsol umschlagen, bei bestimmter Versuchsanordnung Goldsol durch sonst fällende Konzentrationen von Neutralsalzen nicht umgeschlagen wird, braucht somit nicht durch eine besondere Reaktion der reinen Proteine mit dem Goldsol aufgefaßt zu werden, vielmehr wird dieselbe auf die Wirksamkeit einer nur bei bestimmten Salzkonzentrationen existenzfähigen Salzeiweißverbindung bezogen, die mit Goldsol wie ein typisches positives Kolloid reagiert, es in kleinen Mengen ausfällt, in größeren unter Umladung in Lösung hält.

Die vorliegende Untersuchung sollte zunächst weiteres Material für eine künftige zusammenhängende Darstellung der Theorie der Schutz- und Fällungswirkung der Proteine auf Goldsol liefern. Die bisherigen Versuchsergebnisse dürften immerhin Hinweise enthalten, wonach gewisse Phänomene, welche von *Zsigmondy* nach der von ihm entwickelten Theorie und von *J. Loeb* nach der Hüllentheorie erklärt worden sind, eine Deutung auf rein elektrochemische Weise gestatten.

¹⁾ *H. A. Krebs*, l. c.

Zusammenfassung.

1. Es wurden die Beziehungen von physikalisch-chemisch definierten, weitgehend gereinigten Goldsolen zu ebensolchen Proteinlösungen (Ser- und Ovalbumin, Pseudoglobulin, Gelatine, Euglobulin) mit und ohne Elektrolytzusatz untersucht.

2. Dabei konnte festgestellt werden, daß elektrolytfreies Ser- und Ovalbumin und Pseudoglobulin ein dialysiertes Goldsol zum Umschlagen bringen, gleichgültig, ob dieses letztere freie H-Ionen enthält oder nicht, oder ob die ursprünglich vorhandenen durch Alkalizusatz neutralisiert worden sind.

3. Weiter werden Versuche mitgeteilt, aus welchen eine Mitbeteiligung der Reaktion der Albumine mit dem Kohlensäuregehalt der Luft bei dem Fällungsvermögen dieser Proteine für Goldsol zu entnehmen ist.

4. Während mit nicht dialysiertem Goldsol die *Menzschen* Angaben über die goldsolfallenden Eigenschaften von einer in bestimmter Weise vorbehandelten Gelatine bestätigt werden konnten, wobei eine weitere Reinigung der Gelatine ohne nachweisbaren Einfluß blieb, gelang dies mit dialysiertem Goldsol nicht. Wurden dem letzteren jedoch diejenige KCl-Menge zugesetzt, durch welche es sich von dem nicht dialysierten Formolgoldsol unterscheidet, so gewann es bezüglich der Gelatine die Eigenschaften des letzteren zurück.

5. Goldsol wird durch Zusetzen steigender Mengen neutralen Säurealbumins zunächst gefällt, sodann unter Umladung in Lösung gehalten. Der Einfluß des Verhältnisses von Protein zu Säure auf die Größe der goldsolfallenden Konzentration des Proteins und die Wirksamkeit verschiedener Säureanionen wurde untersucht.

6. Es konnte quantitativ gezeigt werden, daß die in einem mit HCl versetzten dialysierten Goldsol durch Gelatine hervorgerufene Fällung auch durch Ersatz des entstandenen Glutinchlorids mittels KCl der gleichen Normalität erreicht werden kann.

7. Je nach dem Verhältnis Euglobulin:Salz wirken die entsprechenden Lösungen fällend auf Goldsol oder lassen dasselbe scheinbar unverändert.

8. Schließlich konnte gezeigt werden, daß auch Ser- und Ovalbumin und Pseudoglobulin bei Reaktionen mit höheren KCl-Mengen, wobei dieselben eine positive Ladung gewinnen, Goldsol je nach den verwendeten Mengen der ersteren fällen oder unter Umladung in Lösung halten. Der so entstandene Komplex ist gegen weiteren Salzzusatz weitgehend unempfindlich.

Versuchsbeispiele.

Tabelle I bis III sind im Text enthalten. Bezüglich der Indizes der Goldsole und Proteine vgl. Tabelle I und II.

Tabelle IV. Goldsol I und II werden bei verschiedener Versuchsanordnung mit Eiweiß versetzt.

	Eiweiß- endkonz. mg/ccm	Versuchsanordnung				
		A	B	C	D	E
Seralbumin a und b	1,6	Elektro- dialysiertes (440 V) Protein sofort nach Entnahme mit Goldsol versetzt, 24 Stunden unt. Paraffin- verschluss gehalten	Wie A, nach Beseitigung des Ver- schlusses 24 Stunden offen gestanden	Protein nach Elektro- dialyse mit Goldsol ver- setzt, ohne Verschluß	Protein nach Elektro- dialyse durch 10 Tage in Flasche ge- standen, mit Goldsol versetzt	Protein *) unmittelbar nach Elektro- dialyse mit CO ₂ durch- leitet, mit Goldsol versetzt
Ovalbumin a und b	2,0	Dasselbe	—	Dasselbe	Dasselbe	Dasselbe
Reaktion von Goldsol I u. II nach 24 Stdn.	—	unverändert	Flockung	Flockung	Flockung	Flockung

*) Wasser unter gleichen Bedingungen mit CO₂ durchleitet, verändert anscheinend das Goldsol nicht.

Tabelle V. Ausgeführt mit französischer Gelatine, nicht gereinigter und elektrodialysierter, nach Menz verdünnt.

Gelatine- konzentration *)	Goldsol I und II	Goldsol V	Goldsol II + K ₂ CO ₃ Endnorm. n/1000	Goldsol II + KCl Endnorm. n/1000	Goldsol II + KCl + K ₂ CO ₃ Endnorm. je n/1000	Goldsol II + BaCl ₂ Endnorm. n/1000
0,000	θ	θ	θ	θ	θ	θ
0,0002	θ	+**)	θ	++	+	++
0,0004	θ	++	θ	++	+	+++
0,001	θ	+++	θ	+++	+	+
0,002	θ	θ	θ	+	+	+

*) Es wurde das ganze Gebiet zwischen 0,04 bis 0,00004 untersucht.

**) + bedeutet Purpurbildung.

Tabelle VI.

Die Eiweiß-Säuremischung enthält 0,8 Proz. Ovalbumin und 0,004 n HCl, C_H = 7,98 · 10⁻⁴. Dieselbe wird dem Goldsol derart zugefügt, daß durch Ergänzung mit destilliertem Wasser bei Erreichung des gleichen Endvolumens das Goldsol stets auf die Hälfte verdünnt wird.

Goldsol I	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
Ovalbumin mg/ccm	θ	1,2	0,16	0,24	0,32	0,4
HCl-Endkonz.	2,8 · 10 ⁻⁴	θ	0,00008	0,00016	0,00024	0,00032
Sofort	V	V	R _v	R _{v v}	V	V
Nach 24 Stunden . . .	Fl.	Fl.	R _v	Fl.	Fl.	Fl.

Tabelle VI (Fortsetzung).

Goldsol I	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
Ovalbumin mg/ccm	0,8	1,6	2,4	3,2	4,0
HCl-Endkonz.	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016	0,002
Sofort	R _{v v}	R _{v v}	R _v	θ	θ
Nach 24 Stunden . . .	Fl.	V	R _v	θ	θ

Tabelle VII.

Bezüglich der Versuchsanordnung vgl. Tabelle VI.

Versuch	Goldsol I	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
	Seralbumin b . . mg/ccm	0,24	0,48	0,72	0,96	1,2
I	H ₂ SO ₄ -Endnorm.	0,000 16	0,000 32	0,000 48	0,000 64	0,0008
	Sofort	θ	θ	R _v	V	R _{v v}
	Nach 24 Stunden	θ	θ	R _v	Fl.	Fl.
II	H ₂ SO ₄ -Endnorm.	0 000 32	0 000 64	0 000 96	0,001 28	0,0016
	Sofort	θ	V	V	R _v	θ
	Nach 24 Stunden	θ	Fl.	Fl.	R _v	θ

Versuch	Goldsol I	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
	Seralbumin b . . mg/ccm	2,4	3,6	4,8	6,0
I	H ₂ SO ₄ -Endnorm.	0,0016	0,0024	0,0032	0,0040
	Sofort	R _v	θ	θ	θ
	Nach 24 Stunden	R _v	θ	θ	θ
II	H ₂ SO ₄ -Endnorm.	0,0032	0,0048	0,0064	0,0080
	Sofort	θ	θ	θ	θ
	Nach 24 Stunden	θ	θ	θ	θ

Tabelle VIII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle VI.

Versuch	Goldsol I	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	
	Seralbumin b mg/ccm	0,24	0,48	0,72	0,96	1,2	
	Säuremolarität	0,00016	0,00032	0,00048	0,00064	0,0008	
I	HCl	sofort . . .	V	V	R _v	R _v	R _v
		nach 24 Std.	Fl.	V	R _v	R _v	R _v
II	H ₃ PO ₄ . . .	sofort . . .	V	R _v	θ	θ	θ
		nach 24 Std.	Fl.	R _v	θ	θ	θ
III	CH ₃ COOH	sofort . . .	V	V	V	V	V
		nach 24 Std.	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Versuch	Goldsol I		G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
	Seralbumin b mg/ccm		2,4	3,6	4,8	6,0
	Säuremolarität		0,0016	0,0024	0,0032	0,0040
I	HCl	sofort	R _v	θ	θ	θ
		nach 24 Std.	R _v	θ	θ	θ
II	H ₃ PO ₄	sofort	θ	θ	θ	θ
		nach 24 Std.	θ	θ	θ	θ
III	CH ₃ COOH	sofort	θ	θ	θ	θ
		nach 24 Std.	θ	θ	θ	θ

Tabelle IX.

	Goldsol I		G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	
	Ovalbumin b mg/ccm		θ	0,8	1,6	2,4	3,2
CuCl ₂ -Endnorm.		0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Sofort		V	V	R _v v	R _v v	R _v	θ
Nach 24 Stunden		Fl.	V	R _v v	R _v v	θ	θ

Tabelle X.

Versuch 1 wurde mit der Mischung 0,4proz. Seralbumin 0,0005 n NaOH,
 „ 2 „ „ „ „ 0,4 „ „ 0,001 n NaOH
 ausgeführt.

Versuch	Goldsol II		G. S.	G. S.	G. S.	G. S.
	Seralbumin c mg/ccm		0,08	0,16	0,24	0,32
I.	NaOH-Endnorm.		1 · 10 ⁻⁵	2 · 10 ⁻⁵	3 · 10 ⁻⁵	4 · 10 ⁻⁵
	Sofort		R	R	R _v	V
	Nach 24 Stunden		R	R	R _v	V
II.	NaOH-Endnorm.		—	—	—	—
	Sofort		—	—	—	—
	Nach 24 Stunden		—	—	—	—

Versuch	Goldsol II		G. S.	G. S.	G. S.	G. S.	
	Seralbumin c . mg/ccm		0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
I.	NaOH-Endnorm.		5 · 10 ⁻⁵	10 · 10 ⁻⁵	15 · 10 ⁻⁵	2 · 10 ⁻⁴	2,5 · 10 ⁻⁴
	Sofort		V	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.
	Nach 24 Stunden		Fl.	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.
II.	NaOH-Endnorm.		1 · 10 ⁻⁴	2 · 10 ⁻⁴	3 · 10 ⁻⁴	4 · 10 ⁻⁴	5 · 10 ⁻⁴
	Sofort		θ	θ	θ	θ	θ
	Nach 24 Stunden		θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle XI.
Konstanter Euglobulin-, steigender KCl-Gehalt.

Goldsol I	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Euglobulin mg/ccm	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
KCl-Endnorm.	0,01	0,02	0,03	0,04	0,11
Sofort	V	V	θ	θ	θ
Nach 24 Stunden	P	P	θ	θ	θ

Tabelle XII.

Ursprüngliche n/10 KCl-Euglobulinlösung mit Wasser verdünnt.

Goldsol I	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Euglobulin mg/ccm	0,07	0,14	0,21	0,28	0,35
KCl-Endnorm.	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005
Sofort	V _R	V	V	V	V
Nach 24 Stunden	V	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.

Tabelle XIII.

Ursprüngliche n/10 KCl-Euglobulinlösung mit KCl verdünnt.

Goldsol I	G.S.	G.S.	G.S.
Euglobulin . . . mg/ccm	0,07	0,21	0,35
KCl-Endnorm.	0,01	0,03	0,05
Sofort	θ	θ	θ
Nach 24 Stunden	θ	θ	θ

Tabelle XIV.

Versuch 1 mit der Mischung 0,4proz. Seralbumin 0,05 n KCl, Versuch 2 mit der Mischung 0,4proz. Seralbumin n/10 KCl ausgeführt.

Versuch	Goldsol II	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
	Seralbumin c . . . mg/ccm	θ	0,4	0,4	0,8	1,2	2,0
I	KCl-Endnorm. . . .	0,02	θ	0,005	0,01	0,015	0,025
	Sofort	V	V	V	V	V	V
	Nach 24 Stunden . .	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.	Fl.
II	KCl-Endnorm. . . .	—	—	0,01	0,02	0,03	0,04
	Sofort	—	—	θ	θ	θ	θ
	Nach 24 Stunden . .	—	—	θ	θ	θ	θ

Tabelle XV.

Ursprüngliche Mischung enthält 0,08proz. Seralbumin und n/10 KCl.

Goldsol II	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Seralbumin c mg/ccm	0,08	0,16	0,24	0,32
KCl-Endnorm.	0,01	0,02	0,03	0,04
Sofort	V	V	R _v	R
Nach 24 Stunden	V	V	R _v	R

Tabelle XVI.

Ursprüngliche Mischung enthält 0,4proz. Pseudoglobulin und n/10 KCl.

Goldsol II	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Pseudoglob. mg/ccm	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
KCl- oder LiCl-Endnorm.	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
Sofort	V	V	V	R _v	R
Nach 24 Stunden	V	V	V	R _v	R

Tabelle XVII.

Protein	Salz- endkonz. K Cl	Elek- troden- abstand cm	Spannung Volt	Versuchs- dauer Min.	Ergebnis	
					Anode	Kathode
0,5 Proz. Serumalbumin *) .	θ	68	10	30	A > K	
0,5 " "	0,05	68	10	30	A > K	
0,5 " "	0,075	68	10	30	A ~ K	
0,5 " "	0,1	68	10	30	angedeut.	+++
0,5 " Gelatine	0,1	68	10	30	A < K	

*) Die obigen Versuche wurden mit den gleichen Ergebnissen beim Pseudoglobulin ausgeführt.

Tabelle XVIII.

Goldsol II	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Serumalbumin c mg/ccm	0,4	0,8	1,2	1,6
KCl-Endnorm.	0,105	0,11	0,115	0,12
Sofort	θ	θ	θ	θ
Nach 24 Stunden	θ	θ	θ	θ

Tabelle XIX.

Goldsol II	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.	G.S.
Ovalbumin b mg/ccm	θ	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
H Cl-Endnorm	θ	0,002	0,002	0,016	0,032	0,04	0,05
K Cl-Endnorm.	0,016	θ	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016
Sofort	V	θ	V	θ	θ	θ	θ
Nach 24 Stunden	V	θ	Fl.	θ	θ	θ	θ

Über Adsorptions- und Diffusionserscheinungen im elektrischen Felde und eine elektrostatische Meßmethode zur Bestimmung des elektrischen Wanderungssinnes gelöster Stoffe.

Von
Otto Blüh.

(Aus dem Institut für theoretische Physik der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 19. November 1926.)

Mit 17 Abbildungen im Text.

I.

In dieser Zeitschrift hat *R. Keller* gemeinsam mit *J. Gicklhorn*¹⁾ eine Reihe von Aufsätzen veröffentlicht, welche unter dem Namen „Biochemische Hochspannungsversuche“ kürzlich als Monographie²⁾ erschienen. Der wesentlichste Zweck dieses Berichts war der, über Untersuchungen, welche zu jener Zeit von *R. Fürth*³⁾ und *J. Gicklhorn* mit einem von ersterem konstruierten Kataphoreseapparat ausgeführt worden waren, Aufschluß zu geben und auf die Bedeutung der neuen Methode für die Physikochemie und Biochemie hinzuweisen. Vor kurzer Zeit sind die Versuche von *J. Gicklhorn*, *R. Fürth* und *O. Blüh*⁴⁾ zu einem gewissen Abschluß gebracht worden und unter dem Titel Adsorptions- und Diffusionserscheinungen im elektrischen Felde in der Zeitschrift für physikalische Chemie erschienen. Der Verfasser⁵⁾ hat sich besonders bemüht, den Mechanismus der genannten Erscheinungen durch Verfolgung der Potentialverhältnisse mit Hilfe elektrostatischer Messungen aufzuhellen und so die Basis für eine von *R. Fürth*⁶⁾ für

¹⁾ Unter anderen *R. Keller* u. *J. Gicklhorn*, diese Zeitschr. **172**, 233, 1926.

²⁾ *R. Keller*, Biochem. Hochspannungsversuche. Berlin, Springer, 1926.

³⁾ *R. Fürth*, Kolloid-Zeitschr. **87**, 200, 1925.

⁴⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. **123**, 344, 1926.

⁵⁾ *O. Blüh*, Physik. Zeitschr., erscheint gleichzeitig.

⁶⁾ *R. Fürth*, ebendasselbst **27**, 692, 1926.

die gesamten Erscheinungen sehr gut übereinstimmende Theorie gegeben. Bei diesen Messungen hat es sich nun gezeigt, daß man aus ihnen mit einiger Genauigkeit auch auf den Wanderungssinn verschiedener Substanzen schließen kann, also nicht aus der Untersuchung der Elektroden mit chemischen Methoden nach erfolgter Kataphorese, sondern aus charakteristischen Potentialabfallsänderungen schon während des Versuchs. Bevor auf diese Messungen eingegangen wird, sei einiges über die *Fürthsche* Kataphoresemethode selbst und über die damit angestellten Versuche mitgeteilt.

II.

Der ursprüngliche Zweck der hier beschriebenen Kataphoresemethode war der, den Wanderungssinn von Farbstoffen im elektrischen Felde mit einer rasch arbeitenden und dabei präzisen Anordnung verfolgen zu können. Um nun alle Übelstände der bekannten Methoden zu vermeiden, also keine starken Ströme zu verwenden, welche durch unregelmäßige Erwärmungen zu Konvektionsströmungen Anlaß geben, und zu verhindern, daß Elektrolyseprodukte in die Farbstofflösung gelangen, werden Metalle mit der Lösung überhaupt nicht in Berührung gebracht. Vielmehr werden in der *Fürthschen* Apparatur¹⁾ Elektroden aus Halbleitern²⁾ in die Lösung eingeführt, und zwar aus solchen Stoffen, welche adsorbierende Eigenschaften haben und so die zu ihnen elektrisch hinbeförderten Farbstoffpartikel festhalten. Als solche Halbleiter sind nach *J. Gicklhorn* am besten Schamotte, Ton oder Glassinter von Schott und Gen. brauchbar. In der Bequemlichkeit der Handhabung und daher besonders zu orientierenden Versuchen sind Streifen aus Filtrier-, noch besser aus Fließpapier (englisches Löschpapier) unübertroffen. Zwei solche Streifen werden in die Lösung beiläufig 1 cm tief eingetaucht, nachdem sie vorher mit destilliertem Wasser getränkt und eine Spannung von mehreren Hundert Volt an die oberen Enden angelegt wird. Während des Versuchs geht durch das ganze System nur ein Strom von einigen Milliampere hindurch, weil die hohen Widerstände der Halbleiter (ein Streifen Papier von 7 cm Länge und 1,5 cm Breite hat den Widerstand $5 \cdot 10^5$ Ohm) trotz der verhältnismäßig hohen Spannung keine stärkeren Ströme zulassen. Freilich geht, wie wir weiter unten sehen werden, ein großer Teil der Spannung

¹⁾ *R. Fürth*, Kolloid-Zeitschr. **87**, 200, 1925.

²⁾ Im gewöhnlichen Sprachgebrauch versteht man unter „Elektroden“ meist metallische Zuleitungen, welche direkt in die Lösungen eintauchen. In diesem Sinne wären die Halbleiter als Zwischenelektroden zu bezeichnen. Da es jedoch durch nichts begründet ist, nur metallische Körper als Elektroden anzusprechen, soll für die Halbleiterelektroden kein besonderer Name eingeführt werden.

in den Halbleiterelektroden verloren; entfernt man aber nach mehrminutigem Versuch die Farbstofflösung, so ist eine Elektrode, besonders in der Eintauchzone, angefärbt, während die andere ungefärbt geblieben ist. Ist der positive Pol angefärbt, so sind die Farbstoffteilchen offenbar negativ geladen und umgekehrt. Bei längerer Versuchsdauer kann man auch das Aufsteigen des Farbstoffs an einem Pol sehr deutlich verfolgen.

Nun war es sehr naheliegend, auch nichtgefärbte Stoffe in dieser Anordnung zu untersuchen. Während wir aber bei den Farbstoffen direkt aus dem Bilde der Elektrode nach dem Versuch den elektrischen Wanderungssinn erkennen können, sind wir bei ungefärbten Substanzen auf einen chemischen Nachweis derselben angewiesen. Diese Probe kann man nun auf der Elektrode selbst vornehmen; anderenfalls ist man gezwungen, die Substanz aus der Elektrode auszuwaschen und dann zu untersuchen. Wiederum wird ein im elektrischen Felde wandernder Körper auf der einen Elektrode nachgewiesen werden, auf der anderen nicht. Erstreckt sich der Versuch auf längere Zeit, so muß man mit den Kräften der Diffusion rechnen, welche in manchen Fällen auch gegen das elektrische Feld einen Stoff zu befördern imstande sind. Dann erkennt man aber aus der Steighöhe, welche der Körper auf der Elektrode erreicht hat, welche Wanderungsrichtung er besitzt, indem er natürlich in der Elektrode, zu welcher er elektrisch befördert wird, höher steht als in der anderen.

So ließ sich nachweisen, daß verschiedene Zucker, im Einklang mit früheren Versuchen von *Coehn*¹⁾, kathodischen Wanderungssinn haben, genau so wie Harnstoff, wohingegen Stärke nach der Anode geht. Gerade bei den erwähnten Stoffen dürfte man sich im Übergangsbereich von den Kolloiden zu den kleinmolekularen Lösungen befinden, und hat eine solche bevorzugte Wanderung nichts Befremdliches.

Von noch größerem Interesse erschien es nun, die Untersuchung auf kleinmolekulare, ja sogar auf dissoziierte Substanzen auszudehnen und bei einer Reihe von Salzen zu untersuchen, ob nicht auch bei ihnen eine ausgesprochene Polarität, wie sie aus biologischen Gründen von Herrn *Keller* vermutet wurde, zu bemerken sein würde. Zum Teil sind derartige Versuche auch schon von *R. Keller* besprochen worden: neuere Ergebnisse unserer Untersuchungen sind ausführlich an der loc.-cit.-Stelle erschienen. Hier sei nur so viel mitgeteilt, daß sich z. B. das Bild der zwei Elektroden, mit Silbernitrat behandelt, nach einem etwa 5minutigem Versuch mit einer beträchtlich konzentrierten NaCl-Lösung (5 bis 20 Proz. wurden untersucht und ergaben ähnliche Bilder),

¹⁾ *Coehn*, Zeitschr. f. Elektrochemie 15, 652. 1909.

wie in Abb. 1 wiedergegeben, darstellt. Die Schattierung in der Zeichnung deutet den AgCl-Niederschlag an, welcher an der Kathode scharf abgegrenzt, an der Anode wesentlich schwächer und nach oben verlaufend erscheint. Genau das gleiche Verhalten zeigen NaJ, KCl und KJ in verschiedensten Konzentrationen.

Zu den anderen untersuchten Salzen gehörten Eisennitrat, Bariumchlorid, Kupferchlorid und andere, ja selbst bei Säuren und Basen ließ sich ein *Wanderungssinn* konstatieren, wenn wir unter demselben diejenige Richtung verstehen wollen, zu welcher beide Ionen in gleicher Weise in einer Elektrode vorrücken. Ein Versuch mit HCl ergibt das Bild von Abb. 2. Hier ist auf der Anode die Höhendifferenz der beiden Ionen H und Cl sehr gering, während auf der Kathode das an diesem Pol beschleunigte Kation H dem nachdiffundierenden Cl weit voraus ist. Der letzte Versuch wurde auf neutralem Lackmuspapier (Merck) ausgeführt. Der Anstieg der H-Ionen war sofort sichtbar, das Cl-Ion mußte wie früher als AgCl nachgewiesen werden.

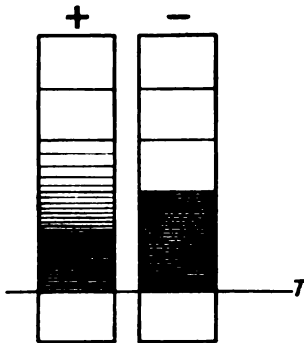


Abb. 1.

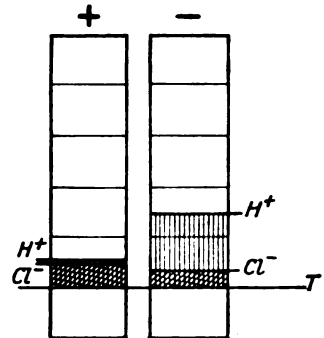


Abb. 2.

Ganz allgemein resultiert aus der Theorie, welche R. Fürth für die gesamten Erscheinungen gegeben hat, daß eine gemeinsame Wanderung beider Ionen, z. B. nach der Kathode, immer dann stattfinden wird, wenn die Wanderungsgeschwindigkeit des Anions größer als die des Kations ist, und umgekehrt. Wenn auch auf den ersten Blick es ungewohnt erscheint, ein Anion z. B. in kathodischer Richtung wandern zu sehen, so gelingt es durch eine einfache Überlegung, sich sogar von der Notwendigkeit einer solchen Erscheinung in unserem Falle zu überzeugen. Denn schon ein geringer Überschuß der einen Ionenart auf einer Halbleiterelektrode ruft elektrische Neutralitätsstörungen nach sich, welche durch ihre Felder sofort anders geladene Ionen nachziehen. Wie wir weiter unten sehen werden, ist das erste Eindringen einer Ionenart in die Elektroden bei Versuchsbeginn auch aus den elektrostatischen Potentialdifferenzmessungen deutlich zu erkennen.

III.

Es soll nunmehr kurz geschildert werden, in welcher Weise diese Messungen ausgeführt wurden, welche Aufschlüsse sie über den Mechanismus der *Fürth'schen* Apparatur zu geben imstande waren und welcher Art die Möglichkeit ist, mit Hilfe solcher Messungen auf den Wanderungssinn beliebiger Stoffe schließen zu können.

Die verwendete Apparatur bestand aus den Fließpapierelektroden, welche man am günstigsten 7 cm lang und 1,5 cm breit wählte. Mit ihren Flächen standen sie parallel zueinander. Die oberen Enden wurden in Metallklemmen eingespannt (Platinkontakt), und an diese Klemmen wurden Gleichspannungen von 500 bis 600 Volt angelegt. Die Gleichspannungen wurden einem elektrolytischen Gleichrichter entnommen. Die Spannung an den Metallklemmen wurde mit einem Voltmeter gemessen. Es bestand nun die Frage, wie sich die am Voltmeter abgelesene Spannung auf das System: Halbleiterelektrode—Lösung—Halbleiterelektrode verteilt. So hatte z. B. *R. Fürth* die Meinung aus-

gesprochen, daß ein besonders starker Potentialabfall in der Grenze Halbleiter—Lösung stattfinden würde. Besonders von mir angestellte Versuche (vgl. die gleichzeitig in der *Physikalischen Zeitschrift* erscheinende Publikation), welche durch ultramikroskopische Beobachtung der Grenzschicht eine Ausmessung des Feldverlaufs mit Hilfe elektrisch geladener Kolloidpartikel anstrebte, zeigten, daß zumindest bis zu

Distanzen von 0,01 mm vom Halbleiter das Feld in der Lösung linear verläuft. Mit Hilfe eines elektrostatischen, trägheitslosen Instruments, des *Wulfschen* Zweifadenelektrometers, konnte gezeigt werden, daß der größte Teil des Potentialabfalls auf den Halbleiterelektroden stattfindet, rund 10 Proz. entfallen auf die Lösung. Zur Messung mußten an die unteren Enden der Elektroden Metallsonden angelegt werden, und zwischen ihnen und der Klemme an der gleichen Elektrode wurde die Spannung statisch gemessen (Abb. 3). Die Sonde bestand aus einer dünnen Platinspitze, welche in ein Glasröhrchen eingeschmolzen war. Im Inneren des Röhrchens stellte ein Tropfen Quecksilber den Kontakt zu einer Zuleitung zum Elektrometer her. Von der Gegenseite drückte ein abgeflachter Glasstab gegen den Papierstreifen und die Spitze.

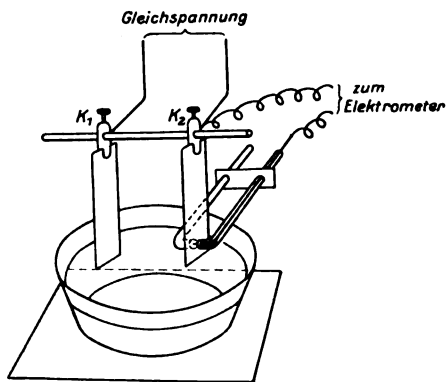


Abb. 3.

Waren die Papierstreifen mit Wasser getränkt und tauchten 1 cm in destilliertes Wasser ein, so zeigte sich, daß, wenn 500 Volt an die Zuführungsklemmen K_1 und K_2 angelegt wurden, beiläufig 225 Volt auf die Kathode, der gleiche Potentialabfall auf die Anode entfiel, während im Wasser rund 50 Volt Spannung verloren gingen. Wurde der Versuch jedoch längere Zeit ausgedehnt, so verschob sich dieses

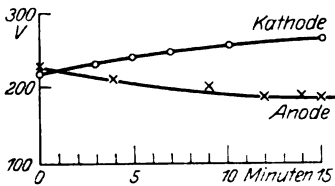


Abb. 4. Wasser.

Verhältnis, und zwar in der Weise, daß der Potentialabfall an der Anode größer wurde, der an der Kathode im gleichen Verhältnis kleiner (Abb. 4). Nach einer Viertelstunde beträgt die Differenz gegenüber den Anfangswerten etwa 35 Volt. Es ist sicher anzunehmen, daß diese Erscheinung mit der kataphoretischen Wasserüberführung zusammenhängt, denn es ist bekannt, daß sich das Wasser unter dem Einfluß elektrischer Kräfte zur Kathode bewegt. Macht man unseren Versuch mit 3000 Volt, so kann man direkt sehen, wie aus der Anode das Wasser ausgepreßt wird und dieselbe vollkommen austrocknet. Bei 500 Volt sind die kataphoretischen Kräfte dazu nicht stark genug. Doch zum geringen Teile tritt die gleiche Erscheinung ein; die Anode wird schlechter leitend, und daher wird an ihr der Potentialabfall größer. Diese Untersuchung mit destilliertem Wasser war insofern notwendig, als bei Verwendung verschiedenartigster Lösungen sich — freilich in den meisten Fällen wesentlich größere — Unterschiede bei der Verfolgung der zeitlichen Potentialabfallveränderung an den Elektroden ergaben.

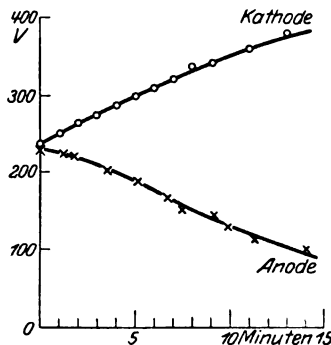


Abb. 5. Methylviolett.

Die Potentialdifferenzverschiebungen an den Elektroden haben sich, wie schon oben erwähnt wurde, als charakteristisch für den Wanderungssinn des gelösten Stoffes erwiesen. Nehmen wir z. B. den basischen Farbstoff Methylviolett, so sehen wir (Abb. 5), daß in 16 Minuten der Potentialabfall an der Kathode, welcher zu Beginn 225 Volt betrug, sich bis zu 400 Volt erhöht hat, während natürlich umgekehrt der an der Anode anfangs liegende Potentialabfall von gleichem Betrage sich auf 100 Volt erniedrigt hat. Die gleiche Erscheinung zeigen sämtliche basische Farbstoffe, z. B. das Safranin (Abb. 6).

Wenn wir die Elektroden nach einem solchen länger dauernden Versuch betrachten, so erkennen wir, wie der Farbstoff an der Kathode

in ziemliche Höhe aufgestiegen ist, an der Anode dagegen nur wenig. Auf den ersten Blick würde man vermuten, daß sich nur die Kathode verändert hat. Bestimmt man aber die Leitfähigkeit der Elektrodenstreifen vor und nach dem Versuch, so sieht man, daß gerade die Leitfähigkeit der Anode sich sehr stark verbesserte, während die der Kathode nur um ein geringes besser wurde. Z. B. hatten bei obigem Versuch mit Methylviolett die Elektrodenpapiere, vor dem Versuch mit destilliertem Wasser getränkt, je einen Widerstand von $6 \cdot 10^5$ Ohm. Nach dem Versuch hatte die Anode einen Widerstand von $1 \cdot 10^5$ Ohm, die Kathode einen solchen von $5 \cdot 10^5$ Ohm. Wir ersehen daraus, daß sich nach dem Versuch die Widerstände genau so verhalten wie die statisch gemessenen Potentialdifferenzen, nämlich so wie 1 : 5. Mit der Theorie steht dieses Ergebnis in vorzüglicher Übereinstimmung. Die Moleküle der basischen Farbstoffe sind in große, positiv geladene, gefärbte Ionen

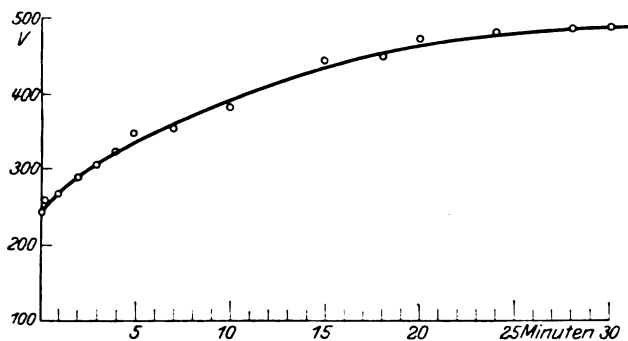


Abb. 6. Safranin, Kathode.

und die raschen OH-Ionen dissoziiert. Die gemeinsame Wanderung beider Ionen oder, was dasselbe ist, die Wanderung des Farbstoffs geht nach der Richtung des langsamer wandernden Ions, also zur Kathode. An der Anode läuft das OH-Ion dem nachdiffundierenden, weitaus größeren Farbion vor und erfüllt, ähnlich wie das Cl beim Natriumchloridversuch (Abb. 2), bald den größten Teil der Anode, deren Leitfähigkeit dadurch so stark erhöht wird. Unsere statischen Messungen sind also hier letzten Endes relative Leitfähigkeitsbestimmungen; bei den vielen Messungen in kurzer Zeit bzw. der ständigen Verfolgung der Elektrodenveränderungen kommen sie allein in Frage. Überdies können uns die statischen Messungen noch über Erscheinungen Aufschluß geben, welche nicht durch Leitfähigkeitsänderungen der Elektroden hervorgerufen werden. Es handelt sich hier um ein anfängliches Steigen des Potentialabfalls an beiden Polen, welches besonders ausgeprägt bei den Elektrolyten ist und das durch das Einwandern einer Ionenart zu Beginn des Versuchs in eine Elektrode

und eine dadurch entstehende Raumladung auf derselben zwanglos erklärt werden kann.

Untersuchen wir saure Farbstoffe, so finden wir den erwarteten Anstieg auf der Anodenseite nicht. Vielmehr verändert sich der Potentialabfall an der Kathode und an der Anode nur um wenig, wie die Abb. 7 für die Kathode bei Pikrinsäure und Abb. 8 für die Anode bei Tropäolin zeigen. Das gleiche Resultat findet man bei der Beobachtung anderer saurer Farbstoffe. Die Erklärung kann nur die

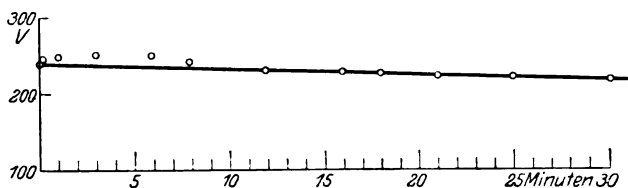


Abb. 7. Pikrinsäure, Kathode.

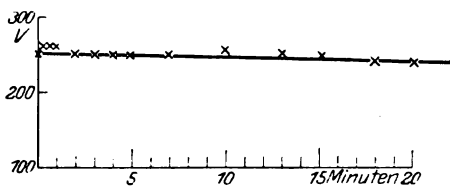


Abb. 8. Tropäolin, Anode.

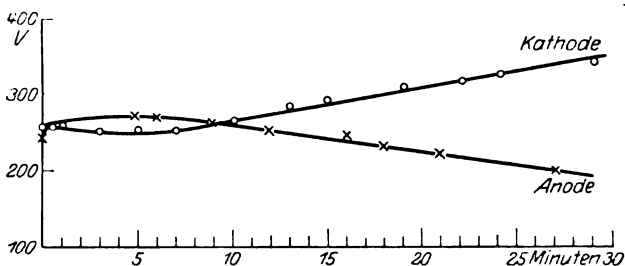


Abb. 9. Harnstoff.

sein, daß — aus zum Teil nicht ganz bestimmten Ursachen — sich die Leitfähigkeit auf beiden Elektroden ganz gleichmäßig verändert. Der Augenschein lehrt auch, daß die Anfärbung der Anode bei den sauren Farbstoffen nicht so scharf ist wie die kathodische der basischen Farbstoffe und einfach diffus auf der Anode vorwärts rückt.

Nach den Farbstoffen kamen *ungefärbte Verbindungen* zur Untersuchung und in allen Fällen konnte beobachtet werden, daß der Pol, an welchem eine Wanderung der Substanz nach chemischen Methoden festgestellt war, auch diejenige war, an welchem ein Anstieg der Potentialdifferenz konstatiert wurde. Die Abb. 9 gibt die Kathoden- und Anoden-

kurve für eine Harnstofflösung wieder (man beachte hier den anfänglichen Anstieg an der Anode). In Abb. 10 ist eine Kathodenkurve für eine 10proz. Rohrzuckerlösung eingetragen. Von gleicher Gestalt sind die Kathodenkurven von Dextrose und Lävulose. In allen Fällen sieht man den Zusammenhang zwischen kathodischem Wanderungssinn und Verschiebung des Potentialabfalls nach der kathodischen Elektrode. Man wird es daher als berechtigt ansehen, wenn aus dem

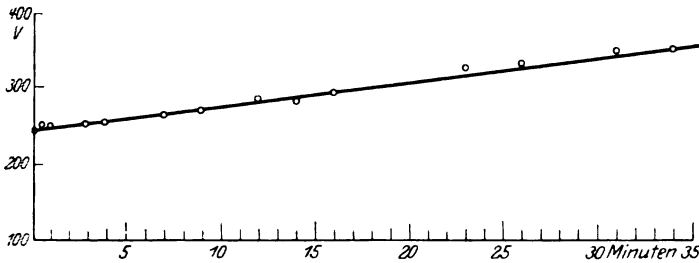


Abb. 10. Rohrzucker, Kathode.

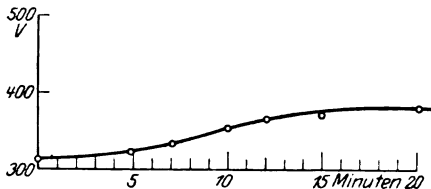


Abb. 11. Glykokoll, Kathode.

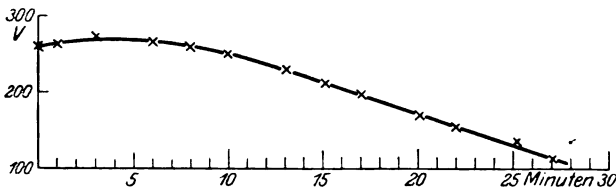


Abb. 12. Rinderserum, Anode.

Anstieg der kathodischen Kurve von Glykokoll auf den kathodischen Wanderungssinn dieses Stoffes geschlossen wird, obzwar ein chemischer Nachweis noch nicht versucht wurde (Abb. 11).

Es wird notwendig sein, an einem größeren Material eine Überprüfung der oben erwähnten Regelmäßigkeit vorzunehmen, denn in allen Fällen, wo man bei chemischen Nachweisen von an den Elektroden festhaftenden Stoffen auf Schwierigkeiten stößt, kann vielleicht diese sehr empfindliche Methode zum Ziele führen.

Auf Veranlassung von Herrn Gicklhorn sind schließlich noch Lösungsgemische, und zwar mit Harnstoff und Zucker versetzte Sera

zur Untersuchung der zeitlichen Potentialdifferenzverschiebung gelangt. Rinderserum bewirkt an der Anode eine Verkleinerung des Potentialabfalls (Abb. 12), an der Kathode eine Vergrößerung. Gemische, bestehend aus $\frac{1}{2}$ Serum + $\frac{1}{2}$ Ringerlösung + 10 Proz. Harnstoff und

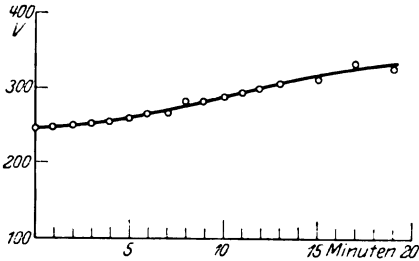


Abb. 13. $\frac{1}{2}$ Rinderserum + $\frac{1}{2}$ Ringerlösung + 10 Proz. Harnstoff, Kathode.

$\frac{1}{2}$ Serum + $\frac{1}{2}$ Ringerlösung + 10 Proz. Dextrose ergeben die Kathodenkurven der Abb. 13 und 14. Die Ringerlösung allein ruft an der Kathode den in Abb. 15 wiedergegebenen Potentialdifferenzanstieg hervor. Es ist also schon beim reinen Serum schwer anzugeben, wie groß der Einfluß der gelösten Salze ist. Aus den Abb. 13 und 14 läßt sich nunmehr

um so weniger schließen, daß auch hier der Harnstoff oder die Dextrose genau so wie in ihren wässrigen Lösungen zur Kathode wandern. In diesen beiden Fällen wird sich eine Entscheidung nur durch eine Abstufung der Zusätze zum Serum herbeiführen lassen, indem man bei verschiedenen Zusätzen verschiedene Anstiegswinkel der Kurven erwarten darf, und daraus, ob diese mit der Konzentration größer oder kleiner werden, auf den Wanderungssinn der Zusätze wird schließen können.

Die Ringerlösung (Abb. 15) stellt selbst schon ein Gemisch von Elektrolyten dar; der bei ihr auftretende kathodische Anstieg deutet,

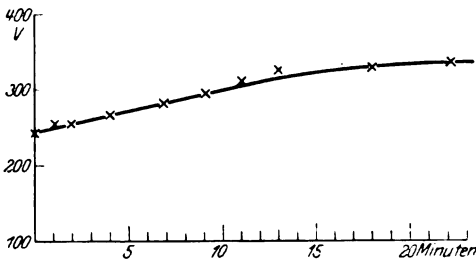


Abb. 14. $\frac{1}{2}$ Rinderserum + $\frac{1}{2}$ Ringerlösung + 10 Proz. Dextrose, Kathode.

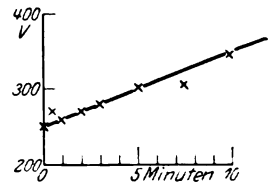


Abb. 15. Ringerlösung.

wie die sogleich zu besprechenden Versuche mit reinen Lösungen eines Salzes zeigen werden, daß die Mehrheit der in ihr enthaltenen Salze nach der Kathode wandern, wobei wir die Definition der Salzwanderung im elektrischen Felde als *gemeinsame* Wanderung beider Ionen eines Salzes nach einem Pol im Auge behalten wollen.

So konnte gezeigt werden, daß Salzsäure eine Potentialdifferenz-erhöhung an der Kathode, Kalilauge eine solche an der Anode hervor-

ruft. Abb. 16 gibt eine Kathodenkurve und Abb. 17 eine Anodenkurve von Natriumchlorid wieder. Im Einklang mit dem kathodisch beobachteten Wanderungssinn ist auch der kathodische Anstieg der Potentialdifferenz mit der Zeit eingetreten. In Übereinstimmung mit dem Experiment stehen auch die Messungen an anderen Salzen; so findet man den *kathodischen* Anstieg bei Kaliumchlorid, Kupferchlorid, Kaliumsulfat und anderem, während der *anodische* Anstieg bei Kaliumchromat und Kaliumcarbonat beobachtet werden konnte.

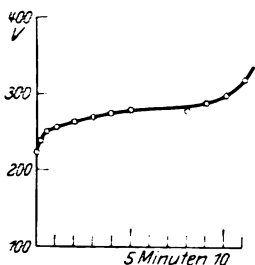


Abb. 16.
20 Proz. NaCl, Kathode.

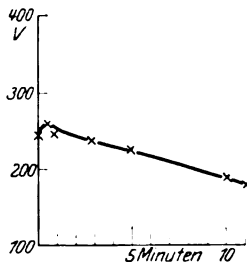


Abb. 17.
20 Proz. NaCl, Anode.

Im Zusammenhang sind noch etwas kompliziertere Untersuchungen über das Fortschreiten der Salze in den Elektroden, gleichfalls mit Hilfe elektrostatischer Messungen, durchgeführt worden. Es konnte gezeigt werden, daß man aus der zeitlichen Veränderung der Feldstärke in verschiedenen Punkten der Halbleiterelektroden Schlüsse auf das an beiden Elektroden völlig verschiedene Vordringen des Elektrolyten gewinnen kann. Näheres darüber enthält die gleichzeitig in der *Physikalischen Zeitschrift* erscheinende Publikation.

Untersuchungen über Malzkeimlinge und deren Nährwert¹⁾.

Von

M. Rubner (Berlin) und A. Schittenhelm (Kiel).

(Eingegangen am 19. November 1926.)

Bei der Keimung entwickelt der Embryo den Blatt- und den Wurzelkeim, deren Anlage bereits im ruhenden Samenkorn vorhanden ist. Je nach den Bedingungen, denen man das Korn aussetzt, kann eine normale oder einseitige Entwicklung des Keimlings erreicht werden. So entwickelt die Gerste bei ihrer besonderen Behandlung in der Mälzerei einen *Wurzelkeimling*, der aus dem Korn hervortritt und später entfernt wird. Aus diesen *Malzkeimlingen* wurden Trockenpräparate in Mehlform²⁾ hergestellt, die eine derartig zweckmäßige Beschaffenheit und Zusammensetzung aufweisen, daß uns ein eingehendes Studium dieser Präparate besonders lohnend erschien, um so mehr, als über die Malzkeime bis jetzt nur sehr wenige Untersuchungen vorliegen. Über die Zusammensetzung und Verdaulichkeit der im Korn ruhenden Keime von Weizen und Roggen, wie sie durch eine besondere Art der Vermahlung vom übrigen Korn isoliert werden können, hat der eine von uns³⁾ bereits früher Untersuchungen mit günstigem Resultat angestellt, wobei sie sich als ein leicht verdauliches Nährmaterial erwiesen haben, dessen gute Resorbierbarkeit offenbar auf den feinen Zellmembranen des Embryo beruht. Sie stellen also den unentwickelten Vollkeim dar, welcher aber nur mit mehr oder weniger anhängenden Kornresten verunreinigt gewonnen werden kann. Dagegen handelt es sich bei den jetzt zur Untersuchung vorliegenden Malzkeimlingen um eine *einseitig den Wurzelanteil betreffende fortgeschrittene Entwicklungsstufe* der ursprünglichen Keimanlage, welche leicht in reiner Form zu isolieren ist.

In der Landwirtschaft ist der *Nährwert der Malzkeime* längst erkannt worden. Als Mastfuttermittel für Jungvieh und als Mittel zur Förderung der Milchsekretion stehen die Keime an erster Stelle. Von

¹⁾ Sämtliche in der Arbeit angeführten Versuche wurden in der *medizinischen Klinik der Universität Kiel* durchgeführt.

²⁾ Die Präparate hat die „Matro“ G. m. b. H., Heilbronn a. N., zur Verfügung gestellt.

³⁾ Rubner, Arch. f. Anat. u. Physiol. (physiol. Abt.) 1916, S. 123 und S. 350.

ausschlaggebender Bedeutung ist dabei die Mannigfaltigkeit und Reichhaltigkeit ihrer Bestandteile, die in den biologischen Vorgängen begründet liegt, welche schließlich zu ihrer Entstehung führen. Bei dem Auskeimen des Kornkeimes werden ganz allgemein unter Einwirkung der die Stärke lösenden Diastase Dextrine und Maltose gebildet, und letztere wird zum Teil durch Glucose in Glucose übergeführt. Gleichzeitig werden die im Korn vorgebildeten Eiweißkörper durch eine von den Kleberzellen ausgehende Peptase in Polypeptide, Peptide und Aminosäuren gespalten. Es erlangt also das Korn die Fähigkeit, seine Reservestoffe in lösliche Form überzuführen, um sie dem Wachstum dienstbar zu machen. Da der Keim die gelösten Nährstoffe in erster Linie zur Streckung der Blattanlage und der Wurzeln verwendet, so ist es ohne weiteres einleuchtend, daß diese Organe mit allen lebenswichtigen Inhaltsstoffen reichlich versorgt werden, die dem zum Leben erwachten zarten Organismus von Natur aus geboten werden können. Bei den Malzkeimlingen kommt dieser in der Malztenne sich einleitende Umsetzungsprozeß der Gerste einseitig der Entwicklung der *Wurzelkeime* zugute.

So ist es nicht weiter verwunderlich, daß man in den Wurzelkeimen bis zu 30 und mehr Prozent N-Substanz vorfindet, und zwar in sämtlichen Varietäten, von der Aminosäure bis zum fertigen Eiweiß. Da der Gehalt an N-Substanz je nach der Keimdauer von 14 bis 30 Proz. schwanken kann, so hat man es weiterhin ganz in der Hand, die Anreicherung gewissermaßen bis zu dem jeweils gewünschten Grade vor sich gehen zu lassen.

Nach älteren Angaben von *I. C. Siebel* enthält die Trockensubstanz der Wurzelkeime in Wasser lösliche

Albumine und Legumine	0,92 Proz.
Peptone	0,75 „
Amide	13,54 „
in Wasser und Äther unlösliche Eiweißstoffe	19,97 „

O. Kellner fand in fünf Malzkeimproben mit 22,25 bis 34,5 Proz. N-haltigen Substanzen nur 17,29 bis 25,64 Proz. präformiertes Eiweiß. Vom Gesamtstickstoff seiner untersuchten Proben waren 23,1 bis 35,9 Proz. in nichteiweißartiger Bindung. Der Nährwert der Keime wird hierdurch keineswegs beeinträchtigt, denn es liegen ja neben Eiweiß Spaltungsprodukte des letzteren vor, welche gleichfalls für die Milchsekretion die günstigsten Nährwirkungen haben.

Nicht minder vielseitig erscheint die Zusammensetzung der N-freien Bestandteile, die von *Kellner* wie folgt angegeben sind:

Ätherextrakt	1,98 Proz.
Invertzucker und Lävulose	4,21 „
Rohrzucker	8,33 „
in Wasser und Äther unlösl. Kohlehydrat	35,61 „
„ „ „ „ „ „ Holzfasern	12,82 „

G. Kühn und Armsby geben für die Verdaulichkeit der einzelnen Bestandteile bei Tieren folgende Werte an:

für die N-Substanz	72,6 bis 100 Proz., im Mittel 81 Proz.
für das Rohfett	35 „ 100 „ „ „ 68 „
für die N-freien Extrakt- stoffe	58 „ 94 „ „ „ 76 „

Die Asche ist ähnlich wie bei der Hefe reich an Kali und Phosphorsäure mit Schwankungen von 22,5 bis 35 Proz. für Kali, 29,21 bis 30,64 Proz. für die Phosphorsäure. Der Kieselsäuregehalt der Asche schwankt zwischen 12,3 bis 24,4 Proz.

Ausführlich beschäftigt sich in neuerer Zeit mit der Untersuchung der Keime Baumann in seiner Dissertation betitelt: Beiträge zur chemischen Kenntnis der Malzkeime 1914. Das starke Quellungsvermögen der Malzkeime wird auf die Gegenwart von Gummikörpern zurückgeführt, die isoliert und näher charakterisiert werden, die Hydrolyse der Keime mit verdünnter Salzsäure liefert Xylose und Glucose, in den Keimen werden einwandfrei anyolytische und proteolytische Fermente nachgewiesen. Besonders interessieren auch seine Versuche über das Verhalten der Hefe zu Malzkeimauszügen und die Feststellung, daß die Hefe sich in einer Malzkeimnährlösung fast doppelt so stark vermehrt als in einem unter ähnlichen Bedingungen bereiteten Malzauszug.

Unser Material bestand aus einem staubfeinen, bräunlichen Mehl von außerordentlicher Zartheit mit kaum wahrnehmbarem, angenehmem Getreidegeruch und etwas bitterlichem, aber nicht unangenehmem Geschmack.

Die Untersuchung von zwei verschiedenen Proben hat ergeben:

	I Proz.	II Proz.
Gesamtstickstoff	4,92	4,93
Daraus errechnet N-Substanz	30,77	30,78
Feuchtigkeit	5,30	5,69
Asche	7,06	7,02
P ₂ O ₅ in der Asche		2,20
Ätherextrakt	2,03	1,98
Rohfaser nach Stiegler bestimmt	6,98	6,51
Pentosane	14,82	14,97
Zucker vor Inversion	11,49	11,44
" nach	4,38	4,78
Zucker nach Hydrolyse mit verdünnter Salz- säure als Glucose	13,38	13,01
Dextrine		
Purinstickstoff	0,198	0,204

Der Purinstickstoff ist besonders niedrig und im Blattkeimmehl wesentlich höher, wo wir ihn zu 0,84 Proz. ermittelt haben. Von der Gesamtsubstanz des untersuchten Keimmehls sind rund 33 Proz. wasserlösliche Stoffe, in denen auf Originalsubstanz bezogen 2 Proz. Stickstoff und 4,9 Proz. Aschebestandteile ermittelt wurden. Etwa 30 bis 40 Proz. des löslichen Stickstoffs sind formoltitrierbarer Aminostickstoff.

Aus dem Analysenergebnis kann geschlossen werden, daß in dem Präparat von Malzkeimlingen ein wohl beachtenswertes Material vorliegt, dessen Bestandteile zum guten Teile als Assimilationszwischenstufen für den wachsenden Organismus aufzufassen sind, um in diesem in lebendige Substanz umgeformt und damit zum Abschluß der Entwicklung gebracht zu werden. Es mag hier Erwähnung finden, daß auf den *Vitamingehalt* gerichtete Untersuchungen, über die nach deren völligem Abschluß ausführlicher berichtet werden soll, ergeben haben, daß — wie es schon für die Keime überhaupt bekannt ist — auch die Malzkeimlinge mehrere Vitamine besitzen.

Die Malzkeime werden interessanterweise in Südfrankreich als „Hausmittel“ besonders beim Vorliegen von Darmstörungen mit Durchfall verwandt und sind deshalb zum Gegenstand chemischer Untersuchungen geworden, welche das Vorkommen eines pharmakologisch recht interessanten Körpers — des *Hordeinins* — ergaben [*Léger*¹⁾, *Gäbel*²⁾], das in seiner Konstitution dem Tyramin nahesteht.

Das Verhalten von zwei Proben Malzkeimmehl wurde vorerst zur Orientierung im *künstlichen Verdauungsversuch* näher geprüft.

Zu dem Zwecke wurden zweimal je 3,5 g des Mehles mit 150 ccm Wasser von 50 bis 55° etwa 1 Stunde an der Turbine extrahiert, hierauf auf einem Faltenfilter von 12 cm Durchmesser filtriert und mit etwa 100 ccm Wasser von 55° nachgewaschen (a 1 und a 2). Die Niederschläge werden zusammen in einem 1-Liter-Becherglas mit 800 ccm Wasser aufgeschwemmt und mit 40 ccm 10proz. Salzsäure und 2 g Pepsin 4 Stunden am Rührwerk bei 38 bis 40° verdaut, hierauf das Unlösliche abfiltriert und nach *Kjeldahl* verbrannt.

Filtrat a 1 wird eingedampft, nach *Kjeldahl* verbrannt zur Ermittlung des löslichen N. Aus Filtrat a 2 werden Albumosen und Peptone mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag nach *Kjeldahl* verbrannt. Aus der Differenz zum löslichen N berechnet sich der Aminosäurestickstoff.

So wurde gefunden:

	Keimmehl	
	abgeröstet Proz.	frisch Proz.
Gesamt-N	4,53	4,64
Davon löslich	2,19	2,36
Albumosen + Pepton-N	0,78	0,88
Unverdauter N	0,71	0,786
Aminostickstoff	0,85	0,64

Der Verdauungsversuch mit Pepsinsalzsäure in vitro hat also ein *günstiges* Resultat ergeben.

¹⁾ *Léger*, C. r. de l'acad. d. scienc. 142, 108, 1906.

²⁾ *Gäbel*, Arch. f. Pharm. 244, 435, 1906.

Wir haben nunmehr das Verhalten des Mehles aus Malzkeimlingen im *Stoffwechselversuch*¹⁾ geprüft. Als Versuchstier wählten wir den Hund. Es ergab sich bald, daß die Tiere das Mehl, im übrigen Futter verrührt, ohne Widerwillen gern nahmen.

Versuch Hund Nr. 1.

Nahrung des Hundes.

- I. 12. bis 18. Juni 1925. 30 g Fleischpulver, 50 g Fett, 40 g Stärke, 40 g Zucker, 2 g NaCl, enthaltend 2,98 g N.
 II. 19. bis 23. Juni 1925. 68 g *Malzkeimmehl*, 40 g Stärke, 40 g Zucker, 50 g Fett, 2 g NaCl, enthaltend 2,98 g N.
 III. 24. bis 30. Juni 1925. Wie unter I.

Analyse des Keimmehls. N 4,25, 4,30, 4,28 Proz. P₂O₅ 1,16, 2,18 Proz. Purin N 0,198, 0,204 Proz.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Ausgeschieden im Urin			Ausgeschieden im Stuhl		Körper- gewicht kg	
			Menge ccm	Spez.Gew. g	N g	Menge g	N g		
12. VI.	2,98		720	1,005	1,94	34	2,26	8,9	
13. VI.	2,98		750	1,006	2,35			8,9	
14. VI.	2,98		470	1,007	1,92			8,9	
15. VI.	2,98		760	1,006	2,33			8,9	
16. VI.	2,98		870	1,005	2,45			8,9	
17. VI.	2,98		1080	1,003	2,02			8,9	
18. VI.	2,98		760	1,006	2,69			8,9	
	2,98				2,24			4,86	0,32
19. VI.		2,92	900	1,004	2,17	162	4,31	8,9	
20. VI.		2,92	710	1,005	1,95			8,9	
21. VI.		2,92	540	1,008	1,98			8,9	
22. VI.		2,92	280	1,015	1,83			8,9	
23. VI.		2,92	500	1,000	2,07			8,9	
		2,92			2,00	32,4	0,86		
24. VI.	2,98		780	1,007	2,22	21	2,18	8,9	
25. VI.	2,98		770	1,005	2,30			8,9	
26. VI.	2,98		740	1,005	2,07			9,0	
27. VI.	2,98		920	1,004	1,99			8,9	
28. VI.	2,98		900	1,005	2,40			8,9	
29. VI.	2,98		920	1,004	2,47			8,9	
30. VI.	2,98		860	1,005	2,30			8,9	
	2,98				2,25			3,00	0,31

¹⁾ Bei der Durchführung sämtlicher in der Arbeit angeführten Stoffwechselversuche hat uns Herr Dr. *Warnat* in anerkennenswerter Weise unterstützt.

Bilanz des Versuchs 1.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	2,98	2,92	2,98
Kot-N	0,32	0,86	0,31
Resorbierter N	2,66	2,06	2,67
Harn-N	2,24	2,00	2,25
Angesetzter N	+ 0,42	+ 0,06	+ 0,42

Das Tier befindet sich zu Beginn des Versuchs in schwachem N-Ansatz und erreicht in der Hauptperiode nach Ersatz der Fleischration durch Keimmehl fast N-Gleichgewicht. Der Ausgleich findet in der Hauptperiode so statt, als wenn die Fleischration weitergereicht worden wäre, das Gewicht hält sich entsprechend konstant.

Der Verlust an N in der Hauptperiode beträgt rund 29,5 Proz. und ist somit von ähnlicher Größenordnung wie beim Brotstickstoff. Hinzu kommt, daß der Hund an sich pflanzliches Eiweiß derartiger Beschaffenheit und bei Gegenwart stärkemehlartiger Zutaten schlecht ausnutzt, wie sich noch im folgenden Versuch zeigt.

Versuch Hund Nr. 2.

Nahrung des Hundes.

I. 27. Juli bis 2. August. 600 g gekochte Kartoffeln, 20 g Fett, 1 g Kochsalz, enthaltend 1,80 g N, 0,44 g P₂O₅.

II. 3. bis 8. August. 300 g gekochte Kartoffeln, 20 g Fett, 1 g Kochsalz + Zulage von 50 g *Malzkeimmehl*, enthaltend
 0,90 g N } 3,15 g 0,22 }
 2,15 g N } 1,08 } 1,30 g P₂O₅.

III. 9. bis 15. August. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körper- gewicht des Hundes kg
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g	
27. VII.	1,80		0,44		240	1,027	1,05	0,31	187	3,52	1,01	6,0
28. VII.	1,80		0,44		440	1,016	1,24	0,34				5,9
29. VII.	1,80		0,44		270	1,020	0,97	0,33				5,9
30. VII.	1,80		0,44		300	1,019	1,12	0,33				6,0
31. VII.	1,80		0,44		530	1,012	1,32	0,29				6,0
1. VIII.	1,80		0,44		540	1,014	1,31	0,30				5,9
2. VIII.	1,80		0,44		480	1,014	1,28	0,32	6,0			
	1,80		0,44				1,18	0,32	26,71	0,50	0,14	—

Versuch Hund Nr. 2 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung		Nahrung		Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergewicht des Hundes kg			
	enthält N g	Zulage enthält N g	enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g				
3. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	460	1.017	1.95	0.86	113	4.21	1.85	6.0			
4. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	370	1.021	1.61	0.90				6.0			
5. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	480	1.022	1.98	1.07				6.1			
6. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	520	1.016	1.70	0.96				6.1			
7. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	580	1.015	1.84	0.81				6.1			
8. VIII.	0.90	2.15	0.22	1.08	530	1.017	1.93	0.96				6.1			
	3.05		1.30				1.84	0.91				18.39	0.70	0.31	
9. VIII.	1.80		0.44		370	1.020	1.42	0.54				1.64	3.39	1.21	6.1
10. VIII.	1.80		0.44		720	1.012	1.38	0.32	6.1						
11. VIII.	1.80		0.44		610	1.014	1.14	0.35	6.0						
12. VIII.	1.80		0.44		600	1.011	1.10	0.28	6.1						
13. VIII.	1.80		0.44		430	1.015	1.21	0.29	6.1						
14. VIII.	1.80		0.44		440	1.015	1.12	0.31	6.1						
15. VIII.	1.80		0.44		520	1.012	1.15	0.31	6.1						
	1.80		0.44				1.22	0.37	23.43	0.48	0.17				

Bilanz des Versuchs 2.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	1.80	3.05	1.80
Kot-N	0.50	0.70	0.48
Resorbierter N	1.30	2.35	1.32
Harn-N	1.18	1.84	1.22
Angesetzter N	+ 0.12	+ 0.51	+ 0.10

Die Zulage an Keimmehl in der Hauptperiode bewirkt einen *leichten N-Ansatz*, verbunden mit einer entsprechenden *Gewichtszunahme*, die sich auch auf die Nachperiode überträgt.

Der N-Verlust beträgt in der Vorperiode bei reiner Kartoffelnahrung 27.7 Proz. in der Hauptperiode unter Abrechnung des N-Verlustes der Kartoffelzulage nur 20 Proz. der Zulage von 2,15 Proz. N pro Tag.

Versuch Hund Nr. 3.

Nahrung des Hundes.

I. 5. bis 11. September. 250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P₂O₅), 25 g Fleischpulver (2,58 g N, 0,33 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

II. 12. bis 18. September. 250 g Kartoffeln, 55 g *Malzkeimmehl* (2,55 g N, 1,19 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

III. 19. bis 25. September. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körper- gewicht des Hundes kg			
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g				
5. IX.	3.33		0.51		530	1.014	2.40	0.45	65	3.08	1.21	7,1			
6. IX.	3.33		0.51		430	1.017	2.45	0.27				7,1			
7. IX.	3.33		0.51		520	1.013	2.53	0.44				7,2			
8. IX.	3.33		0.51		460	1.016	2.54	0.34				7,2			
9. IX.	3.33		0.51		530	1.012	2.70	0.43				7,1			
10. IX.	3.33		0.51		570	1.012	3.03	0.38				7,1			
11. IX.	3.33		0.51		480	1.019	2.41	0.40				7,1			
	3.33		0.51				2.58	0.39				9.30	0.44	0.17	
12. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	430	1.020	2.29	0.86				164	4.94	2.45	7,1
13. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	430	1.020	2.08	0.86							7,1
14. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	410	1.020	1.94	0.93							7,1
15. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	490	1.021	3.09	1.06	7,0						
16. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	380	1.024	2.01	0.91	7,0						
17. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	420	1.022	2.04	0.95	7,0						
18. IX.	0.75	2.55	0.18	1.19	520	1.018	2.25	0.99	7,0						
	3.30		1.37				2.24	0.93	23.4	0.71	0.35				
19. IX.	3.33		0.51		530	1.017	2.56	0.65	50	2.92	1.05	7,0			
20. IX.	3.33		0.51		460	1.016	2.45	0.55				7,0			
21. IX.	3.33		0.51		420	1.018	2.66	0.38				6,9			
22. IX.	3.33		0.51		550	1.018	2.35	0.35				6,9			
23. IX.	3.33		0.51		510	1.017	3.14	0.41				7,0			
24. IX.	3.33		0.51		420	1.019	2.44	0.39				7,0			
25. IX. *)	3.33		0.51									7,0			
	3.33		0.51				2.60	0.46	7.15	0.42	0.15				

*) Urin verloren gegangen.

Bilanz des Versuchs Nr. 3.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,33	3,30	3,33
Kot-N	0,44	0,71	0,42
Resorbierter N . . .	2,89	2,59	2,91
Harn-N	2,58	2,24	2,60
Angesetzter N	+ 0,31	+ 0,35	+ 0,31

Der Ersatz der Fleischration in der Hauptperiode durch die äquivalente Menge Keimmehl ist für den Ausgleich belanglos, dieser findet genau so

statt, als wenn die Grundkost weitgereicht worden wäre. Das Tier befindet sich in ganz leichtem *N-Ansatz*, der sich im Gewicht nicht weiter bemerkbar macht.

Der *N-Verlust* beträgt in der Vorperiode bereits 13,2 Proz., in der Hauptperiode nach Abzug des Kartoffel-*N-Verlustes* (der vorher mit 27,8 Proz. der Einfuhr ermittelt wurde) 19,7 Proz., ohne sich aber auf *Ansatz* und Gewicht bemerkbar zu machen.

Versuch Hund Nr. 4.

Nahrung des Hundes.

I. 22. bis 28. November. 250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P_2O_5), 25 g Fleischpulver (2,88 g N, 0,36 g P_2O_5), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

II. 29. November bis 5. Dezember. 150 g Kartoffeln (0,45 g N, 0,11 g P_2O_5), 55 g Malzkeimmehl (2,64 g N, 1,19 g P_2O_5), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

III. 6. bis 12. Dezember. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P_2O_5 g	Zulage enthält P_2O_5 g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergewicht des Hundes kg
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P_2O_5 g	Menge g	N g	P_2O_5 g	
22. XI.	3.63		0.54		490	1.014	2.63	0.40	62	3.96	1.08	6.9
23. XI.	3.63		0.54		540	1.012	2.24	0.36				
24. XI.	3.63		0.54		620	1.012	2.21	0.33				
25. XI.	3.63		0.54		560	1.014	2.18	0.20				
26. XI.	3.63		0.54		390	1.019	2.06	0.19				
27. XI.	3.63		0.54		570	1.016	2.51	0.42				
28. XI.	3.63		0.54		620	1.012	2.80	0.39				
	3.63		0.54				2.38	0.33	8.85	0.57	0.15	
29. XI.	0.45	2.64	0.11	1.19	510	1.017	1.95	0.91	169	5.18	2.06	6.9
30. XI.	0.45	2.64	0.11	1.19	280	1.022	1.88	0.78				
1. XII.	0.45	2.64	0.11	1.19	610	1.015	2.29	0.94				
2. XII.	0.45	2.64	0.11	1.19	580	1.014	2.29	1.01				
3. XII.	0.45	2.64	0.11	1.19	480	1.015	2.20	0.94				
4. XII.	0.45	2.64	0.11	1.19	480	1.016	2.25	0.91				
5. XII.	0.45	2.64	0.11	1.19	470	1.017	2.29	0.85				
	3.09		1.30				2.16	0.91	24.14	6.74	0.29	
6. XII.	3.63		0.54		560	1.012	2.25	0.55	74	3.07	1.33	6.9
7. XII.	3.63		0.54		480	1.013	2.35	0.31				
8. XII.	3.63		0.54		650	1.013	2.59	0.47				
9. XII.	3.63		0.54		230	1.010	2.26	0.29				
10. XII.	3.63		0.54		520	1.012	2.51	0.36				
11. XII.	3.63		0.54		590	1.011	2.45	0.34				
12. XII.	3.63		0.54		550	1.012	2.63	0.34				
	3.63		0.54				2.43	0.38	10.14	0.44	0.19	

Bilanz des Versuchs 4.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,63	3,09	3,63
Kot-N	0,57	0,74	0,44
Resorbierter N	3,06	2,35	3,19
Harn-N	2,38	2,16	2,43
Angesetzter N	+ 0,68	+ 0,19	+ 0,76

Es ist fast das gleiche Bild wie im Vorversuch, die N-Verluste in der Vorperiode rund 15, in der Hauptperiode 23,5 Proz.

Versuch Hund Nr. 5.

Nahrung des Hundes.

- I. 26. September bis 2. Oktober. 250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P₂O₅), 25 g Fleischpulver (2,58 g N, 0,33 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.
- II. 3. bis 9. Oktober. 250 g Kartoffeln, 55 g Malzkeimmehl (neue Versuchsreihe „c“) (2,66 g N, 1,18 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.
- III. 10. bis 16. Oktober. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körper- gewicht des Hundes kg			
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g				
26. IX.	3,33		0,51		460	1,016	2,57	0,41	62	2,93	1,10	7,0			
27. IX.	3,33		0,51		520	1,015	2,69	0,37				7,0			
28. IX.	3,33		0,51		550	1,014	2,51	0,41				6,9			
29. IX.	3,33		0,51		600	1,014	2,58	0,36				6,9			
30. IX.	3,33		0,51		460	1,018	2,69	0,38				6,9			
1. X.	3,33		0,51		580	1,013	2,69	0,47				6,9			
2. X.	3,33		0,51		580	1,012	2,88	0,34	6,9						
	3,33		0,51				2,66	0,39	8,86	0,42	0,16				
3. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	480	1,015	2,46	1,06	243	4,33	1,76	6,9			
4. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	570	1,017	2,45	1,11				6,9			
5. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	580	1,017	2,29	1,21				6,8			
6. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	750	1,014	2,59	1,20				6,9			
7. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	510	1,018	2,34	1,20				6,9			
8. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	570	1,017	2,37	1,16				6,9			
9. X.	0,75	2,66	0,18	1,18	730	1,012	2,29	1,08				6,9			
	3,41		1,36				2,40	1,15				34,7	0,62	0,25	

Versuch Hund Nr. 5 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin			Ausgeschieden i. Stuhl			Körper- gewicht des Hundes kg	
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g		P ₂ O ₅ g
10. X.	3,33		0,51		650	1,015	2,51	0,42	64	3,44	1,05	6,9
11. X.	3,33		0,51		590	1,016	2,68	0,45				
12. X.	3,33		0,51		640	1,014	2,28	0,31				
13. X.	3,33		0,51		640	1,015	2,82	0,40				
14. X.	3,33		0,51		390	1,020	2,95	0,38				
15. X.	3,33		0,51		300	1,022	2,71	0,42				
16. X.	3,33		0,51		430	1,018	2,61	0,42				
	3,33		0,51				2,65	0,40	8,9	0,49	0,15	

Bilanz des Versuchs 5.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,33	3,41	3,33
Kot-N	0,42	0,62	0,49
Resorbierter N	2,91	2,79	2,84
Harn-N	2,66	2,40	2,65
Angesetzter N	+ 0,25	+ 0,39	+ 0,19

Dasselbe Tier wie im Versuch 4 erhält hier das Keimmehl in vorher *abgerösteter* Form. Der Stoffwechselversuch ergibt das übliche eindeutige Bild, Ausgleich in der Hauptperiode, als ob die Grundnahrung weitergereicht worden wäre. Die Ausnutzung des N ist aber eine *günstigere* geworden, der N-Verlust im Kote beträgt in der Vorperiode 12,6, in der Hauptperiode (nach Abzug des entsprechenden Verlustes an Kartoffelstickstoff) nur 15,4 Proz. der Einfuhr von 2,66 g pro Tag. Es hängt dies offensichtlich mit der erwähnten Vorbehandlung des Materials zusammen.

Die Versuche an Hunden haben ergeben, daß das Malzkeimmehl gut genommen und vertragen wird. Obwohl die Resorptionsverhältnisse beim Hunderversuch und die Verluste an N durch den Kot nicht unerheblich waren, so hielten sich die letzteren doch im allgemeinen niedriger als diejenigen, die wir bei Brotfütterung am Menschen zu sehen gewohnt sind. Die Gewichtskurven spiegeln das *günstige* Resultat wieder.

Nach diesen Feststellungen schritten wir zur Vorbereitung der Versuche am Menschen. Wir wählten hierzu nicht das reine Malzkeimmehl, sondern eine *Mischung* desselben mit Malzmehl und Hefemehl¹⁾. Diese Mischung, welche wir weiterhin als „*Alentina*“

¹⁾ Siehe nachstehende Arbeit von Schittenhelm, Massatsch und Warnat.

bezeichnen, sollte eventuell die Grundlage für ein entsprechendes Nährpräparat abgeben. Über das dabei verwandte Hefemehl wurde in einer anderen Mitteilung von dem einen von uns in Gemeinschaft mit *Massatsch* und *Warnat*¹⁾ eingehend berichtet. Seine Ausnutzung hat sich im Stoffwechselversuch an Mensch und Hund vorzüglich bewährt. Das Malzmehl wurde als weitere Komponente gewählt, weil es infolge der vorn geschilderten Vorgänge bei der Mälzung besondere chemische Eigenschaften erworben hat, welche wir als günstig betrachteten. Die Ergebnisse der Lehre von den Ergänzungsstoffen hat die Betrachtung von Nährpräparaten auch nach dieser Richtung notwendig gemacht. Es kommt darauf an, diese an sich noch nicht darstellbaren Körper in dem ganzen Nährstoffkomplex zu erhalten und deshalb auch tiefgreifende Änderung der Vitaminträger zu vermeiden.

Diese Überlegungen finden auch auf das Präparat „Alentina“ Anwendung, welches das *System Malz—Keimling—Hefe* enthält mit Bestandteilen, von denen jeder für sich wichtige und besondere Eigenschaften besitzt, welche sich in der Kombination zu summieren versprechen.

Wir stellten zunächst *Versuche mit „Alentina“ am Hunde* an.

Versuch Hund Nr. 6.

Nahrung des Hundes.

- I. 18. bis 24. Juli. 30 g Fleischpulver, 50 g Fett, 40 g Zucker, 40 g Stärke, 2 g Kochsalz, enthaltend 2,70 g N, 0,34 g P₂O₅.
- II. 25. bis 31. Juli. 80 g *Mischpräparat „Alentina“*, 50 g Fett, 40 g Stärke, 40 g Zucker, 2 g Kochsalz, enthaltend 2,60 g N, 1,84 g P₂O₅.
- III. 1. bis 7. August. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergewicht des Hundes kg
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g	
18. VII.	2,76		0,34		960	1,003	2,56	0,26	} 28	1,62	0,32	8,8
19. VII.	2,76		0,34		480	1,010	2,13	0,30				
20. VII.	2,76		0,34		520	1,007	2,25	0,33				
21. VII.	2,76		0,34		760	1,005	2,14	0,27				
22. VII.	2,76		0,34		690	1,006	2,19	0,25				
23. VII.	2,76		0,34		540	1,008	2,38	0,31				
24. VII.	2,76		0,34		700	1,007	1,92	0,34				
	2,76		0,34				2,22	0,29	4,0	0,23	0,05	

¹⁾ *Schittenhelm, Massatsch, Warnat*, diese Zeitschr. 180, 454, 1927.

Versuch Hund Nr. 6 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körper- gewicht des Hundes kg
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g	
25. VII.		2,60		1,84	440	1,014	1,91	0,98	94	3,56	3,38	8,8
26. VII.		2,60		1,84	660	1,016	2,14	1,00				8,8
27. VII.		2,60		1,84	570	1,014	1,95	1,28				8,8
28. VII.		2,60		1,84	370	1,019	2,14	1,10				8,8
29. VII.		2,60		1,84	380	1,016	1,98	0,99				8,8
30. VII.		2,60		1,84	490	1,021	2,35	1,39				8,8
31. VII.		2,60		1,84	280	1,023	1,91	1,03				8,8
		2,60		1,84			2,06	1,11	13,45	0,51	0,48	
1. VIII.	2,76		0,34		720	1,010	2,22	0,28	26	1,96	0,48	8,8
2. VIII.	2,76		0,34		800	1,009	1,99	0,34				8,8
3. VIII.	2,76		0,34		700	1,006	2,30	0,29				8,7
4. VIII.	2,76		0,34		620	1,006	2,16	0,37				8,7
5. VIII.	2,76		0,34		630	1,008	2,14	0,33				8,8
6. VIII.	2,76		0,34		590	1,007	2,02	0,28				8,8
7. VIII.	2,76		0,34		610	1,007	1,98	0,26				8,8
	2,76		0,34				2,12	0,31	3,71	0,28	0,04	

Bilanz des Versuchs 6.

Hund Nr. 6.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	2,76	2,60	2,76
Kot-N	0,23	0,51	0,28
Resorbierter N	2,53	2,19	2,48
Harn-N	2,22	2,06	2,12
Angesetzter N	0,31	0,13	0,36

Die Bilanz unterscheidet sich in nichts von den früheren. Die Ausnutzung der N-Substanz im Ansatz und Gewicht bleibt sich gleich, der N-Verlust durch den Kot in der Hauptperiode 19,7 Proz.

Versuch Hund Nr. 7.

Nahrung des Hundes.

- I. 1. bis 9. Oktober. 250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P₂O₅), 25 g Fleischpulver (2,58 g N, 0,33 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.
- II. 10. bis 16. Oktober. 250 g Kartoffeln, 75 g *Mischpräparat „Alentina“* (Versuch 16a), 2,58 g N, 1,61 g P₂O₅), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.
- III. 17. bis 23. Oktober. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung ent- hält P ₂ O ₅ g	Zulage ent- hält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin			Ausgeschieden im Stuhl			Körpergew. des Hundes kg	
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g		P ₂ O ₅ g
1. X.	3,33		0,51		570	1,013	2,41	0,41	47	2,49	0,98	7,1
2. X.	3,33		0,51		590	1,013	2,56	0,35				7,1
3. X.	3,33		0,51		510	1,014	2,25	0,21				7,0
4. X.	3,33		0,51		550	1,011	2,57	0,34				7,0
5. X.	3,33		0,51		610	1,012	2,64	0,48				7,0
6. X.	3,33		0,51		510	1,015	2,43	0,34				7,0
7. X.	3,33		0,51		590	1,015	2,61	0,42				7,1
8. X.	3,33		0,51		510	1,015	2,44	0,36				7,1
9. X.	3,33		0,51		550	1,013	2,39	0,30				7,1
	3,33		0,51				2,48	0,36	5,22	0,48	0,11	
10. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	390	1,018	2,02	0,90	2,02	5,47	4,12	7,1
11. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	580	1,017	2,07	0,95				7,1
12. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	640	1,016	2,35	1,16				7,1
13. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	450	1,020	2,09	1,01				7,1
14. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	620	1,016	2,05	0,87				7,0
15. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	660	1,012	2,16	0,98				7,1
16. X.	0,75	2,58	0,18	1,61	620	1,018	2,18	0,92	7,1			
	3,33		1,78				2,13	0,97		0,78	0,59	
17. X.	3,33		0,51		690	1,012	2,52	0,66	38	3,62	0,63	7,0
18. X.	3,33		0,51		650	1,014	2,46	0,52				7,1
19. X.	3,33		0,51		540	1,015	2,36	0,39				7,1
20. X.	3,33		0,51		800	1,010	2,75	0,40				7,1
21. X.	3,33		0,51		710	1,012	2,45	0,34				7,0
22. X.	3,33		0,51		710	1,011	2,32	0,46				7,1
23. X.	3,33		0,51		680	1,012	2,45	0,43				7,1
	3,33		0,51				2,45	0,46	5,45	0,52	0,09	

Bilanz des Versuchs 7.

Hund Nr. 7.

	Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
	g N	g N	g N
Einfuhr	3,33	3,33	3,33
Kot-N	0,48	0,78	0,52
Resorbierter N	2,85	2,55	2,81
Harn-N	2,48	2,13	2,45
Angesetzter N	0,37	0,42	0,36

Auch im vorliegenden ist das Bild der Hauptperiode gegenüber der Vorperiode kaum verschoben, der Ausgleich in der Hauptperiode findet genau so statt, als ob die Grundnahrung weitergereicht worden wäre. Der N-Verlust in der Hauptperiode beträgt wiederum etwa 20 Proz.

Versuch Hund Nr. 8.

Nahrung des Hundes.

I. 10. bis 16. September. 25 g Fleischpulver (2,58 g N, 0,33 g P_2O_5),
250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P_2O_5), 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

II. 17. bis 23. September. 80 g Mischpräparat „Alentina“ (2,72 g N, 1,84 g
 P_2O_5). 250 g Kartoffeln, 20 g Fett, 2 g Kochsalz.

III. 24. bis 30. September. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N		Zulage enthält N		Nahrung enthält P_2O_5		Zulage enthält P_2O_5		Ausgeschieden im Urin			Ausgeschieden im Stuhl			Körpergew. des Hundes kg											
	g	g	g	g	Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P_2O_5 g	Menge g	N g	P_2O_5 g	Menge g	N g	P_2O_5 g												
																g	g	g	g	g						
10. IX.	3,33		0,51		520	1,017	3,10	0,49	62	3,36	1,03	7,2														
11. IX.	3,33		0,51		540	1,016	2,52	0,45							7,1											
12. IX.	3,33		0,51		460	1,016	1,87	0,40										7,1								
13. IX.	3,33		0,51		610	1,012	2,72	0,46													7,1					
14. IX.	3,33		0,51		480	1,018	2,25	0,44																7,2		
15. IX.	3,33		0,51		570	1,016	2,63	0,36																		
16. IX.	3,33		0,51		500	1,015	2,45	0,30	7,2																	
	3,33		0,51				2,51	0,41				8,86	0,48	0,15												
17. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	440	1,021	2,20	0,89				226	5,86	6,46	7,2											
18. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	690	1,016	1,98	0,92									7,2									
19. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	470	1,019	1,92	0,98												7,1						
20. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	400	1,016	2,39	0,88															7,1			
21. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	470	1,018	2,15	0,98	7,0																	
22. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	640	1,017	2,19	0,91																		7,1
23. IX.	0,75	2,72	0,18	1,84	570	1,015	2,38	0,95				7,1														
		3,47		2,02			2,17	0,93							32,3	0,84	0,92									
24. IX.	3,33		0,51		510	1,015	2,39	0,55							56	3,54	0,96	7,1								
25. IX.	3,33		0,51		620	1,015	2,60	0,40												7,1						
26. IX.	3,33		0,51		510	1,016	2,46	0,35	7,2																	
27. IX.	3,33		0,51		520	1,015	2,90	0,36															7,1			
28. IX.	3,33		0,51		530	1,015	2,05	0,37				7,1														
29. IX.	3,33		0,51		580	1,014	2,39	0,41																		7,1
30. IX.	3,33		0,51		540	1,015	2,42	0,28							7,1											
	3,33		0,51				2,46	0,39										8,0	0,51	0,14						

Bilanz des Versuchs 8.
Hund Nr. 8.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,33	3,47	3,33
Kot-N	0,48	0,84	0,51
Resorbierter N	2,85	2,63	2,82
Harn-N	2,51	2,17	2,46
Angesetzter N	0,34	0,46	0,36

Genau das gleiche Bild wie im vorigen; der N-Verlust im Kote ebenfalls von gleicher Größenordnung.

Die Versuche mit dem Präparat „Alentina“ haben im allgemeinen beim Hunde ein Resultat gegeben, wie wir es nach den Versuchen mit Hefemehl einerseits und mit Malzkeimmehl andererseits erwarten konnten, die Ausnutzung darf als *günstig* betrachtet werden.

Betreffs der Auslegung der Ergebnisse der Hunderversuche müssen wir noch auf eine Tatsache aufmerksam machen, welche ein neues Licht auf die Vorgänge im Darmkanal wirft. Wenn man alle mit den beiden Präparaten am Hunde ausgeführten Versuche betrachtet, so haben sie das Gemeinsame, daß zwar in den Fütterungsperioden mit den Präparaten etwas mehr N im Kote erscheint; aber beachtenswert ist, daß die Harnstickstoffausscheidung in allen Experimenten dafür in der Hauptperiode geringer ist, wodurch als Gesamtergebnis eine *Gleichwertigkeit der Präparate mit den anderen in Vor- und Nachperiode gefütterten Substanzen sich ergibt*. Für diesen zahlenmäßig feststehenden Vorgang gibt es keine andere Erklärung, als die Annahme eines gleich großen N-Umsatzes der Hauptperiode zu der Vor- und Nachperiode, mit der einzigen Modifikation, daß die Verteilung des abgebauten N auf Harn und Kot eine andere ist. Eine Erklärung findet sich wohl darin, daß die durch die vegetabilischen Nahrungsmittel ersichtlich gesteigerte Kotmenge einen Teil von Abbauprodukten des Eiweißes zurückhält, die sonst den Weg nach dem Harn angetreten hätten.

Da auch dieses Präparat gern genommen und gut vertragen wurde, so stand nichts im Wege, nunmehr die Versuche auch auf den *Menschen* auszudehnen.

Versuch 1. G. B.

Vorperiode (1. bis 7. Tag). 100 g Fleisch (3,4 g N, 0,5 g P₂O₅), 200 g Schwarz-, 200 g Feinbrot, 300 g Kartoffeln, 300 g Gemüse, 400 g Milch, 1 Ei (10,0 g N, 2,6 g P₂O₅), 100 g Butter.

Hauptperiode (8. bis 14. Tag). 100 g Mischpräparat „Alentina“. (4,8 g N, 2,2 g P₂O₅), 100 g Schwarz-, 200 g Feinbrot, 200 g Kartoffeln, 300 g Gemüse, 400 g Milch, 1 Ei (8,0 g N, 2,2 g P₂O₅), 100 g Butter.

Nachperiode (15. bis 21. Tag). Wie unter I. Das Präparat wurde mit Milch als Suppe zubereitet und vom Patienten sehr gern gegessen.

Tag	Nahrung (pflanzl. Teil) enthält N		Nahrung (Fleisch) enthält N		Zulage enthält N	Nahrung (pflanzl. Teil) enth. P ₂ O ₅		Nahrung (Fleisch) enthält P ₂ O ₅		Zulage enthält P ₂ O ₅	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht
	g	g	g	g		g	g	g	Menge		Spez. Gewicht	N	P ₂ O ₅	Harnsäure	Menge	N	P ₂ O ₅		
	g	g	g	g		g	g	g	ccm		g	g	g	mg	g	g	g	kg	
1.	10,0	3,0		2,6	0,4			900	1023	9,6	2,8	527	184	9,1	6,9	55,0			
2.	10,0	2,8		2,6	0,4			920	1024	10,0	2,6	516							
3.	10,0	3,7		2,6	0,6			900	1023	10,3	2,5	507							
4.	10,0	3,5		2,6	0,6			900	1025	10,5	2,5	538							
5.	10,0	4,1		2,6	0,6			930	1026	10,5	2,5	398							
6.	10,0	2,8		2,6	0,4			820	1025	9,6	2,1	372							
7.	10,0	3,6		2,6	0,5			1600	1016	11,5	2,5	536							
	13,4			3,1				10,3			2,5	485	26,3	1,3	1,6				
8.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	750	1012	8,4	1,5	341	220	11,8	13,3	55,6					
9.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	750	1014	8,2	1,4	342									
10.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	750	1022	9,8	2,2	651									
11.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	600	1026	8,6	1,6	410									
12.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	460	1031	7,9	1,6	352									
13.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	700	1024	9,1	1,8	617									
14.	8,0	4,8	2,2	2,2	2,2	1020	1018	11,2	2,0	742									
	12,8			4,4				9,0			1,7	494	31,4	1,7	1,9				
15.	10,0	4,3	2,6	0,5		1070	1016	8,8	1,8	325	196	10,7	10,7	56,4					
16.	10,0	3,5	2,6	0,4		1050	1016	8,1	1,6	320									
17.	10,0	3,3	2,6	0,5		1000	1017	7,8	1,2	372									
18.	10,0	3,1	2,6	0,5		1050	1022	10,3	1,7	379									
19.	10,0	3,0	2,6	0,4		1400	1016	10,3	1,9	337									
20.	10,0	4,1	2,6	0,6		800	1021	8,7	1,5	287									
21.	10,0	2,7	2,6	0,4		810	1020	10,1	1,7	423									
	13,4			3,1				9,2			1,6	349	28,0	1,5	1,5				

Bilanz des Versuchs 1 (G. B.).

	Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
	g N	g N	g N
Einfuhr	13,4	12,8	13,4
Kot-N	1,3	1,7	1,5
Resorbiertes N	12,1	11,1	11,9
Harn-N	10,3	9,0	9,2
Angesetzter N	1,8	2,1	2,7

Patient befindet sich dauernd im N-Ansatz. Gleichgewicht wird auch in der Nachperiode nicht erreicht. Der Ausgleich in der Hauptperiode bei Ersatz der Fleischration durch die entsprechende Menge von „Alentina“ erfolgt genau so, als ob die Grundkost weitergereicht worden wäre. Die Ausnutzung des N in der Hauptperiode ist gegenüber der Vorperiode um ein geringes verschlechtert, was auf die gleichzeitige Verabreichung größerer Mengen stärke- und cellulosereicher Zutaten zurückzuführen ist. Sofern dies vermieden wird, ist die Ausnutzung eine ganz vorzügliche.

Versuch 2. Sitzmann.

Kost. 2 Eier, 50 g Zucker, 1000 g Milch, 500 g Milchsuppe, 300 g Kartoffel-
brei, 80 g Zwieback, 50 g Butter, 600 g Grieß-Reisbrei = 102,63 Eiweiß
= 16,42 g N.

Datum	Kost enthält N g	Zulage enthält N g	Kost enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Kost enthält Ca g	Zulage enthält Ca g	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl				Körpergewicht kg	
							Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	Harn- säure mg	P ₂ O ₅ g	Ca mg	Menge ccm	N g	P ₂ O ₅ g		Ca g
15. I.	16.4						1300	1010	8,6	147	2,1	107	85	5,6	5,3	4,3	54,1
16. I.	16.4					1050	1014	8,8	151	1,8	131	54,2					
17. I.	16.4					1150	1015	9,3	224	2,0	127	54,3					
18. I.	16.4					1450	1008	9,2	131	1,8	110	54,8					
19. I.	16.4					1450	1015	9,1	172	1,7	125	54,8					
20. I.	16.4					1300	1011	8,9	152	2,0	138	54,8					
	16.4					1200		9,0	163	1,9	123	14,2	0,9	0,9	0,7		
21. I.	16.4 [*]	4,95	3,0	1,45	1500	1010	10,8	225	2,0	143	110	8,0	9,2	10,4	54,8		
22. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1400	1014	11,5	268	3,3	152					55,9		
23. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1050	1014	10,4	212	2,8	131					54,7		
24. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1400	1016	14,4	278	3,1	143					55,0		
25. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1100	1015	11,4	193	2,7	124					55,4		
26. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1250	1016	11,4	248	2,9	144					55,0		
27. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1250	1015	10,8	203	3,2	121					55,4		
28. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1000	1020	11,3	213	3,0	134					55,6		
29. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1200	1015	11,1	198	2,9	156					55,6		
30. I.	16.4	4,95	3,0	1,45	1250	1016	12,1	274	3,3	170					55,6		
	21,35				1240		11,5	232	2,9	142	11,0	0,8	0,9	1,0			
31. I.	16.4				1250	1015	11,6	232	3,0	125	58	3,6	4,0	4,4	55,5		
1. II.	16.4				1300	1016	10,0	204	3,0	114					55,5		
2. II.	16.4				1150	1016	11,2	197	2,7	133					55,3		
3. II.	16.4				1350	1014	10,9	191	2,6	127					55,3		
4. II.	16.4				1250	1011	10,5	177	2,3	102					55,3		
	16,4				1260		10,8	202	2,7	120	11,6	0,7	0,8	0,9			

* In der Hauptperiode Zugabe von 100 g Alentina = 4,95 g N.

Bilanz des Versuchs 2.

100 g Mischpräparat „Alentina“ mit 4,95 g N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	16,4	21,35	16,4
Kot-N	0,9	0,80	0,7
Resorbierter N	15,5	20,55	15,7
Harn-N	9,0	11,50	10,8
Angesetzter N	6,5	9,05	4,9

Der Patient ist auch in diesem Falle dauernd im *N-Ansatz*. Der Zulage in der Hauptperiode entspricht ein erhöhter Ansatz, der Ausgleich findet genau so statt, als wenn die Grundnahrung weitergereicht worden wäre.

Die Ausnutzung des zugelegten N ist eine restlose und ergibt sich wie folgt:

N-Verlust im Kote pro Tag der Hauptperiode	0,8 g
Durchschnittsverlust in der Vor- und Nachperiode . .	0,8 g
	0,0 g

Versuch 3. Leb.

- I. 7. bis 10. Januar 1928. 100 g Fleisch, 300 g Weißbrot, 200 g Kartoffeln, 100 g Milch, 300 g Milchsuppe, 2 Eier, 70 g Butter, 100 g Gemüse (verschiedene Sorten).
- II. 11. bis 17. Januar. 50 g Fleisch, 200 g Weißbrot, 100 g Kartoffeln, 100 g Milch, 100 g Milchsuppe, 2 Eier, 70 g Butter, 100 g Gemüse. Zulage 50 g Mischpräparat Alentina mit 2,4 g N.
- III. 18. bis 21. Januar. Wie unter I.
- IV. 22. bis 28. Januar. 0 g Fleisch, 200 g Weißbrot, 100 g Kartoffeln, 100 g Milch, 300 g Milchsuppen, 2 Eier, 70 g Butter, 100 g Gemüse. Zulage 100 g Mischpräparat mit 4,8 g N.
- V. 29. Januar bis 1. Februar. Wie unter I.

Datum	Nahrung (pflanzl. Eiweiß) enthält N		Zulage enthält N	Nahrung (pflanzl. Bestand. enthält P ₂ O ₅)		Zulage enthält P ₂ O ₅	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht des Patienten kg	
	g	g		g	g		g	Menge ccm	Spez. Gewicht	N	Harnsäure mg	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g		P ₂ O ₅ g
7. I.	12,5	3,3		3,5	0,5		800	1018	9,1	481	2,1	} 90	} 5,0	} 3,3	} 54,9	
8. I.	12,5	3,6		3,9	0,5		670	1025	10,3	522	2,5					
9. I.	12,5	4,7		3,9	0,5		800	1026	12,9	544	2,9					
10. I.	12,5	4,0		3,9	0,5		850	1024	11,4	463	3,0					
	16,4			4,4					10,9	502	2,6	22,5	1,3	0,8		
11. I.	11,2	2,8	2,4	3,5	0,3	1,1	800	1027	10,5	584	3,0	} 145	} 9,0	} 6,1	} 55,3	
12. I.	11,2	1,8	2,4	3,5	0,3	1,1	760	1024	10,2	560	2,8					
13. I.	11,2	1,6	2,4	3,5	0,3	1,1	650	1022	8,4	422	2,5					
14. I.	11,2	2,0	2,4	3,5	0,3	1,1	820	1022	11,2	481	3,1					
15. I.	11,2	1,7	2,4	3,5	0,3	1,1	670	1026	10,7	477	3,4					
16. I.	11,2	3,0	2,4	3,5	0,3	1,1	850	1025	11,8	527	3,6					
17. I.	11,2	2,0	2,4	3,5	0,3	1,1	750	1026	11,2	494	3,2					
	15,9			4,9					10,6	506	3,1	20,7	1,3	0,9		
18. I.	12,5	4,2		3,9	0,5		900	1025	11,0	438	2,9	} 110	} 6,5	} 4,1	} 55,5	
19. I.	12,5	3,1		3,9	0,5		570	1023	9,1	375	2,3					
20. I.	12,5	3,4		3,9	0,5		650	1025	9,8	411	2,9					
21. I.	12,5	4,9		3,9	0,5		750	1029	11,8	507	3,2					
	16,4			4,4					10,4	433	2,8	27,5	1,6	1,0		

Versuch 3 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung (pflanzl. Eiwe B) enthält N		Zulage enthält N	Nahrung (pflanzl. Bestandt.) enthält P ₂ O ₅		Zulage enthält P ₂ O ₅	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht des Patienten kg
	g	g		g	g		Menge	Spez. Gew.	N	Harnsaure	P ₂ O ₅	Menge	N	P ₂ O ₅	
	g	g		g	g		ccm		g	mg	g	g	g	g	
22. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	800	1023	9,7	471	4,6	190	10,9	6,9	56,0
23. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	650	1026	8,7	488	4,7				
24. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	420	1028	7,8	343	3,1				
25. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	1000	1020	9,6	527	3,5				
26. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	850	1024	11,3	702	4,5				
27. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	800	1026	12,1	700	4,5	56,7			
28. I.	11,2		4,8	3,5		2,2	650	1025	12,3	601	3,4				
	16,0			5,7					10,7	547	4,0	27,0	1,6	1,0	
29. I.	12,5	3,2		3,9	0,5		450	1028	8,3	600	2,3	140	8,4	5,6	56,2
30. I.	12,5	3,4		3,9	0,5		Urin ist weggegossen worden								
31. I.	12,5	3,6		3,9	0,5		900	1020	9,8	503	2,8				
1. II.	12,5	4,0		3,9	0,5		950	1017	10,7	540	2,6				
	16,2			4,4					9,6	547	2,6	35,0	2,1	1,4	56,9

Bilanz des Versuchs 3 (Leb.).

1. Periode mit 50 g Mischpräparat „Alentina“ mit 2,4 Proz. N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	16,4	15,9	16,4
Kot-N	1,3	1,3	1,6
Resorbierter N	15,1	14,6	14,8
Harn-N	10,9	10,6	10,4
Angesetzter N	+ 4,2	+ 4,0	+ 4,4

2. Periode mit 100 g Mischpräparat „Alentina“ mit 4,8 Proz. N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	16,4	16,0	16,2
Kot-N	1,6	1,6	2,1
Resorbierter N	14,8	14,4	14,1
Harn-N	10,4	10,7	9,6
Angesetzter N	+ 4,4	+ 3,7	+ 4,5

Es gilt für diesen Patienten das gleiche wie für den vorhergehenden. Er befindet sich sowohl in der 50-g., als auch in der 100-g-Periode dauernd im N-Ansatz, ohne während des Versuchs den Gleichgewichtszustand zu erreichen. Die Ausnutzung des N steht hinter derjenigen des Fleisch-

stickstoffs der Grundkost nicht zurück. Der Ausgleich in den Hauptperioden findet genau so statt, als ob die Grundnahrung weitergereicht worden wäre.

Versuch 4. O. A.

I. 27. Februar bis 3. März. 300 g Weißbrot, 3 Eier, 50 g Butter, 400 g Reis-Grießbrei, 500 g Milchsuppe, 300 g Kartoffelbrei, 1000 g Milch.

II. 4. bis 13. März. Wie unter I., dazu 100 g Mischpräparat mit 4,8 Proz. N.

III. 14. bis 18. März. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergew. des Patienten kg	
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Harn- säure mg	Menge g	N g		P ₂ O ₅ g
27. II.	15,3		4,9		1000	1,016	11,8	2,7	476	171	8,3	10,3	58,3
28. II.	15,3		4,9		700	1,022	10,4	2,8	438				
1. III.	15,3		4,9		650	1,022	10,3	2,4	365				
3. III.	15,3		4,9		750	1,022	12,0	3,0	420				
3. III.	15,3		4,9		850	1,021	12,3	3,0	395				
	15,3		4,9				11,4	2,8	419	34,2	1,7	2,1	
4. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	1150	1,020	13,9	3,9	549	405	20,4	21,3	60,0
5. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	1060	1,018	12,8	3,7	522				
6. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	800	1,023	11,8	3,4	525				
7. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	1550	1,011	17,2	5,4	896				
8. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	900	1,021	12,5	3,8	703				
9. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	800	1,027	13,0	3,6	561				
10. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	1100	1,018	13,6	3,9	703				
11. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	700	1,022	11,6	3,7	571				
12. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	850	1,022	12,0	4,2	496				
13. III.	15,3	4,8	4,9	2,2	800	1,026	12,4	4,0	600				
	20,1		7,1				13,1	4,0	613	40,5	2,0	2,1	
14. III.	15,3		4,9		1600	1,012	16,2	4,3	772	165	8,5	11,4	59,0
15. III.	15,3		4,9		400	1,027	9,2	2,5	328				
16. III.	15,3		4,9		750	1,027	14,2	2,8	450				
17. III.	15,3		4,9		700	1,021	11,7	2,7	339				
18. III.	15,3		4,9		900	1,016	12,6	2,9	402				
	15,3		4,9				12,7	3,0	458	33,0	1,7	2,3	59,5

Bilanz des Versuchs 4 (O. A.).

100 g Mischpräparat „Alentina“ mit 4,8 Proz. N.

	Vorperiode	Hauptperiode	Nachperiode
	g N	g N	g N
Einfuhr	15,3	20,1	15,3
Kot-N	1,7	2,0	1,7
Resorbierter N	13,6	18,1	13,6
Harn-N	11,4	13,1	12,7
Angesetzter N	+ 2,2	+ 5,0	+ 0,9

Patient befindet sich im *N-Ansatz*. Gleichgewicht ist in der Nachperiode noch nicht erreicht, trotz des erheblichen Ansatzes in der Hauptperiode. Der Ausgleich in der Hauptperiode findet auch hier genau so statt, als wenn die Grundkost (Weißbrot, Eier, Milch) weitergereicht worden wäre. Mit Bezug auf die *N-Ausnutzung* in der Hauptperiode ergibt sich folgendes Bild:

N-Verlust im Kote pro Tag 2,0 g
 Durchschnittsverlust in der Vor- und Nachperiode pro Tag 1,7 g
 0,3 g

was bei einer Zulage von 4,8 g N pro Tag, rund 6,3 Proz. ausmacht. Berücksichtigt man, daß der *N-Ansatz* in der Hauptperiode genau dem *N-Gehalt* der Zulage entspricht, und daß die Kotverluste in der Hauptperiode trotz der Zulage unter denjenigen der Vorperiode bleiben, so wird man nicht fehlgehen in der Annahme, daß der Verlust von 6,3 Proz. auf Rechnung der Zutaten und nicht der Zulage gesetzt werden kann.

Versuch 5. O. A.

- I. 14. bis 18. März. 300 g Weißbrot, 3 Eier, 50 g Butter, 400 g Reis-Grießbrei, 500 g Milchsuppe, 300 g Kartoffelbrei, 1000 g Milch.
- II. 19. bis 28. März. Wie unter I., dazu 100 g Mischpräparat mit 3,4 Proz. N.
- III. 29. März bis 2. April. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergewicht des Patienten kg		
			Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Harnsäure mg	Menge g		N g	P ₂ O ₅ g
14. III.	15,3		4,9		1600	1,012	16,2	4,3	772	165	8,5	11,4	59,0
15. III.	15,3		4,9		400	1,027	9,2	2,5	328				
16. III.	15,3		4,9		750	1,027	14,2	2,8	450				
17. III.	15,3		4,9		709	1,021	11,7	2,7	339				
18. III.	15,3		4,9		900	1,016	12,6	2,9	402				
	15,3		4,9				12,7	3,0	458	33,0	1,7	2,3	
19. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	950	1,022	14,8	3,7	578	460	21,9	23,5	59,5
20. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	700	1,024	11,6	3,2	433				
21. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	1100	1,014	12,8	3,9	452				
22. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	700	1,021	10,6	3,0	411				
23. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	1150	1,020	12,5	4,2	535				
24. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	1500	1,015	13,9	4,5	583				
25. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	1650	1,016	13,4	3,8	685				
26. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	650	1,025	13,6	3,4	467				
27. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	850	1,028	14,8	4,4	635				
28. III.	15,3	3,4	4,9	1,8	850	1,021	13,3	3,8	452				
	18,7		6,7				13,1	3,8	523	46,0	2,2	2,4	
29. III.	15,3		4,9		700	1,022	11,8	2,7	458	195	8,8	10,4	59,2
30. III.	15,3		4,9		600	1,027	10,9	2,4	418				
31. III.	15,3		4,9		700	1,025	12,6	2,4	471				
1. IV.	15,3		4,9		650	1,025	11,2	2,7	445				
2. IV.	15,3		4,9		950	1,018	15,5	3,0	408				
	15,3		4,9				12,4	2,6	440	39,0	1,8	2,1	

*) Keine Pentosen im Urin.

Bilanz des Versuchs 5 (A.).

100 g Mischpräparat „Alentina“ mit 3,4 Proz. N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	15,3	18,7	15,3
Kot-N	1,7	2,2	1,8
Resorbierter N	13,6	16,5	13,5
Harn-N	12,7	13,1	12,4
Angesetzter N	+ 0,9	+ 3,4	+ 1,1

Patient befindet sich in deutlichem *N-Ansatz*. Zu der Grundkost erhält er in der Hauptperiode eine Zulage von 100 g des Präparats mit 3,4 g N, der restlos zum Ansatz gelangt.

Bezüglich des N-Verlustes durch den Kot ergibt sich folgendes Bild:

Verlust an Kotstickstoff pro Tag der Hauptperiode . . . 2,2 g
 Durchschnittsverlust aus Vor- und Nachperiode 1,75 g

Differenz . . . 0,45 g

d. h. rund 13 Proz. der Zulage gegenüber 11,1 Proz. in der Vorperiode. Mit Rücksicht darauf, daß in der Hauptperiode die zugelegte Menge N auch zum Ansatz gelangt, scheint die Annahme berechtigt, daß der geringe Mehrverlust in der Hauptperiode nur aus den Zutaten stammt.

Versuch 6. Leb.

- I. 28. Februar bis 4. März 1926. 100 g Fleisch, 200 g Weißbrot, 2 Eier, 1000 g Milch, 100 g Kartoffeln, 50 g Butter, 300 g Milchsuppe, 100 g Gemüse, 200 g Kompott.
- II. 5. bis 19. März. 100 g Mischpräparat mit 3,4 Proz. N, 300 g Weißbrot, 2 Eier, 1000 g Milch, 100 g Kartoffeln, 50 g Butter, 300 g Milchsuppe, 100 g Gemüse, 200 g Kompott.
- III. 21. bis 24. März. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält pflanzliches N		Nahrung enthält tierisches N		Zulage enthält N	Nahrung enthält pflanzlich. P ₂ O ₅		Nahrung enthält tierisches P ₂ O ₅		Zulage enthält P ₂ O ₅	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht des Patienten kg
	g	g	g	g		g	g	g	Menge ccm		spez. Gewicht	N	P ₂ O ₅	Harn- säure	Menge	N	P ₂ O ₅		
28. II.	12,5	3,5				3,6	0,4				1250	1,014	11,7	3,3	473	} 162	9,2	5,5	60,2
1. III.	12,5	3,5				3,6	0,4				750	1,020	9,1	2,5	362				
2. III.	12,5	3,5				3,6	0,4				800	1,015	8,9	2,5	312				
3. III.	12,5	3,5				3,6	0,4				900	1,015	9,8	2,7	342				
4. III.	12,5	3,5				3,6	0,4				850	1,014	9,6	3,0	340				
	16,0					4,0							9,8	2,8	366	32,4	1,8	1,1	

Versuch 6 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung enthält			Zulage			Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht des Patienten kg
	pflanzen N g	tierischen N g	enthält N g	Nahrung enthält pflanzen. P ₂ O ₅ g	Nahrung enthält tierische P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Harn- säure mg	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g	
5. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	650	1,024	10,2	4,6	437				
6. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	800	1,024	11,0	5,2	537				61,6
7. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	600	1,022	8,7	4,3	349				61,6
8. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	800	1,020	9,8	5,0	441				61,8
9. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	800	1,020	9,8	3,9	401				61,9
10. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1000	1,016	11,2	4,2	498				62,2
11. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1100	1,010	11,2	4,1	558				61,5
12. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1050	1,020	11,8	4,1	544	490	29,6	15,9	62,2
13. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	750	1,020	9,8	4,0	404				62,2
14. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1250	1,014	8,9	4,4	388				62,2
15. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1000	1,017	10,7	4,8	468				62,2*)
16. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	900	1,020	10,7	5,2	504				62,7
17. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1150	1,014	12,1	4,9	543				62,5
18. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1200	1,012	11,0	3,7	514				62,5*)
19. III.	12,5		3,4	3,6		1,8	1000	1,020	11,0	4,1	488				62,5
		15,9			5,4				10,5	4,4	472	32,7	2,0	1,1	
20. III.	12,5	3,5		3,6	0,4		1250	1,012	10,7	3,3	438				62,9
21. III.	12,5	3,5		3,6	0,4		1650	1,010	12,0	3,5	562				63,2
22. III.	12,5	3,5		3,6	0,4		900	1,011	8,5	2,3	273	165	9,7	5,1	62,5
23. III.	12,5	3,5		3,6	0,4		1000	1,012	9,4	2,5	347				62,6
24. III.	12,5	3,5		3,6	0,4		1250	1,012	10,2	3,1	484				
		16,0			4,0				10,5	2,9	422	33,0	1,9	1,0	

*) Keine Pentosen im Urin.

Bilanz des Versuchs 6 (L.).

100 g Mischpräparat „Alentina“ mit 3,4 Proz. N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	16,0	15,9	16,0
Kot-N.	1,8	2,0	1,9
Resorbierter N	14,2	13,9	14,1
Harn-N	9,8	10,5	10,5
Angesetzter N	4,4	3,4	3,6

Das gleiche Bild wie vorher. Patient erhält in der Hauptperiode an Stelle der Fleischration die entsprechende Menge des Präparats mit 3,4 g N pro Tag. Genau die gleiche Menge gelangt zum Ansatz. Der Versuch wurde in der Hauptperiode während 15 Tagen konsequent durchgeführt, ohne daß sich irgendwelche Zeichen der Ermüdung oder des Widerwillens gezeigt hätten.

Die Kotstickstoffverluste betragen für die Vorperiode rund 11,5, für die Hauptperiode etwa 12,5 Proz. der Einfuhr.

Versuch 7 (Kind M.), 14 Jahre.

I. 29. April bis 4. Mai 1926. 100 g Fleisch, 1 Ei, 100 g Butter, 200 g Kartoffeln, 150 g Brot, 200 g Gemüse.

II. 5. bis 19. Mai. 50 g Mischpräparat mit 1,7 Proz. N, 2 Eier, 100 g Butter, 200 g Kartoffeln, 150 g Brot, 200 g Gemüse.

III. 20. bis 24. Mai. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält tierisches N		Nahrung enthält pflanzliches N		Zulage enthält N	Nahrung enthält P ₂ O ₅	Zulage enthält P ₂ O ₅	Ausgeschieden im Urin				Ausgeschieden im Stuhl			Körpergewicht des Patienten	
	g	g	g	g				Menge	Spez. Gewicht	N	P ₂ O ₅	Häm. saure	Menge	N		P ₂ O ₅
29. IV.	3,4	4,3				2,0		550	1,021	6,9	1,5	305				26,4
30. IV.	3,4	4,3				2,0		650	1,021	7,1	1,7	344				27,0
1. V.	3,4	4,3				2,0		900	1,018	5,8	1,9	329	71	4,4	2,8	
2. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,017	5,5	1,1	266				
3. V.	3,4	4,3				2,0		400	1,020	5,6	1,1	270				
4. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,009	4,2	0,9	195				
	7,7					2,0				5,9	1,4	285				
5. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	Kein Urin				11,8	0,7	0,5	27,0	
6. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	500	1,022	7,7	2,7	255	196	11,2	10,1	27,6
7. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	850	1,016	6,0	2,0	175				
8. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	600	1,017	5,8	1,5	173				
9. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	1050	1,011	7,0	1,9	187				
10. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	350	1,020	4,5	1,3	122				
11. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	300	1,017	3,5	1,3	98				
12. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	450	1,017	4,8	1,5	116				
13. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	600	1,016	6,1	1,7	153				
14. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	900	1,011	6,9	2,2	184				
15. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	600	1,022	6,5	2,4	188				
16. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	650	1,010	4,9	1,2	112				
17. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	900	1,006	4,5	1,1	116				
18. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	800	1,020	7,2	2,4	201				
19. V.		5,2	1,7			2,0	0,9	750	1,016	5,2	1,9	212				
		6,9				2,9				5,3	1,7	153	13,1	0,7	0,7	
20. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,016	5,6	1,7	270	68	4,1	3,4	28,6
21. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,018	6,1	1,8	264				
22. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,019	10,6	2,9	516				
23. V.	3,4	4,3				2,0		600	1,019	10,6	2,9	516				
24. V.	3,4	4,3				2,0		400	1,020	4,7	1,3	254				
		7,7				2,0				5,4	1,5	261	13,6	0,8	0,7	

Bilanz des Versuchs 7 (M.).

50 g Mischpräparat „Alentina“ mit 1,7 g N.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	7,7	6,9	7,7
Kot-N.	0,7	0,7	0,8
Resorbierter N.	7,0	5,2	6,9
Harn-N	5,9	5,3	5,4
Angesetzter N	+ 1,1	— 0,1	+ 1,5

Patient erhält während der 15tägigen Hauptperiode nur 50 g des Präparats und gelangt damit ins N-Gleichgewicht mit einer ganz schwach negativen Tendenz. Offenbar war die N-Zulage zu knapp bemessen, da sie nur die Hälfte der Fleischstickstoffration der Vorperiode betrug. Dementsprechend setzt der Ansatz in der Nachperiode und bei Verabreichung der früheren Fleischration sofort wieder ein. Die Gewichtszunahme ist dauernd vorhanden.

Versuch 8. Kind G. W., 6 Jahre alt, Diabetes.

- I. 12. bis 16. Mai. 25 g Fleisch, 100 g Haferflocken, 150 g Butter, 1 Ei, 1 Eigelb, 150 g Spinat, 100 g Kohl, 250 g Bohnen, 400 g Spargel.
- II. 17. bis 25. Mai. Wie unter I., dazu 25 g Mischpräparat mit 0,9 g N.
- III. 26. Mai bis 16. Juni. Wie unter I., dazu 50 g Mischpräparat mit 1,7 g N.
- IV. 16. bis 26. Juni. Wie unter I.

Datum	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden i. Stuhl			Körpergew. des Patienten kg		
					Menge ccm	Spez. Gewicht	N g	P ₂ O ₅ g	Harn- säure mg	Zucker g	Aceton	Menge g		N g	P ₂ O ₅ g
12. V.	6,4		1,8		1900	1,010	6,0	1,0	258	—	0,199	} 97	} 4,5	} 3,7	} 20,5
13. V.	6,4		1,8		1500	1,009	6,0	1,1	226	—	0,240				
14. V.	6,4		1,8		1500	1,008	5,6	0,8	201	—	0,208				
15. V.	6,4		1,8		1700	1,010	5,8	1,2	244	1,87	0,304				
16. V.	6,4		1,8		1400	1,005	4,6	0,7	159	—	Spur				
	6,4		1,8				5,6	1,0	218			19,4	0,9	0,7	
17. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1400	1,010	5,8	1,4	189	—	Spur	} 194	} 9,4	} 6,9	} 21,0
18. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1900	1,009	5,9	1,0	250	—	—				
19. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1500	1,006	5,0	1,2	236	—	—				
20. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1700	1,009	6,2	1,9	269	—	0,17				
21. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1600	1,006	5,5	1,7	215	—	Spur				
22. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1500	1,006	6,0	1,4	221	—	—				
23. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1600	1,007	6,8	1,3	267	—	schwach				
24. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1000	1,015	5,6	1,1	224	—	Spur				
25. V.	6,4	0,9	1,8	0,5	1700	1,006	5,4	1,4	229	—	—				
	7,3		2,3				5,8	1,4	233			21,6	1,0	0,8	

Versuch 8 (Fortsetzung).

Datum	Nahrung enthält N		Zulage enthält N		Nahrung enthält P ₂ O ₅		Zulage enthält P ₂ O ₅		Ausgeschieden im Urin					Ausgeschieden im Stuhl			Körpergew. des Patienten		
	g	g	g	g	g	g	g	g	Menge ccm	Specz. Gewicht	N	P ₂ O ₅	Harn- säure mg	Zucker g	Aceton	Menge g		N	P ₂ O ₅ g
26. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1950	1,010	5,7	1,6	251	—	—	—	—	—	—				
27. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1600	1,010	5,6	1,5	266	—	—	—	—	—	—				21,3
28. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1400	1,009	5,8	1,8	306	—	—	—	—	—	—				
29. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1200	1,008	5,5	1,2	231	—	—	—	—	—	—				
30. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1800	1,009	5,8	2,0	266	—	—	—	—	Spur	—				
31. V.	6,4	1,7	1,8	0,9	1200	1,011	5,7	1,5	290	—	—	—	—	—	—				
1. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1900	1,009	6,0	1,4	316	—	—	—	—	—	—				
2. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1600	1,010	6,8	1,4	310	—	—	—	—	—	—				21,3
3. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1500	1,005	6,4	1,3	300	—	—	—	—	—	—				
4. VI.	6,5	1,7	1,8	0,9	1700	1,010	7,1	2,6	314	1,87	—	—	—	—	—				
5. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1950	1,009	6,6	1,5	245	2,14	—	—	—	—	—	472	20,8	19,2	
6. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1500	1,005	6,5	1,4	280	—	—	—	—	—	—				
7. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1900	1,005	6,6	1,7	302	—	—	—	—	Spur	—				21,3
8. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1900	1,006	6,4	1,7	257	—	—	—	—	—	—				
9. VI.	6,4		1,8		1750	1,005	5,7	1,5	226	—	—	—	—	—	—				*)
10. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1600	1,005	6,5	1,4	254	—	—	—	—	0,168	—				
11. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1950	1,010	7,1	1,4	312	—	—	—	—	0,118	—				21,3
12. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1500	1,005	7,1	1,5	303	—	—	—	—	—	—				
13. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1900	1,006	6,8	1,5	301	—	—	—	—	Spur	—				21,3
14. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1700	1,006	5,9	1,3	286	—	—	—	—	—	—				
15. VI.	6,4	1,7	1,8	0,9	1950	1,010	6,5	1,4	321	—	—	—	—	—	—				
		8,0		2,7					6,3	1,5	283					22,5	1,0	0,9	
16. VI.	6,4		1,8		1600	1,009	6,3	1,1	309	—	—	—	—	0,214	—				21,3
17. VI.	6,4		1,8		1000	1,009	4,9	0,8	179	—	—	—	—	0,115	—				
18. VI.	6,4		1,8		1200	1,010	5,0	1,0	207	—	—	—	—	0,294	—	90	4,3	3,3	
19. VI.	6,4		1,8		1600	1,010	6,1	1,3	243	—	—	—	—	—	—				
20. VI.	6,4		1,8		1900	1,005	5,7	1,0	210	—	—	—	—	0,440	—				21,3
									5,6	1,0	230					18,0	0,9	0,6	

*) Versehentlich kein Nährpräparat bekommen.

Bilanz des Versuchs 8 (G. W.).

25 und 50 g Mischpräparat „Alentina“ mit 0,9 und 1,7 g N.

	Vorperiode g N	1. Hauptperiode g N	2. Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	6,4	7,3	8,0	6,4
Kot-N	0,9	1,0	1,0	0,9
Resorbierter N . . .	5,5	6,3	7,0	5,5
Harn-N	5,6	5,8	6,3	5,6
Angesetzter N . . .	-0,1	+0,5	+0,7	-0,1

Die Bilanz ist schwach negativ, wird aber auf Zusatz des Mittels mit steigender Tendenz positiv. Der Stickstoffverlust durch den Kot liegt

durchweg innerhalb derjenigen bei Verabreichung der Grundkost. Ganz auffällig ist dies in der Versuchsreihe mit 50 g

N-Verlust im Kote pro Tag	1,0 g
Durchschnitt von Vor- und Nachperiode	0,9 g
	0,1 g

bzw. 6,6 Proz. der Zulage von 1,7 g N pro Tag, während der Verlust in der Vor- und Nachperiode bei reiner Grundkost 14 Proz. N betrug.

Bemerkenswert ist bei diesem diabetischen Kinde das Verschwinden der Acetonkörper aus dem Harn nach Darreichung des Präparats und das sofortige Wiederaufleben der Erscheinung nach Aufhören der Verabreichung in der Nachperiode.

Die Versuche an Menschen haben ergeben, daß die Kombination Hefe und Keimlinge in dem Mischpräparat „Alentina“ vorzüglich vertragen und ausgenutzt wird, und haben damit den Beweis erbracht, daß *das Keimlingmehl ebenso wie das Hefemehl für die menschliche Ernährung ohne weiteres gebraucht werden kann.* Das Malzkeimmehl aber hat sich in den Versuchen ähnlich verhalten wie die Keimlinge des Weizens und Roggens in den früheren Versuchen des einen von uns. Auch beim Malzkeimmehl fand sich eine vorzügliche Ausnutzung des Stickstoffs, der stickstoffhaltigen und der stickstofffreien Bestandteile (Pentosane usw.), und es darf wohl aus diesen günstigen Resultaten geschlossen werden, daß auch bei den Malzkeimlingen die Zartheit der Zellmembranen die ausschlaggebende Rolle für die Nutzbarkeit spielt.

Die *Ausnutzungsversuche am Menschen* zeigen ein *sehr günstiges Ergebnis.* War hier im allgemeinen auch der Zustand des Patienten für die Versuchsanordnung bestimmend und dadurch die Anordnung in mancher Richtung beengt, so sehen wir durchweg eine ausgezeichnete Resorption, in den meisten Fällen mit restloser Assimilation des Stickstoffs aus den Zulagen. So kann es nicht als Zufall angesehen werden, wenn der Patient *O. A.* (Vers. 5) bei einer N-Zulage von 3,4 g Alentina-stickstoff pro Tag genau die N-Menge der Zulage ansetzt, denn ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei demselben Patienten nach Erhöhung der N-Zulage auf 4,8 g pro Tag im Versuch 4. Nicht minder günstig liegen die Resultate bei den übrigen Patienten. Entsprechend den guten Ansatzverhältnissen verlaufen auch die Gewichtskurven. Die interessante Beobachtung an der kleinen diabetischen Patientin *G. W.*, bei der mit Darreichung des Präparats die Acetonkörper aus dem Harn verschwinden, deutet auf Möglichkeiten hin, die noch eingehend geprüft werden. Es scheint nicht ausgeschlossen, daß man es hier mit Wirkungen zu tun hat, die ebenfalls in der eigenartigen Zusammensetzung des Mittels und seiner Bestandteile begründet sind.

Über die biologische Brauchbarkeit eines gereinigten Hefetrockenpräparats.

Von

Schittenhelm (Kiel), Massatsch (Charlottenburg) und Warnat (Kiel).

(Aus der medizinischen Klinik der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 19. November 1926.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

In den Kriegsjahren spielte eine Zeitlang die Frage eine große Rolle, ob nicht die Hefe die mangelnde Eiweißnahrung ersetzen könnte, nachdem es gelungen war, Hefe in beliebigen Mengen durch Züchtung in anorganischem Stickstoffmaterial (Ammonsalzen, die man aus dem Stickstoff der Luft in unbegrenzten Mengen herstellen konnte) und dünnen Lösungen von Zucker, den man aus Holz darstellen zu können hoffte, zu gewinnen. Das Problem „Eiweiß aus der Luft“ war damit gelöst. Die Weiterverfolgung der Frage scheiterte aber an der Unmöglichkeit, Zucker in den nötigen Mengen bereitzustellen, und mit Ende des Krieges geriet sie wieder in Vergessenheit, weil die mit den damaligen Hefetrockenpräparaten gewonnenen Erfahrungen an Menschen nicht befriedigt hatten.

Immerhin haben die seinerzeit angestellten Untersuchungen ergeben, daß die Hefe vom Tiere (Hund, Pferd usw.) gut ausgenutzt wird [Rubner¹), Völtz²) u. a.]. Auch beim Menschen ist nach Völtz und Baudrexel³), Deutschland⁴) u. a. die Ausnutzung befriedigend, wenn auch N-Verluste von 14 bis 17 Proz. zu finden sind. Der Mangel an Eiweißnahrung im Kriege hat zu ausgiebigerer Anwendung der Hefe in der Küche geführt, welche schließlich die Feststellung brachte, daß die Höchstmenge, die täglich verfüttert werden könnte, nicht höher als 10 bis höchstens 20 g der Trockenhefe sei [v. Noorden⁵) u. a.].

1) Rubner, Münch. med. Wochenschr. 1916, Nr. 18.

2) Völtz, Berl. klin. Wochenschr. 1915; Landw. Jahrb. f. wissensch. Landwirtsch. 22, 193, 1912; Die Naturwissenschaften 1916, Nr. 47.

3) Völtz und Baudrexel, diese Zeitschr. 30, 454, 1911; 31, 355, 1911.

4) Deutschland, ebendasselbst 78, 358, 1917.

5) v. Noorden, Handb. d. Ernährungslehre 1, 644ff., 1920.

Hindernd waren der scharfe Geschmack und die schlechte Bekömmlichkeit der Präparate, Mängel, die durch die Art der Züchtung der Hefe (Mineralhefe), die Verarbeitung nicht ganz frischer Hefe, die Trocknung und ähnliches hervorgerufen waren und zu ungenügender und schlechter Beschaffenheit und Haltbarkeit der Präparate führten. In größeren Mengen verabreicht, veranlaßten sie Verdauungsstörungen verbunden mit Blähung und gasigen Stühlen und erzeugten Widerwillen gegen die Präparate, so daß die Nährhefe von manchen Seiten völlig verworfen wurde. *Schrumpf*¹⁾ faßte die Erfahrungen der Krankenabteilung von *Umber* dahin zusammen, daß die Nährhefe in der Theorie wohl ein großes Problem sei und sie in geschmacklosem Zustande ein Volksnährmittel werden könnte, daß sie aber in der vorliegenden Form bei längerem Gebrauch geschmacklich stark beanstandet werde und daher vorerst praktisch sich nicht bewähre.

An dem Problem, die Hefe für Nährzwecke zu veredeln, wird auch heute gearbeitet und Veröffentlichungen aus jüngster Zeit [*Engel*²⁾, *Sabalitschka*³⁾, *Scheunert* und *Schieblich*⁴⁾] versuchen neue Wege zu gehen. Der Grund liegt darin, daß einerseits Hefe in sehr großen Mengen dauernd fabriziert wird, ohne eine geeignete Verwendung zu finden, und daß andererseits immer mehr die unschätzbaren Eigenschaften der Hefe erkannt werden, deren chemische Zusammensetzung eine ausgezeichnete Verwendung für Ernährungszwecke garantiert.

Wir wollen nur einige kurze Hinweise geben: In der Bierhefe finden sich im trockenen Zustande meist 9,6 bis 9,8 Proz. N bei einem Brennwert von 4,413 kg-Cal pro 1 g Trockensubstanz und bei 8,6 Proz. Asche. Der geringe Fettgehalt (0,88 Proz. Ätherextrakt) besteht wohl größtenteils aus Lecithin und Phytosterin. Sie enthält meist viel Glykogen (8,09 Proz.) und zudem 2,93 Proz. Pentosane. Vergleicht man die Zusammensetzung ganzer Tiere mit der der Hefe, so enthalten erstere (asche- und fettfrei berechnet) etwa 15,27 Proz. N und entsprechen pro 100 g 530,6 kg-Cal, die Hefe (asche-, fett- und glykogenfrei) 11,76 Proz. N und 530,4 kg-Cal. Sie steht also im N-Gehalt etwas zurück, was sich daraus erklärt, daß ihre Zellhülle aus N-freiem Material besteht, einem Hefenpolysaccharid, welches nach *Salkowski*⁵⁾ bei der Autolyse in Glucose zerlegt wird. Zu diesem zellulären Stützgewebe muß auch das von *Salkowski*⁶⁾ aufgefundenene Hefegummi gezählt werden. Etwa 19 Proz. der Hefe entfällt auf deren Zellwandung, was durch die enorme Oberfläche der kleinen Zellen erklärt ist. Die Zellwandungen sind bei der Verdauung offenbar nicht schwer auflösbar.

¹⁾ *Schrumpf*, Münch. med. Wochenschr. 1918, S. 268; Deutsch. med. Wochenschr. 1917, Nr. 37.

²⁾ *Engel*, Deutsch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 2.

³⁾ *Sabalitschka*, ebendasselbst 1926, Nr. 44.

⁴⁾ *Scheunert* und *Schieblich*, Chem. d. Zelle u. Gewebe 1926, Juniheft.

⁵⁾ *Salkowski*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 114, 1921.

⁶⁾ *Derselbe*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 499, 1894.

Die Hefe enthält bekanntlich reichlich Nucleinsäure. Das Hefeeiweiß wurde auf seinen Aminosäuregehalt oftmals untersucht. Es wurden isoliert: Leucin und Tyrosin von *Salkowski*¹⁾, Asparaginsäure, Histidin, Arginin und Lysin von *Kutscher*²⁾, l-Valin, l-Leucin, d-Isoleucin von *F. Ehrlich*³⁾, Glutaminsäure, Prolin, Phenylalanin von *Pringsheim*⁴⁾ und endlich Alanin und Tryptophan von *C. Neuberg*⁵⁾; letzterer konnte auch die Anwesenheit von Cystin erweisen. Auch *Meisenheimer*⁶⁾ fand später in dem Hefeeiweiß fast alle bereits bekannten Monoaminosäuren: Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Prolin, Phenylalanin, Asparagin- und Glutaminsäure, Tyrosin und Tryptophan; Cystin und Serin wurden von ihm nicht ganz sicher nachgewiesen. Was die Aschenbestandteile der Hefe anbelangt, so schwanken sie je nach der Herkunft der Hefe sehr. *Euler* und *Lindner*⁷⁾ geben für 100 Teile Asche folgende Zusammensetzung an:

	Unterhefe von München	Unterhefe von Weihenstephan		Unterhefe von München	Unterhefe von Weihenstephan
K ₂ O . .	38,41	26,07	Fe ₂ O ₃ . .	0,51	0,70
Na ₂ O . .	—	2,26	P ₂ O ₅ . .	48,19	54,31
Ca O . .	2,85	7,58	S O ₃ . .	0,62	0,31
Mg O . .	5,80	6,34	Si O ₂ . .	1,26	0,92

Endlich muß noch hervorgehoben werden, daß die Hefe wichtige *Fermente*, *Vitamine* und *Wachstumsstoffe* enthält, wie sie von *Funk*⁸⁾, *Aberhalden*⁹⁾ u. a. und besonders von *Euler*¹⁰⁾ eingehend festgestellt und untersucht wurden.

Daß die Hefe für das Tier ein vollwertiges Nahrungsmittel ist und speziell ihr Eiweiß allen Anforderungen genügt, haben *Osborne* und *Mendel*¹¹⁾ gezeigt, indem es gelang, Ratten mit einem Kunstfutter aus 4 Proz. Salzmischung, 42 Proz. Stärke, 9 Proz. Butter, 14 Proz. Speck und 30 Proz. Trockenhefe als einzige N-Quelle über ein Jahr lang am Leben zu erhalten.

Die Hefezellen würden also infolge ihres reichhaltigen Inhalts eine ausgiebige Ernährungsquelle darstellen, wenn es gelänge, sie in eine Form zu bringen, welche sie geeignet machen würde, auch vom Menschen *gern* aufgenommen und gut vertragen zu werden. Wir haben uns daher leicht entschlossen, erneut über ihre Brauchbarkeit

1) *E. Salkowski*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 534, 1889.

2) *Kutscher* und *Lohmann*, ebendasselbst **39**, 313, 1903.

3) *F. Ehrlich* und *A. Wendel*, diese Zeitschr. **8**, 399, 1908.

4) *H. Pringsheim*, Wochenschr. f. Brauerei **80**, 399, 1913.

5) *C. Neuberg*, Wochenschr. f. Brauerei 1915, Nr. 38; diese Zeitschr. **48**, 494, 1912; **58**, 158, 1913; **71**, 126, 1915.

6) *Meisenheimer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **104**, 229, 1919.

7) *Euler* und *Lindner*, Chemie der Hefe 1915, S. 741.

8) *Funk*, Die Vitamine, II. Aufl., 1922.

9) *Aberhalden* und *Shammerau*, Pflügers Arch. **172**, 1, 1918.

10) *H. v. Euler* und *Swartz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **140**, **146**, 1924.

11) *Osborne* und *Mendel*, ebendasselbst **104**, 229, 1919.

eingehende Untersuchungen anzustellen, als uns eine *Trockenhefe*¹⁾ angeboten wurde, die uns in hohem Maße zur Verwendung für diätetische Zwecke brauchbar erschien und geeignet, das Vorurteil, welches sich infolge der früheren Erfahrungen mit völlig ungeeigneten Produkten gegen die Verwendung der Hefe — speziell zu therapeutischen Zwecken — eingebürgert hatte, wieder zu beseitigen.

Es wurden folgende *Präparate* untersucht:

1. *Eine Trockenhefe.* Sie stellt ein hellbraunes, staubfreies Pulver von ganz besonderer Zartheit dar, *das geruchlos ist* und im Geschmack an geröstete Erdnußkerne erinnert. Lebende Hefezellen sind in dem Präparat weder mikroskopisch noch durch den Gärversuch nachzuweisen. Das Präparat ist von dem unangenehmen würzig-käsigen Geschmack, der seine Genußfähigkeit auf die Dauer beeinträchtigen könnte, durch ein Herstellungsverfahren befreit, welches die extraktreichen Kernbestandteile in schonender Weise zum großen Teile entfernt, ohne im übrigen den Proteingehalt und den Vitamingehalt (siehe Versuche) zu schädigen.

Eine von uns in zwei Proben durchgeführte *Analyse* ergab folgende Werte:

	Erste Probe	Erste Probe auf Trocken- substanz ber.	Zweite Probe	Zweite Probe auf Trocken- substanz ber.
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Wasser	6,40	—	1,97	—
Stickstoff	9,56	10,2	10,25	10,45
Also N-Substanz	59,75	63,8	64,06	65,31
Asche	7,20	7,69	8,03	8,19
Darin P ₂ O ₅	3,48	3,7	nicht	bestimmt
Rohfaser	—	—	—	—
Pentosane	1,89	2,0	2,38	2,43
Sonstige N-freie Extrakt- stoffe	24,77	26,4	23,53	24,00
Lösliche Bestandteile	13,66	14,5	14,73	15,00
Darin N	1,02	1,1	1,17	1,20
Darin Asche	5,32	5,7	5,94	6,06

Kohlehydrate, welche *Fehlingsche* Lösung vor und nach Inversion reduzieren, wurden im wässrigen Auszug nicht ermittelt.

2. *Ein Heferöstprodukt.* Es wurde auf unsere Veranlassung in besonderer Weise aus der Hefe und dextrinisiertem Malzmehl zu gleichen Teilen gemischt hergestellt, nachdem viele langwierige Versuche ergeben hatten, daß dies die zweckmäßigste Darreichungsform für die Hefe in größeren Gaben bleibt und ihr Vitamingehalt durch den Röst-

¹⁾ Die neue Trockenhefe wird nach besonderem Verfahren hergestellt und von *R. Schering*, Berlin, eingeführt.

vorgang nicht wesentlich geschädigt wird. Es hat 4,9 Proz. Stickstoff (= rund 30,5 Proz. N-Substanz) und 2,5 Proz. Gesamtphosphorsäure.

Wir weisen darauf hin, daß v. Noorden bereits auf eine erhöhte Hefebeimischung zum Brot als natürlichen Hefeträger den allergrößten Wert legt. Diesbezügliche Versuche, die auf eine Stickstoffanreicherung des Brotes hinzielten, sind während der Kriegszeit verschiedentlich ausgeführt worden, wobei dem Brotmehl 2½ bis 10 Proz. Trockenhefe zugesetzt und schmackhaftes Gebäck erzeugt wurde. Die ungenügende Beschaffenheit der damaligen Produkte und die Sorge, den Harnsäurestoffwechsel durch die Kernbestandteile der Hefe ungünstig zu beeinflussen, hat auch diese Versuche schließlich zum Stillstand gebracht.

3. *Mischpräparat „Alentina“*. Aus dem Röstprodukt wurde ferner nach unseren Angaben ein Mischpräparat „Alentina“ hergestellt, das etwa 30 Proz. N-Substanz enthielt. Diese N-Substanz wurde absichtlich aus sämtlichen Entwicklungsstufen des Getreidekorns — dem Malz, den Malzkeimen und der aus ersterem gewonnenen Hefe — passend zusammengestellt. Es sollten in dem Präparat alle Zwischenprodukte von der Aminosäure über das Polypeptid bis zum fertigen Nährstoffkomplex vorhanden, gleichzeitig aber genetisch miteinander verbunden sein, nach dem Grundsatz, daß alle erforderlichen Bausteine um so eher vorhanden sind, je verschiedenartige N-Quellen es enthält. Bei den eben erwähnten Malzkeimen handelt es sich um den *Wurzelkeim*, dessen Inhaltsstoffe mit mehr als 30 Proz. N-Substanz uns in passend vorbereiteter Form ebenfalls zur Untersuchung auf Eignung zur Verfügung gestellt worden sind¹⁾.

A. Versuche zur Ermittlung des Vitamingehalts der Präparate.

Die Versuche wurden sämtlich an *Tauben* durchgeführt, deren Gedeihen zunächst unter Verwendung einer normalen Grundkost (Erbsen, Weizen, Hafer, Gerste gemischt) bei täglicher Gewichtskontrolle überprüft wurde. Zu einem Teile der Versuche wurden *junge, noch nicht ausgewachsene* Tauben verwandt, so daß der Fortschritt bzw. Stillstand ihres *Wachstums* zur Beobachtung kam.

Zur Ermittlung des *B-Vitamingehalts* wurden die Tauben mit geschältem Reis gefüttert. Sobald die Krankheitserscheinungen der Tauben-Beriberi ausgesprochen waren, bekamen die Tiere die Präparate als Zulage zur Reiskost. Bei den wachsenden Tieren konnte auf diese Weise auch der Einfluß auf das Wachstum ermittelt werden.

Die Beobachtungen erstreckten sich nicht nur auf das Allgemeinbefinden und das Gewicht, sondern auch auf die *Entwicklung des Ge-*

¹⁾ Näheres siehe bei *Rubner* und *Schittenhelm*, diese Zeitschr. 180, 426, 1927.

fieders. Nach dem Vorschlag von *Abel*¹⁾ wurden den Tieren an einer Stelle der Brust die Federn ausgerupft und deren Neubildung verfolgt. Wie *Krizenecky* und *Petrow*²⁾ können auch wir die vorzügliche Brauchbarkeit der *Abelschen* Methode bestätigen.

Versuch 1. Junge Taube (11) erhält das normale Mischfutter, wobei sie an Gewicht sukzessive zunimmt. Am 16. Juli 1925 werden ihr an einer Stelle der Brust die Federn gerupft, bis zum 8. August waren sie wieder vollkommen nachgewachsen.

Gewichtstabelle.

14. VII. 1925	295 g	10. VIII. 1925	322 g
16. VII.	308 g*)	15. VIII.	329 g
18. VII.	307 g	18. VIII.	328 g
20. VII.	308 g	22. VIII.	335 g
25. VII.	309 g	26. VIII.	342 g
29. VII.	312 g	1. IX.	344 g
1. VIII.	311 g	4. IX.	348 g
4. VIII.	319 g	7. IX.	353 g
7. VIII.	322 g**)		

*) Gerupft. — **) Am 8. VIII. Federn vollkommen nachgewachsen.

Versuch 2. Eine ganz junge Taube (4) erhält das normale Mischfutter und zeigt dabei gutes Wachstum und gute Entwicklung. Am 16. Juli 1925 werden ihr an der Brust die Federn gerupft, die nach 3 Wochen wieder vollkommen nachgewachsen waren.

Die Gewichtskurve verläuft ähnlich wie bei Versuch 1: das Anfangsgewicht am 14. Juli 1925 war 295 g, das Gewicht am 7. September 1925 351 g.

Einige andere Versuche, die wir nicht weiter anführen wollen, verliefen ähnlich, nur war der Gewichtsanstieg kein so bedeutender.

Versuch 3. Eine ganz junge Taube (8) wurde vom 14. Juli bis 12. September 1925 mit geschältem Reis und einer täglichen Zulage von 3 g Trockenhefe gefüttert. Sie entwickelte sich in der Zeit ganz normal, nahm über 25 Proz. ihres Anfangsgewichts zu. Der am Beginn des Versuchs noch ganz weiche Schnabel war am 12. September hart. Die Taube, die am Beginn nur piepen konnte, gurrte jetzt.

Gewichtstabelle.

14. VII. 1925	191 g	20. VIII. 1925	222 g
18. VII.	201 g	24. VIII.	227 g
23. VII.	198 g	26. VIII.	230 g
27. VII.	207 g	1. IX.	232 g
1. VIII.	209 g	7. IX.	233 g
7. VIII.	210 g	10. IX.	237 g
13. VIII.	218 g	12. IX.	242 g

Versuch 4. Eine ziemlich junge Taube (13) wurde vom 14. Juli bis 12. September 1925 nur mit geschältem Reis und 3 g Trockenhefe täglich

¹⁾ *Abel*, *Klin. Wochenschr.* 1925, S. 1314.

²⁾ *Krizenecky* und *Petrow*, *Pflügers Arch. f. Physiol.* 213, 5, 1926.

ernährt. Sie zeigte dabei normales Wachstum und gute Entwicklung. Am 15. Juli wurden die *Brustfedern gerupft*. Nach 4 Wochen, also am 17. August waren sie wieder vollkommen *nachgewachsen* (s. Abb. 1 und 2).



Abb. 1. 15. Juli.



Abb. 2. 14. August.

Reistaube mit Trockenhefezulage.

Die *Gewichtstabelle* verlief ganz ähnlich wie die bei Versuch 3. Bei Beginn des Versuchs wog die Taube 297 g, am Ende des Versuchs (12. September) 342 g.

Andere Versuche gleicher Art verliefen in derselben Weise.

Versuch 5. Eine ausgewachsene Taube (6) mit einem Anfangsgewicht von 370 g bekam ab 20. Januar 1926 nur geschälten Reis. Sie nahm dabei rapid ab. Am 14. Februar wog sie nur noch 185 g, also 50 Proz. des ursprünglichen Gewichts. Von da ab bekam sie täglich eine Zulage von 2 g *Trockenhefe*, worauf sie sich unter Anstieg ihres Gewichts rasch erholte.

Am Schluß des Versuchs, am 11. März, wog sie wieder 324 g.

Versuch 6. Eine ausgewachsene Taube (5) mit einem Anfangsgewicht von 347 g wurde ab 20. Januar 1926 nur mit geschältem Reis gefüttert. Am 5. Februar bekam sie einen *Krampfanfall*; sie überschlug sich und rollte

Gewichtstabelle.

Bei Reisfutter		Reis und Trockenhefe	
20. I. 1925	347 g	16. II. 1925	221 g
24. I.	324 g	20. II.	244 g
28. I.	312 g	25. II.	267 g
2. II.	285 g	28. II.	289 g
5. II.	260 g	2. III.	295 g
10. II.	235 g	6. III.	305 g
14. II.	223 g	9. III.	314 g
16. II.	221 g	11. III.	316 g

minutenlang umher. Durch einmalige Eingabe von 2 g *Trockenhefe* wurde innerhalb 3 Stunden vollständige Heilung erzielt, so daß die Taube am nächsten Tage wieder fliegen konnte (Abb. 3 und 4). Obwohl sie nur mit geschältem Reis weitergefüttert wurde, hielt sie sich bis zum 16. Februar anfallsfrei. An diesem Tage bekam sie wieder einen Anfall, der erneut durch Eingabe von 2 g *Trockenhefe* rasch behoben wurde. Sie hatte in der ganzen Zeit erheblich an Gewicht verloren. Von da ab erhielt sie zu dem Reisfutter täglich 2 g *Trockenhefe* und nahm nunmehr bei bestem Wohlbefinden rasch wieder an Gewicht zu.



Abb. 3. 5. Februar.



Abb. 4. 6. Februar.

Versuch 6. Reistaube mit Trockenhefe.

Versuch 7. Eine ausgewachsene Taube (7) von 352 g Anfangsgewicht wird mit geschältem Reis gefüttert und nahm, ohne Krämpfe zu bekommen, dauernd und erheblich an Gewicht ab. Sie bewegte sich schließlich nicht mehr vom Fleck und war am 23. Februar so schwach, daß sie nicht mehr stehen konnte und meist auf dem Rücken lag. Nach Eingabe von 3 g *Trockenhefe* erholte sie sich nach 5 Stunden. Am nächsten Tage läuft sie wieder umher (Abb. 5 und 6). Von da ab täglich 2 g *Trockenhefe* zum Reisfutter; 2 Tage darauf kann sie wieder fliegen.

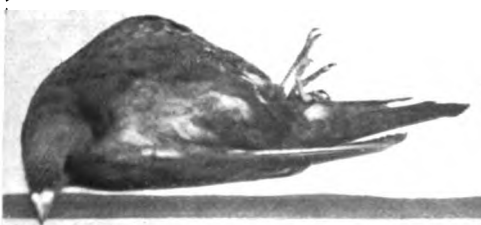


Abb. 5. 23. Februar.

Versuch 7. Reistaube mit Trockenhefezulage.

Das Gewicht sinkt in der Reisperiode von 352 auf 166 g ab (vom 20. Januar bis 23. Februar 1926). In der Periode mit Trockenhefezulage vom 23. Februar bis 11. März hebt sich das Gewicht von 166 auf 286 g.

Eine ganze Anzahl ähnlicher Versuche bestätigt die prompte Heilwirkung der Trockenhefe. Sie verlaufen den angeführten völlig analog und wir verzichten daher auf ihre ausführliche Beschreibung.



Abb. 6. 24. Februar.

Versuch 7. Reistaube mit Trockenhefezulage

Versuch 8. Eine junge Taube (5) wird vom 14. Juli bis 7. September 1925 mit geschältem Reis und einer täglichen Zulage von 5 g des Präparats „*Alentina*“ gefüttert, wobei sie sich aufs beste entwickelte und um 20 Proz. ihres Anfangsgewichts zunahm. Sie wog bei Beginn des Versuchs 255 g, am Ende desselben 328 g. Am 2. Juli wurden die *Brustfedern gerupft*, die bis zum 17. August vollkommen *nachgewachsen* waren.

Versuch 9. Eine Taube (16) wurde vom 25. Juli bis 15. August 1925 nur mit geschältem Reis ernährt und nahm dabei an Gewicht stark ab. Am 15. August war sie sehr schwach und konnte sich nicht mehr vom Fleck bewegen. Von da ab bekam sie *täglich 5 g Präparat „Alentina“*. Sie *erholte sich rasch und nahm so stark an Gewicht zu*, daß sie ihr *Anfangsgewicht beträchtlich überholte*. Am 25. Juli wurden ihr die *Brustfedern gerupft*, welche während der Ernährung mit Reis nicht im geringsten nachwachsen; in der „*Alentina*“-Periode setzt dagegen das Wachstum der Federn sofort wieder ein und nach 25 Tagen waren die Federn völlig *nachgewachsen* (s. Abb. 7 u. 8).

Gewichtstabelle.

Bei Reisfutter		Reis und „Alentina“	
23. VII. 1925	315 g	15. VIII. 1925	213 g
25. VII.	292 g*)	18. VIII.	220 g
27. VII.	287 g	22. VIII.	255 g
29. VII.	270 g	26. VIII.	278 g
1. VIII.	263 g	1. IX.	305 g
4. VIII.	255 g	4. IX.	313 g
7. VIII.	245 g	7. IX.	327 g
10. VIII.	238 g	10. IX.	343 g†)
13. VIII.	218 g	12. IX.	347 g
15. VIII.	213 g**)		

*) Gerupft. — **) Federn nicht nachgewachsen. — †) Federn völlig nachgewachsen.

Eine ganze Reihe derartiger Versuche bestätigt die Resultate von der Heilwirkung des Präparats „*Alentina*“. Der Verlauf glich vollkommen dem beschriebenen. Eine genauere Anführung der Versuche erübrigt sich daher.



Abb. 7. 15. August.



Abb. 8. 12. September.

Reistaube mit *Alentina*zulage.

Versuch 10. Eine Taube (16) bekommt vom 20. Januar bis 4. März 1926 das normale Mischfutter. Sie nahm in dieser Periode ein wenig an Gewicht ab (375 g Anfangsgewicht, 346 g Endgewicht). Ab 4. März 1926 erhält sie geschälten Reis und täglich 0,5 g *Rohlecithin aus Hefe*. Sie nahm sehr schnell ab, saß apathisch auf einem Fleck und war am 10. März, also 6 Tage nach Beginn der neuen Periode, morgens tot. Die Gewichtsabnahme vom 4. bis 10. März betrug in der kurzen Zeit 95 g (von 346 g auf 250 g).

Versuch 11. Eine Taube (12) bekam vom 20. Januar 1926 ab geschälten Reis, wobei sie schnell abnahm. Am 13. Februar war sie sehr schwach und konnte sich nicht mehr vom Fleck bewegen. Sie bekam 2 g *Rohlecithin aus Hefe*, die jedoch keinerlei heilende Wirkung ausübte. Am Tage darauf lag sie morgens tot im Stall. Die Taube hatte während des Versuchs von 357 auf 213 g abgenommen.

Die Versuche haben also gezeigt, daß das Trockenhefepräparat den vollen Gehalt an Vitamin und Wuchsstoff bewahrt hatte, ähnlich wie es Euler und Swartz¹⁾ von ihrer Trockenhefe angeben. Die Präparation und die Erwärmung hatten also keine schädigende Wirkung ausgeübt. Auch das Mischpräparat „*Alentina*“ hat diese Eigenschaften der Hefe gut bewahrt. Die Heilung beriberikranker Tauben erfolgte prompt in wenigen Stunden, junge Tauben wuchsen und entwickelten sich in normaler Weise. Im *Abelschen* Versuch — den wir als eine sehr geeignete

¹⁾ v. Euler und Swartz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 140, 146, 1924.

Probe anerkennen und empfehlen — zeigte sich ein außerordentlich günstiger Einfluß der Präparate auf das Wachstum des Gefieders. Alleinige Ernährung mit geschältem Reis hob das Wachstum der Federn ebenso auf oder verlangsamte es, wie das Wachstum und die Entwicklung der jungen Taube überhaupt. Die Trockenhefe und das Mischpräparat „Alentina“ brachten beides in normalen Gang, und es stellte sich immer heraus, daß *ein klarer Parallelismus zwischen dem Gesamtwachstum und dem Federwachstum besteht*.

Im Herstellungsverfahren der Trockenhefe wurden neben Purin- und Nucleinstoffen auch Lipide aus der Hefe entfernt. Aus diesem Gemenge ließ sich das *Hefelecithin* durch Umlösen aus Alkohol und Fällung mit Aceton in sehr reiner Beschaffenheit und mit einem *Phosphorgehalt von 3,9 Proz.* isolieren. Mit diesem Lecithin sind die beiden letzten Versuche (Nr. 10 und 11) angestellt. Es hat sich gezeigt, daß ihm *keinerlei Heilwirkung* zukommt. Man hat sogar den Eindruck, daß es im Versuch 10 direkt schädigend wirkte.

B. Stoffwechselversuche am Hund.

Die im nachfolgenden beschriebenen *Ausnutzungsversuche* von Hefe *am Hunde* bestätigen die früher bereits wiedergegebenen Erfahrungen über die gute Ausnutzbarkeit und Verwertung des Hefe-eiweißes vom Hunde auch als Zulage zur Grundkost. In dem Maße aber, wie die Zuckerstoffe überwiegen, sinkt auch bei den verschiedensten Zubereitungen die Ausnutzung der N-Substanz beim Hunde — im Gegensatz zum Menschen — ganz auffallend. Beträgt der N-Verlust bei Verfütterung von reiner Hefesubstanz, wie bereits früher von *Rubner*¹⁾ festgestellt, beim Hunde etwa 1,6 Proz. der Zufuhr, so steigt dieser Verlust bei Verabreichung der Hefe *als Zulage* zu einem Mischfutter auf 2,9 Proz. in unserem ersten Versuch, beim Heferöstprodukt auf 4,2 Proz. und mit ansteigender Verabreichung stärkehaltiger Beilagen auf 19 Proz., ja sogar bis auf 32 Proz. der Zufuhr im Versuch 4, der mit dem Mischpräparat als Zulage ausgeführt wurde.

Unter gleichen Bedingungen bleibt aber die Ausnutzung der Mittel beim Menschen ganz ausgezeichnet, wie von *Rubner* und *Schittenhelm* in einer anderen Mitteilung²⁾ noch ausführlicher und an einem reichen Untersuchungsmaterial dargelegt wird. Mit Rücksicht auf die Verallgemeinerung von Ergebnissen aus Stoffwechselversuchen möchten wir nicht unterlassen, auf die hier beobachtete Unterschiedlichkeit der

¹⁾ *Rubner*, Münch. med. Wochenschr. 1916, Nr. 18.

²⁾ *Rubner* und *Schittenhelm*, diese Zeitschr. 180, 426, 1927; sowie auch Deutsche med. Wochenschr. 1926, Nr. 49.

Stoffwechselergebnisse beim Menschen und beim Tiere ganz besonders hinzuweisen.

Die nähere Versuchsanordnung findet sich auf den Tabellen, welchen jeweils die Bilanzberechnung angefügt ist.

Hund 1.

Nahrung 40 g Fleischpulver, enthaltend Spuren Ca; 150 g Mehl, enthaltend 7,36 g N; 20 g Zucker, enthaltend 1,15 g P₂O₅; 20 g Fett. Zulage 21 g Trockenhefe unvermischt = 2,02 g N, 0,99 g P₂O₅.

Datum	Eingenommen				Ausgeschieden								Körpergewicht kg
	Nahrung enthalt N	Zulage enthalt N	Nahrung enthalt P ₂ O ₅	Zulage enthalt P ₂ O ₅	im Urin				im Stuhl				
					Menge	spez. Gew.	N	P ₂ O ₅	Menge	N	P ₂ O ₅	Ca	
g	g	g	g	ccm	g	g	g	g	g	g	g	g	
1924													
28. XII.	7,36		1,15		440	1,021	7,20	1,28	} 36	1,62	1,64	1,35	9,0
29. XII.	7,36		1,15		235	1,023	4,18	0,57					
30. XII.	7,36		1,15		385	1,015	5,47	0,81					
31. XII.	7,36		1,15		290	1,014	4,22	0,38					
1. I.	7,36		1,15		425	1,016	6,43	0,87					
Durchschn.	7,36		1,15		355		5,50	0,78	7,2	0,32	0,33	0,27	
2. I.	7,36	2,02	1,15	0,99	375	1,020	5,92	1,29	} 48	2,40	2,17	1,02	9,3
3. I.	7,36	2,02	1,15	0,99	315	1,023	5,91	1,79					
4. I.	7,36	2,02	1,15	0,99	435	1,014	5,32	1,44					
5. I.	7,36	2,02	1,15	0,99	300	1,024	5,27	1,09					
Durchschn.	9,38		2,14		356		5,61	1,40					
6. I.	7,36		1,15		385	1,027	6,82	1,05	} 60	3,82	2,70	1,61	9,6
7. I.	7,36		1,15		350	1,027	6,40	0,70					
8. I.	7,36		1,15		260	1,027	6,79	0,67					
9. I.	7,36		1,15		180	1,035	6,99	0,48					
10. I.	7,36		1,15		310	1,027	6,68	0,68					
Durchschn.	7,36		1,15		293		6,47	0,72	12	0,76	0,54	0,32	

Bilanz bei Hund 1.

Trockenhefe.

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr.	7,36	9,38	7,36
Kot-N	0,32	0,60	0,76
Resorbierter N	7,04	8,78	6,60
Harn-N.	5,50	5,61	6,47
Anges. N	+ 1,54	+ 3,17	+ 0,13

Es erfolgt eine allmähliche Einstellung auf N-Gleichgewicht, das in der Nachperiode fast erreicht ist. Die Hefezulage in der Hauptperiode verhält sich so, als ob eine erhöhte Fleischzufuhr weitergereicht worden wäre. Mit Bezug auf Ausnutzung des Hefestickstoffs ergibt sich

in der Hauptperiode N-Verlust durch Kot pro Tag . . . 0,60 g
 durchschnittlicher Verlust in der Vor- und Nachperiode . . . 0,54 g
0,06 g

was bei einer Zufuhr an Hefe-N pro Tag von 2,02 g rund 2,94 Proz. ausmacht.

Hund 2.

Nahrung. 20 g Fleischpulver, enthaltend 2,42 g N, 0,29 g P₂O₅, Spuren Ca. 80 g Mehl, enthaltend 1,34 g N, 0,30 g P₂O₅; 20 g Fett; 20 g Zucker.

Zulage. 29 g Heferöstprodukt (s. S. 457), enthaltend 1,42 g N, 0,73 g P₂O₅.

Datum	Eingenommen				Ausgeschieden								Körpergewicht kg	
	Nahrung enthält N	Zulage enthält N	Nahrung enthält P ₂ O ₅	Zulage enthält P ₂ O ₅	im Urin				im Stuhl					
					Menge ccm	spez. Gew.	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g	P ₂ O ₅ g	Ca g		
1924	g	g	g	g	ccm		g	g	g	g	g	g	g	kg
28. XII.	3,76		0,59		275	1,015	3,20	0,39	25	1,25	0,96	0,75	7,1	7
29. XII.	3,76		0,59		210	1,014	2,31	0,36						
30. XII.	3,76		0,59		270	1,010	2,32	0,25						
31. XII.	3,76		0,59		430	1,006	3,19	0,41						
1925														
1. I.	3,76		0,59		910	1,002	2,78	0,38					7,2	
Durchschn.	3,76		0,59		424		2,76	0,36	5	0,25	0,19	0,15		
2. I.	3,76	1,42	0,59	0,73	500	1,011	4,56	0,87	22	1,45	1,22	0,67	7,2	7,2
3. I.	3,76	1,42	0,59	0,73	470	1,015	5,03	1,04						
4. I.	3,76	1,42	0,59	0,73	375	1,012	4,68	0,80						
5. I.	3,76	1,42	0,59	0,73	380	1,016	4,59	0,91						
Durchschn.		5,18		1,32	431		4,72	0,91	5,05	0,36	0,31	0,17		
6. I.	3,76		0,59		325	1,012	3,43	0,45	30	1,39	1,09	0,80	7,1	7,1
7. I.	3,76		0,59		365	1,011	3,83	0,56						
8. I.	3,76		0,59		170	1,023	2,96	0,42						
9. I.	3,76		0,59		260	1,010	3,56	0,33						
Durchschn.	3,76		0,59		280		3,45	0,44	7,5	0,35	0,27	0,20		

Bilanz bei Hund 2 (Heferöstprodukt).

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,76	5,18	3,76
Kot-N	0,25	0,36	0,35
Resorbierter N	3,51	4,82	3,41
Harn-N	2,76	4,72	3,45
Anges. N	+ 0,75	+ 0,10	0

Es erfolgt während der Versuchsdauer N-Gleichgewicht, das bereits in der Hauptperiode nahezu erreicht wird. Die Zulage in der Hauptperiode erhält sich genau wie eine erhöhte Fleischration.

Mit Bezug auf die Ausnutzung des zugelegten Stickstoffs in der Hauptperiode ergibt sich

N-Verlust durch den Kot pro Tag	0,36 g
Durchschnittsverlust in der Vor- und Nachperiode pro Tag	0,30 g
	0,06 g

was bei einer Zulage von 1,42 g pro Tag rund 4,2 Proz. ausmacht.

Hund 3.

- I. 23. bis 29. Dezember. 250 g Kartoffeln (0,75 g N, 0,18 g P₂O₅), 25 g Fleischpulver (2,80 g N, 0,36 g P₂O₅), 20 g Fett. 2 g Kochsalz.
- II. 30. Dezember bis 5. Januar. 70 g Mischpräparat *Alentina* (3,37 g N, 1,54 g P₂O₅), 25 g Fett, 2 g Kochsalz.
- III. 6. bis 12. Januar. Wie unter I.

Datum	Eingenommen				Ausgeschieden						Körpergewicht kg			
	Nahrung enthält N g	Zulage enthält N g	Nahrung enthält P ₂ O ₅ g	Zulage enthält P ₂ O ₅ g	im Urin				im Stuhl					
					Menge ccm	spez. Gew.	N g	P ₂ O ₅ g	Menge g	N g		P ₂ O ₅ g		
1924														
23. XII.	3,63	0,54			680	1,012	2,76	0,47	71	3,38	1,48	6,6		
24. XII.	3,63	0,54			1000	1,016	4,90	0,90				6,7		
25. XII.	3,63	0,54												6,7
26. XII.	3,63	0,54								1090	1,015	4,89	0,94	
27. XII.	3,63	0,54										6,6		
28. XII.	3,63	0,54			700	1,012	3,63	0,56				6,6		
29. XII.	3,63	0,54			630	1,024	2,95	0,35				6,6		
Durchschn.	3,63	0,54					2,73	0,46	10,14	0,48	0,21			

Datum	Eingenommen				Ausgeschieden						Körpergewicht kg	
	Nahrung enthält N	Zulage enthält N	Nahrung enthält P ₂ O ₅	Zulage enthält P ₂ O ₅	im Urin			im Stuhl				
					Menge	spez. Gew.	N	P ₂ O ₅	Menge	N		P ₂ O ₅
1924	g	g	g	g	ccm	g	g	g	g	g	g	
30. XII.		3,37		1,54	520	1,010	2,15	0,75	88	4,41	3,47	6,6
31. XII.		3,37		1,54	330	1,022	2,63	0,96				6,6
1925												
1. I.		3,37		1,54	400	1,017	2,13	0,80	70	3,19	1,58	6,5
2. I.		3,37		1,54	480	1,012	2,09	0,75				6,5
3. I.		3,37		1,54	300	1,021	2,75	0,79				6,6
4. I.		3,37		1,54	480	1,014	2,40	0,81				6,5
5. I.		3,37		1,54	510	1,014	2,63	0,84				6,5
Durchschn.		3,27		1,54			2,40	0,81	12,57	0,63	0,50	
6. I.	3,63		0,54		600	1,012	2,34	0,36	70	3,19	1,58	6,5
7. I.	3,63		0,54		710	1,009	2,51	0,48				6,5
8. I.	3,63		0,54		420	1,014	2,48	0,31				6,5
9. I.	3,63		0,54		820	1,009	3,27	0,54				6,4
10. I.	3,63		0,54		540	1,014	2,44	0,44				6,5
11. I.	3,63		0,54		560	1,013	2,35	0,38				6,5
12. I.	3,63		0,54		580	1,013	2,76	0,38				6,5
Durchschn.	3,63		0,54				2,58	0,41	10,0	0,46	0,23	

Bilanz bei Hund 3 (Mischpräparat als Ersatz gereicht).

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,63	3,37	3,63
Kot-N	0,48	0,63	0,46
Resorbierter N	3,15	2,74	3,17
Harn-N	2,73	2,40	2,59
Anges. N	+ 0,42	+ 0,34	+ 0,58

Das Tier setzt wenig, aber dauernd N an, völliges Gleichgewicht wird auch in der Nachperiode nicht erreicht. Der Ausgleich in der Hauptperiode bei Ersatz der Grundnahrung durch die entsprechende Menge des Präparats findet genau so statt, als wenn die erstere weitergereicht worden wäre.

Mit Bezug auf die Ausnutzung des N in der Hauptperiode ergibt sich zwar ein Verlust durch den Kot von 18,7 Proz. der Einfuhr, der aber durch die verringerte Harnstickstoffausscheidung der Hauptperiode ausgeglichen wird. Berücksichtigt man weiter, daß auch in der Vorperiode mit Grundkost der Kotverlust 13,2 Proz. der Einfuhr beträgt, so ergibt sich aus dieser Überlegung die Gleichwertigkeit des Präparats mit den übrigen in der Vor- und Nachperiode gefütterten Substanzen bei gleich großem N-Umsatz. In einer weiteren Arbeit die demnächst erscheint, soll auf diese Verhältnisse noch ausführlicher eingegangen werden.

Hund ♀

Futter des Hundes: 15 g Fleischpulver, enthaltend 1,82 g N, 0,21 g P₂O₅; 70 g Mehl, enthaltend 1,18 g N, 0,27 g P₂O₅, 0,04 g Ca; 20 g Fett; 20 g Zucker.

Zulage: 40 g Mischpräparat enthaltend 1,98 g N, 1,20 g P₂O₅, 0,68 g Ca.

Datum	Eingenommen						Ausgeschieden										Körpergewicht kg
	Nahrung enthält		Zulage enthält		Nahrung + Zulage enthält		im Urin			im Stuhl							
	g	g	g	g	g	g	Menge ccm	spez. Gew.	N	Allantoin	P ₂ O ₅	Ca	Menge	N	P ₂ O ₅	Ca	
22. I.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	570	1,004	276	0,145	0,28	0,030					6,3
23. I.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	440	1,007	190	0,117	0,19	0,021		1,51	1,01	0,69	6,4
24. I.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	275	1,013	199	0,102	0,23	0,022					6,4
25. I.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	450	1,005	217	0,131	0,26	0,032					6,4
Durchschn.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	434		220	0,124	0,24	0,026		6,75	0,38	0,25	0,17
26. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	220	1,026	322	0,228	0,67	0,038					6,5
27. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	275	1,011	230	0,196	0,52	0,026					6,6
28. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	270	1,015	282	0,262	0,71	0,041					6,7
29. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	325	1,010	285	0,263	0,65	0,049					6,8
30. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	330	1,010	256	0,165	0,61	0,051		8,06	5,86	3,89	6,8
31. I.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	275	1,016	254	0,154	0,42	0,043					6,8
I. II.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	430	1,009	240	0,145	0,44	0,032					6,8
2. II.	3,0	1,98	0,48	1,20	0,04	0,58	240	1,020	266	0,156	0,47	0,036					6,8
Durchschn.	4,98			1,68		0,62	274		267	0,195	0,57	0,038		12,0	0,73	0,49	
3. II.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	340	1,010	220	0,110	0,39	0,029					6,8
4. II.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	560	1,006	248	0,194	0,34	0,026					6,7
5. II.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	750	1,003	259	0,125	0,18	0,025		2,06	2,24	1,72	6,6
6. II.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	445	1,005	220	0,143	0,26	0,031					6,6
7. II.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	780	1,003	346	0,203	0,29	0,040					6,6
Durchschn.	3,0	0,48	0,48	0,04	0,04	0,04	581		259	0,163	0,29	0,031		6,40	0,41	0,45	0,34

Bilanz bei Hund 4 (das gleiche Mischpräparat als Zusatz zur Grundkost gereicht.)

	Vorperiode g N	Hauptperiode g N	Nachperiode g N
Einfuhr	3,00	4,98	3,00
Kot-N	0,38	1,01	0,41
Resorbierter N	2,62	3,97	2,59
Harn-N	2,20	2,67	2,59
Anges. N	+ 0,42	+ 1,30	0

Die Zulage in der Hauptperiode bewirkt einen *N-Ansatz*, der das *N-Gleichgewicht* der Nachperiode veranlaßt und das Tier auf konstantem Gewicht erhält.

Mit Bezug auf die *N-Ausnutzung* ergibt sich folgendes Bild:

N-Verlust durch den Kot pro Tag	1,01 g
Durchschnittsverlust aus Vor- und Nachperiode pro Tag	0,39 g
	<u>0,62 N</u>

Bezüglich Auslegung der Ergebnisse kann auf das im Versuch 3 Erwähnte verwiesen werden.

Aus den Versuchen kann der Schluß gezogen werden, daß die untersuchten Präparate in jeder Beziehung als *vollwertig* angesprochen werden können. Die *Eiweißsubstanz* der Präparate wird *sehr gut ausgenutzt*, ihr *Gehalt an Vitamin und Wuchsstoffen* ist ein *hoher*. Besonders gut wird das Heferöstprodukt in Versuch 2 ausgenutzt. Die *Kotstickstoffverluste* sind in diesem Versuche der Größenordnung nach ganz wesentlich geringer als die nach Verfütterung feinsten Weizenbrots beim Menschen beobachteten. Nachdem es sich gezeigt hat, daß die gereinigte und bei höherer Temperatur abgeröstete Hefe ihre schon lange bekannten biologisch wertvollen Eigenschaften sich bewahrt hat, ergeben sich für die Nutzung dieses hochwertigen Materials zur menschlichen Ernährung ganz neue Aussichten.

Zusammenfassung.

1. Es wird ein gereinigtes und bei höherer Temperatur abgeröstetes Hefetrockenpräparat untersucht und gefunden, daß es seine biologisch wichtigen Eigenschaften erhalten hat.
2. Das Eiweiß wird gut ausgenutzt, der Gehalt an Vitamin und Wachstumsstoff bleibt hoch.
3. Die *Abelsche* Methode der Prüfung des Gehalts an Vitamin bei der Taube und Beobachtung des Wachstums vom Gefieder hat sich sehr gut bewährt.
4. Das Wachstum des Gefieders geht im Vitaminversuch beim jungen, wachsenden Tiere stets parallel mit dem Allgemeinwachstum.

Über die Vergärungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure und damit zusammenhängende Fragen.

Von
Carl Neuberg.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Verlegt man die Vergärung des Zuckers durch Hefe in das alkalische Gebiet, so treten bedeutungsvolle Veränderungen der Gärungserzeugnisse ein. Es kommt bekanntermaßen bei der Verwendung gewöhnlicher, alkalisch reagierender Salze zum Ablauf der dritten Vergärungsform ($2C_6H_{12}O_6 + H_2O = CH_3 \cdot COOH + C_2H_5 \cdot OH + 2CO_2 + 2CH_2OH \cdot CHOH \cdot CH_2OH$). Schon bei den ersten einschlägigen Untersuchungen¹⁾ haben wir darauf hingewiesen, daß diese von der Norm abgearteten Spaltungsprodukte des Zuckers verlangsamt entstehen, indem bis zum Verschwinden des gärfähigen Kohlenhydrats im alkalischen Medium längere Zeit erforderlich ist, als bei der gewöhnlich herrschenden schwach sauren Reaktion. Auch die Vergärung des Zuckers zu Acetaldehyd und Glycerin in Gegenwart von basisch reagierenden sekundären Alkalisulfiten vollzieht sich nicht so schnell, wie die übliche alkoholische Zuckerspaltung. Da bisher keine andere Substanz als Brenztraubensäure bekannt geworden ist, die unter analogen Bedingungen und mit ähnlicher Geschwindigkeit wie die Zymohexosen vergoren wird, haben früher bereits *C. Neuberg* und *E. Reinjurth*²⁾ geprüft, ob Brenztraubensäure im Einklange mit der Theorie auch bei Zugabe von schwefligsauren Salzen (1 Mol und mehr) vergoren wird. Dieses ist der Fall, und bei Einhaltung der richtigen

¹⁾ *C. Neuberg* und *E. Färber*, diese Zeitschr. 78, 238, 1916.

²⁾ *C. Neuberg* und *E. Reinjurth*, ebendasselbst 89, 413, 1918; B. 53, 1039, 1920.

Bedingungen vergären die Pyruvinat-Sulfit-Komplexe sogar mit einer ganz ungewöhnlich hohen Geschwindigkeit. Die Vergärung von Glucose in Gegenwart von Dinatriumsulfit geschieht gemäß der Gleichung $C_6H_{12}O_6 + Na_2SO_3 + H_2O = C_3H_8O_3 + CH_3 \cdot CH(OH) (SO_3Na) + NaHCO_3$. (Daran ändert sich nichts, wenn primär eine partielle Anlagerung des Dinatriumsulfits an die Carbonylverbindung des Zuckers vor sich geht; denn Natriumhydroxyd, das hierbei dann frei wird, muß im Laufe der Gärung durch das entwickelte Kohlendioxyd derart neutralisiert werden, daß die soeben angeführte Bruttogleichung der zweiten Vergärungsform erfüllt ist.) Anders liegen die Verhältnisse — wie wir schon früher auseinandergesetzt haben¹⁾ — bei der Brenztraubensäure. Die Vereinigung von sekundärem schwefligsauren Salz mit der Brenztraubensäure führt zu einem Pyruvinat-Sulfit-Komplex durch folgende Umsetzung: $CH_3 \cdot CO \cdot COOH + Na_2SO_3 = CH_3 \cdot C(OH) (SO_3Na) \cdot COONa$. Um diesen der Carboxylase zugänglich zu machen, muß man durch Zusatz eines Puffers die richtige Wasserstoffionen-konzentration ($p_H = 4,9$) herstellen. Dann vergärt die Brenztraubensäure auch bei Gegenwart von mehr als einem Molekül Sulfit mit außerordentlicher Schnelligkeit, die, wie nachstehend in neuen Experimenten nochmals bewiesen wird, die Zerfallsgeschwindigkeit des Zuckers ganz erheblich übersteigt. Diese Vergärung der Brenztraubensäure findet schon bei niedrigen Temperaturen statt, ohne daß, wie wir zeigen werden, der Zucker bei gleicher H-Ionen-konzentration unter diesen Verhältnissen zur Spaltung gelangt.

Was die Gärgeschwindigkeit der Brenztraubensäure für sich, d. h. ohne irgendwelche Zusätze, betrifft, so liegen hierüber die ersten Untersuchungen von *C. Neuberg* und *P. Rosenthal*²⁾ vor. Sie lehren, daß die Brenztraubensäure mit zellfreiem Hefensaft bis 2000 mal schneller³⁾ umgesetzt werden kann als Zucker. Diese Angabe kann natürlich nicht auf die Vergärung durch lebende Zellen übertragen werden, und sie hat angesichts der fortgeschrittenen Entwicklung des Gebiets auch nur einen Sinn, wenn der Zustand des Hefenmaterials genau charakterisiert ist; denn wir wissen, daß im Gegensatz zur Brenztraubensäure-ver-

¹⁾ *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, l. c. und B. 53, 462, 1920.

²⁾ *C. Neuberg* und *P. Rosenthal*, diese Zeitschr. 51, 137, 1913.

³⁾ Die große Geschwindigkeit der Brenztraubensäurevergärung ist von *E. Abderhalden* und *A. Schaumann* (*Fermentforschung* 2, 123, 1919) ebenfalls beschrieben; sie konstatierten sie in Ansätzen mit und ohne Hefenextrakt. Der letztere enthält nach der Entdeckung von *Abderhalden* und *Schaumann* einen Aktivator auch für die Pyruvinatvergärung sowohl durch frische und getrocknete Hefe als durch Hefenmazerationsaft. Da über das Wesen dieses Aktivators der Brenztraubensäurevergärung noch nichts Näheres bekannt ist, haben wir von seiner Heranziehung zunächst abgesehen.

gärung, die keines Coferments oder wenigstens nicht der bekannten Cozymase bedarf¹⁾, die Zuckerspaltung eng an die Mitwirkung der Cozymase gebunden ist. Nach *H. v. Euler* ist in der Phosphorylierung des Zuckers eine wesentliche Aufgabe, vielleicht die sinnfälligste der Cozymase gelegen, und wenn diese Veresterung als integrierende Phase der zymatischen Wirkung eng mit den Zerfallsreaktionen gekoppelt ist oder ihnen vorangeht, so ist es klar, daß man jede beliebige Zahl, auch eine höhere als 1 : 2000, für das Verhältnis der Gärgeschwindigkeit von Brenztraubensäure zu der von Glucose erzielen kann, je nach dem zufälligen Gehalt des angewendeten Hefenmaterials an Cozymase. Dieses Verhältnis der Gärgeschwindigkeiten von Glucose und Brenztraubensäure haben *H. v. Euler* und *S. Karlsson*²⁾ den *Neuberg-Quotienten* (N.) genannt; sie haben ihn stets < 1 befunden³⁾. Mit anderen Worten heißt dies, daß die von ihnen verwendeten Hefen, die reich an Coenzym waren, Brenztraubensäure schneller als Zucker umsetzen. Die von den schwedischen Autoren innegehaltene Wasserstoffionen-konzentration betrug dabei 6,4 bzw. 4,5.

Überaus wertvolle systematische Untersuchungen haben seither über die Frage der Gärgeschwindigkeiten von Glucose und Brenztraubensäure *E. Hägglund* und seine Mitarbeiter veröffentlicht⁴⁾. Die wichtigsten Angaben, die sie machen, sind kurz folgende:

Bei Zugabe von Säuren zu einem Gärgemisch hängt die Wirkung der Säurezusätze in erster Linie von deren Gehalt an Wasserstoffionen ab. Die erhaltenen p_H -Kurven, d. h. die Beziehungen zwischen der relativen Gärgeschwindigkeit und der Wasserstoffionen-konzentration, stellen Durchschnittskurven für die Betätigung sämtlicher Teilfermente des Zymasesystems dar. Das Gärungsoptimum schwankt mit dem physiologischen Zustande ein und derselben Hefe gleicher Rasse und ist auch je nach den Substraten (Zuckerart) und je nach den zugesetzten Säuren (Phosphorsäure, Milchsäure) verschieden. Die kräftigste Gär-tätigkeit war in der ersten Stunde bei $p_H = 4,5$ zu beobachten. Mit der Zeit erfolgte eine Verschiebung des p_H nach der alkalischen Seite

¹⁾ *C. Neuberg* und *P. Rosenthal*, diese Zeitschr. **51**, 128, 1913; **71**, 6, 1915; *A. Harden*, Chem. Centralbl. **1913**, II, 1888.

²⁾ *H. v. Euler* und *S. Karlsson*, diese Zeitschr. **130**, 551, 1922; *H. v. Euler*, *K. Myrbäck* und *R. Nilsson*, H. **144**, 137, 1925.

³⁾ S. auch *E. Lindberg*, diese Zeitschr. **132**, 129, 1922; *R. Nilsson* und *E. Sandberg*, ebendasselbst **174**, 111, 1926.

⁴⁾ *E. Hägglund* und *A. M. Augustson*, diese Zeitschr. **155**, 334, 1925; **166**, 234, 1925; **170**, 102, 1926; *E. Hägglund*, *A. Söderblom* und *B. Troberg*, ebendasselbst **169**, 200, 1926; *E. Hägglund* und *T. Rosenqvist*, ebendasselbst **175**, 293, 1926.

hin, so daß nach 2 Stunden das Gärungsoptimum etwa bei $p_H = 6$ lag; bei Zugabe von Essigsäure befand es sich von vornherein in der Nähe von $p_H = 6$. Bei Versuchen mit Trockenhefe zeigte sich, daß die Geschwindigkeit des Zuckerverbrauchs in dem Bereich von $p_H = 5,7$ bis 8 gleich groß war. Insbesondere der letzte Befund wird von *Hägglund*, *Söderblom* und *Troberg* (l. c.) dahin ausgelegt, daß der Phosphorylierungsakt für den enzymatischen Zuckerzerfall keine Wichtigkeit hat, weil nach *H. v. Euler* und *F. Nordlund*¹⁾ die Phosphatbindung bei stärker alkalischer Reaktion als $p_H = 6,3$ ganz bedeutend gehemmt wird. Die Vergärung des Zuckers in Gegenwart von Natriumbicarbonat und sekundärem Natriumsulfit erfolgt mit derselben Anfangsgeschwindigkeit, und erst allmählich beeinträchtigt im zweiten Falle die sich anhäufende Acetaldehyd-sulfit-Verbindung (vgl. S. 472) den weiteren Zuckerabbau. Die bekannte Induktion der Gärung, die Erscheinung, daß die desmolytische Spaltung nicht sofort beginnt, sondern erst nach einer gewissen Zeit mit maximaler Geschwindigkeit einsetzt, kann nach *Hägglund* und *Rosenqvist* (l. c.), entgegen der Meinung von *E. Abderhalden* und *A. Fódor* sowie von *H. Sobotka*, nicht mit dem Aufleben ruhender Hefenzellen in Zusammenhang gebracht werden, da sich das Induktionsphänomen im zellfreien Saft gleichermaßen geltend macht. Am meisten interessiert in diesem Zusammenhange, daß die Brenztraubensäure in einem alkalischen Milieu $> p_H = 7,4$ nicht regelmäßig zerlegt wurde, während ihre Spaltung bei $p_H = 6$ weitgehend und rasch erfolgt. (Schon früher hatten übrigens *v. Euler* und *Karlsson* (l. c.) gezeigt, daß in Trockenunterhefe Carboxylase bei $p_H = 4,5$ bis $5,5$ optimal wirksam ist.) Frische Unterhefe fanden die Autoren deutlich empfindlicher gegen Brenztraubensäure als Oberhefe; denn mit dieser trat in neutralem oder alkalischem Gebiet ($p_H = 8,2$) Kohlendioxid-Entwicklung, wenn auch mäßigen Umfangs, ein. Die günstige Wasserstoffionen-Konzentration für die Wirkung der Carboxylase ist bei Versuchen mit lebender Hefe die gleiche wie für die Vergärung von Zucker. Bei neutraler oder alkalischer Lösung wird Brenztraubensäure von Trockenhefe, wenn auch mit geringerer Geschwindigkeit als bei optimalem p_H , zerlegt. Zellfreier Hefenmazerationssaft spaltete Brenztraubensäure bei $p_H = 6$ stark, war aber jenseits des Neutralpunkts ohne Wirkung.

Obleich die Autoren mehrfach betonen, daß sie aus verschiedenen Gründen aus einer verminderten oder aufgehobenen Vergärbarkeit der Brenztraubensäure im alkalischen Bereich keinerlei Einwände gegen die Brenztraubensäure-theorie der Gärung, nach der die Pyruvinatstufe bei der Zuckerspaltung durchlaufen wird, herleiten wollen, sollen im

¹⁾ *H. v. Euler* und *F. Nordlund*, H. 116, 229, 1921.

folgenden trotzdem *neue Versuche über die Vergärbarkeit und Gärgeschwindigkeit der Brenztraubensäure unter verschiedenen Bedingungen* mitgeteilt werden.

Schon *C. Neuberg* und *E. Reinfurth* haben (l. c.) darauf hingewiesen, daß bei der Vergärung von Brenztraubensäure und ihren Derivaten die Permeabilitätsverhältnisse der Hefezelle berücksichtigt werden müssen. Nach den Vorstellungen, die *Beijerinck* und *van Hest* geäußert haben, erfolgt beim Trocknen der Hefe sowie bei nachfolgender Mazeration eine Eröffnung der Plasmahaut. Die eintretenden Risse und Sprünge durchlöchern gewissermaßen die ausgetrocknete Hefe und gestatten nunmehr eine schnelle und innige Berührung von Ferment mit Substrat. Durchaus im Einklange mit dieser Anschauung haben wir früher gefunden und tun im folgenden wiederum dar, daß Hefenzubereitungen, wie Trockenhefen, Alkohol-Ätherhefen, Acetonhefen sowie Hefenmazerationssäfte, die Brenztraubensäure ausnahmslos schneller vergären als Traubenzucker. Bei der erneuten Konstatierung dieser Tatsache haben wir unsere alte und bewährte Versuchsanordnung¹⁾ beibehalten, die darin besteht, die Brenztraubensäure mit der äquivalenten Menge zweifach molekularer Kaliumacetatlösung zu puffern. Dieses von uns früher empfohlene Pufferungsmittel gestattet, die überlegene Schnelligkeit der Brenztraubensäurevergärung im Vorlesungsversuch zu demonstrieren¹⁾. Auch *E. Hägglund* und seine Mitarbeiter haben neuerdings gelegentlich Acetatpuffer verwendet, zumeist aber andere Mischungen, insbesondere Phosphate. Von der Heranziehung der letzteren haben wir bei Vergleichen der Gärgeschwindigkeiten von Brenztraubensäure und Glucose geglaubt Abstand nehmen zu sollen, weil die phosphorsauren Salze beim Gärprozeß infolge der Phosphorylierung intervenieren.

Geleitet von dem Gedanken, für die Gärgeschwindigkeit der Brenztraubensäure Bedingungen zu beschreiben, unter denen sie als eindrucksvoller Laboratoriums- und Vorlesungsversuch von jedem Interessenten in weniger Zeit als einer Stunde und oft schon nach Minuten festgestellt werden kann, beschränken wir uns im wesentlichen darauf, aus der Fülle des experimentellen Materials vorwiegend Versuche mit solchen Hefen anzuführen, die einem jeden zugänglich sind. Wir wählen zumeist als einen Vertreter der untergärigen Rassen die Hefe der *Schultheiß-Patzenhofer Brauerei* und als einen Vertreter obergäriger Sorten die Preßhefe von *Sinner*.

Die tabellarisch jeweils mit einem kurzen Versuchsergebnis dargelegten Resultate sind ganz eindeutig. Sie zeigen ohne Einschränkung

¹⁾ Vgl. *C. Neuberg*, diese Zeitschr. 152, 203, 1924.

die schnelle und sehr weitgehende Vergärbarkeit der Brenztraubensäure mit Hefezubereitungen bei der früher hierfür empfohlenen Versuchsanordnung; mit lebender Hefe war die Vergärung der Brenztraubensäure zumeist langsamer als die von Zucker. Im Anschluß an die Ausführungen von *Neuberg* und *Reinfurth* und in Übereinstimmung mit den Ansichten *Hägglunds* und seiner Schule sind wir der Meinung, daß die erwähnten Permeabilitätsverhältnisse hierfür die einfache Erklärung bieten. Die Brenztraubensäure diosmiert nur nach Zerstörung oder Durchlöcherung der begrenzenden Hefenaußenschicht mit ähnlicher Schnelligkeit wie der Zucker, der seinerseits ungehindert auch in die unverletzte Zelle einzudringen vermag. Da nun im Verlauf der normalen Vergärung, bei der vollkommenen Abstimmung der Oxydo-Reduktions-Vorgänge aufeinander, keine Anhäufung von Pyruvinat erfolgt, ist es nicht der geringste Widerspruch zur Theorie, daß mit frischer, lebender Hefe Zucker unter Umständen schneller als Brenztraubensäure vergären kann; denn bei Verwendung des Zuckers entsteht und zerfällt die aus ihm *intermediär gebildete* Brenztraubensäure intracellulär.

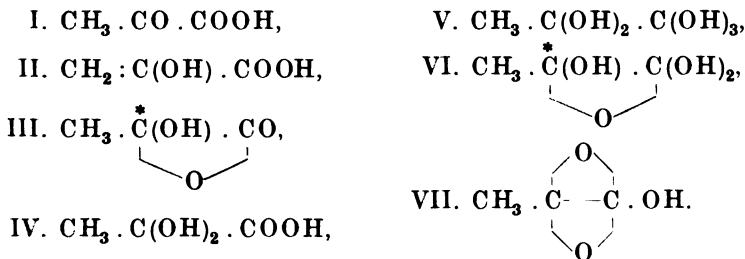
Wie ist nun der Umstand zu beurteilen, daß *zugesetzte* Brenztraubensäure im alkalischen Medium¹⁾ langsamer als Zucker vergären kann bzw. bei hinreichender Alkalinität überhaupt nicht angegriffen wird? Drei plausible Gründe glauben wir für dieses Verhalten angeben zu sollen.

1. Zucker kann in alkalischer Umgebung durch lebende Hefezellen deshalb vergoren werden, weil innerhalb der Zellen eine ganz andere Wasserstoffionen-konzentration herrscht als im Außenmedium. Zucker, der sich mit Alkali nicht eigentlich vereinigt — von dem in Lösung weitgehend gespaltenen Glucosat kann abgesehen werden —, diosmiert auch aus alkalischer Umgebung in das Zellinnere und kann bei der dort herrschenden Wasserstoffionen-konzentration vergären. Zugegebene Brenztraubensäure bindet sich als eine der stärksten Säuren, die wir kennen, vollständig an Alkali, das in der Außenflüssigkeit vorhanden ist; es ist zweifelhaft, ob die brenztraubensauren Salze überhaupt die Zellhaut durchdringen, d. h. ob aus einer überschüssige Hydroxyl-ionen enthaltenden Flüssigkeit Alkalipyruvinat in die Hefe gelangt.

2. Im Verlauf unserer Untersuchungen über die Gärung haben wir an zahlreichen Stellen immer und immer wieder darauf hin-

¹⁾ Angaben, daß auch brenztraubensaures Natrium sowohl zellfrei als mit Trockenoberhefe, zum Teil sogar stürmisch, vergoren wird, findet man bei *O. Meyerhof* bzw. bei *H. v. Euler*, *H.* 102, 207, 1918; 158, 309, 1926.

gewiesen¹⁾, daß man die labilen Zustandsformen der Zwischenprodukte mehr als bislang berücksichtigen muß. Die moderne Kohlenhydrat-chemie nimmt schon für das Ausgangsmaterial, die Hexose, verschiedene Möglichkeiten der Konstitution an. Das gilt in noch stärkerem Maße für die Brenztraubensäure. Für sie sind beispielsweise folgende Gebilde denkbar:



Namentlich ist mit der Keto- und der Enolform der Brenztraubensäure zu rechnen. Funktionelle Derivate der letzteren sind längst bekannt und für ihr einfachstes Substitutionsprodukt, die freie Phenylbrenztraubensäure, und alle ihre Abkömmlinge steht die Existenz der Enolform außer jedem Zweifel²⁾. Namentlich hat aber als erster *A. Wohl*³⁾ bei der Carboxy-brenztraubensäure, bei der Oxal-essigsäure, klargestellt, daß die freie Säure in zwei isomeren Enolformen (Oxy-fumarsäure und Oxy-maleinsäure) vorliegt, während den neutralen Alkalisalzen die Ketonstruktur eigen ist. Jüngst haben nun, nach zuvor am Beispiel der Acrylsäure gesammelten Erfahrungen über den Einfluß der Doppelbindung auf das spektrale Bild im Ultraviolett, *V. Henri* und *Cl. Fromageot*⁴⁾ unter dem Titel: „Absorptionsspektrum der Brenztraubensäure, Existenz der tautomeren Formen“ mitgeteilt, daß unzweifelhaft die Brenztraubensäure in Abhängigkeit von Konzentration und H-Ionengehalt ebenfalls eine andere Konstitution (Oxy-acrylsäureform) annimmt, worauf auch *Hägglund* verwiesen hat.

¹⁾ *C. Neuberg*, Der Zuckerumsatz der Zelle. Jena 1913; diese Zeitschr. 51, 502, 1913; Umsatz der Kohlenhydrate in C. Oppenheimers Handb. d. Biochem., 2. Aufl., 9, 442, 1924; *C. Neuberg* und *E. Simon*, diese Zeitschr. 156, 378, 1925; vgl. auch *J. Boeseken*, Rec. 45, 466, 1926. Alle diese Formulierungen gehen auf *A. v. Baeyer* (Ber. 3, 63, 1870) zurück und sind sodann von *Bullerow*, *Flawitzky*, *Claisen* u. a. fortentwickelt.

²⁾ *J. Bougault* und *R. Hemmerlé*, Chem. Centralbl. 1915, I, 1115; *R. Hemmerlé*, ebendasselbst 1917, II, 287; *H. Gault* und *R. Weick*, ebendasselbst 1920, III, 277 und 795; 1923, I, 512 und 513; *R. Söderquist*, Monogr., S. 88, 89, 116, 125, 135, 141.

³⁾ *A. Wohl*, Ber. 40, 2282, 1907.

⁴⁾ *V. Henri*, Chem. Centralbl. 1924, I, 1896; *V. Henri* und *Cl. Fromageot*, ebendasselbst 1926, I, 18.

Wenn nun zugefügtes brenztraubensaures Salz einen anderen Bau und, wie man mit *A. Wohl*¹⁾ annehmen muß, auch einen ganz anderen *Energiegehalt* besitzt als freie Brenztraubensäure, so ist es klar, daß im alkalischen Bereich ohne Widerspruch mit der Theorie dieses Gebilde carboxylatisch nicht oder nur unvollkommen angreifbar zu sein braucht. Dieses Verhalten erklärt zugleich, warum brenztraubensaures Kalium partiell vergärbar sein kann, nämlich insoweit, als es durch saure Puffer des Zellinhalts in die Reaktionsform verwandelt wird.

Im Hinblick hierauf ist es auch beachtenswert, daß wir die *Trimethylbrenztraubensäure*, $(\text{CH}_3)_3\text{C} \cdot \text{CO} \cdot \text{COOH}$, von der ersichtlich keine Enolform gebildet werden kann, bisher unter keinen Umständen vergären konnten, während die Mono- und Di-methylbrenztraubensäure²⁾ carboxylatisch unschwer gespalten werden. Die *a-Äthoxy-acrylsäure*, $\text{CH}_2 : \text{C}(\text{OC}_2\text{H}_5) \cdot \text{COOH}$, die nach *L. Claisen*³⁾ bereitet wurde, ist allerdings bisher auch nicht als vergärbar befunden; aber es ist klar, daß die beim Vinylalkohol ohne weiteres erfolgende Verschiebung zum Acetaldehyd ($\text{CH}_2 : \text{CHOH} \rightarrow \text{CH}_3 \cdot \text{CHO}$) beim Vinyl-äthyl-äther nicht zustande kommt und daß ganz andere Stabilitätsverhältnisse im Molekül gegeben sind. Dagegen erwies sich bemerkenswerterweise die *Aldehydo-propionsäure*, $\text{COH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, die mit der Brenztraubensäure isomer ist, durch Hefe als angreifbar; sie liefert Kohlendioxyd nebst Acetaldehyd; die interessante Substanz ist nach der Vorschrift von *A. Wohl* und *W. Emmerich*⁴⁾ zugänglich. Hierauf wie auf die Frage der Giftigkeit solcher Carbonsäuren für Hefen wollen wir später zurückkommen.

3. Wenn Zucker bei einer Alkalinität vergärt, bei der zugegebenes brenztraubensaures Alkali nicht mehr gespalten wird, so muß man fragen, ob bei der intermediären Entstehung von Brenztraubensäure aus zerfallendem Zucker, wobei sie Molekül um Molekül gebildet und zerlegt wird, dieselben Verhältnisse obwalten, wie bei der Zufuhr von fertigem brenztraubensauren Alkali. Man braucht dabei nicht einmal an jene ganz sicher existierenden⁵⁾ Gebilde abweichender Konstitution und ungleichen Energieinhalts zu denken. Man braucht auch nicht die durchaus mögliche Assoziation beim fertigen, erfahrungsgemäß recht kondensationslustigen Pyruvinat in Betracht zu ziehen, sondern kann den Gegenstand auf folgendes Problem reduzieren. Wenn Zucker selbst in einem als homogen vorausgesetzten alkalischen Milieu $>$ als 7 mit Trockenhefe oder Hefensaft vergärt, fertiges Pyruvinat aber nicht, so bleibt es dahingestellt, ob am Orte des Geschehens schneller die

¹⁾ *A. Wohl*, Ber. **40**, 2282, 1907.

²⁾ *H. K. Sen*, diese Zeitschr. **143**, 195, 1913.

³⁾ *L. Claisen*, Ber. **29**, 2933, 1896; **31**, 1020, 1898.

⁴⁾ *A. Wohl* und *W. Emmerich*, ebendasselbst **33**, 2760, 1900.

⁵⁾ *I. Boeseken* und Mitarbeiter, Chem. Centralbl. **1916**, II, 168; **1921**, I, 808; **1922**, III, 255; *V. Henri*, l. c., und namentlich *A. Wohl*, l. c.; *P. Mayer*, diese Zeitschr. **50**, 283, 1913.

Decarboxylierung als die Neutralisation naszierender Brenztraubensäure eintritt. Es ist auch ganz unbekannt, welche Wasserstoffionenkonzentration am Orte des eigentlichen Geschehens herrscht. Was wir messen, ist lediglich die H-Ionenkonzentration der intermicellaren Flüssigkeit. Wenn in bezug auf die Durchdringbarkeit einer Micelle mit Zucker einerseits und mit brenztraubensauren Salzen andererseits ähnliche Unterschiede obwalten, wie bei einer lebenden Zelle, so folgt daraus, daß fertig zugefügtes Pyruvinat gar nicht an die Stelle gelangt, an der die Carboxylase mit solcher Brenztraubensäure zusammentrifft, wie sie aus dem leicht diffundierenden Zucker hervorgeht. Dabei muß aber vor allem im Sinne der modernen Fermentchemie mit folgendem Verhalten gerechnet werden. Falls für die intermediäre Bindung von Enzym und Substrat Zucker zur Verfügung steht, so kann man, rein schematisch ausgedrückt, annehmen, daß hier die Vereinigung von „Zymase“ mit Zymohexose etwa an der Carbonylgruppe oder an einer Hydroxylgruppe oder an beiden zugleich eintritt. Ist fertige Brenztraubensäure das Substrat, so kann beispielsweise die Carboxylgruppe an der Bindung des Ferments mitbeteiligt sein, und es würde etwa der Komplex „brenztraubensaure Carboxylase“ dem Zerfall unterliegen. Ist aber nicht freie Brenztraubensäure, sondern brenztraubensaures Salz zugegen, so widerspricht nichts der Vorstellung, daß nunmehr die Bindung von Ferment an das neue Substrat nicht mehr oder unvollständig oder anders zustande kommt. Erwägenswert ist auch, ob nur ein saures Enolgebilde¹⁾ (Oxy-acrylsäure) die Anlagerung des Ferments zuläßt. Somit brauchte zugefügtes brenztraubensaures Salz auch in Hefensaft jenseits des Neutralpunkts nicht vergärbar zu sein, da mit zunehmender Alkalinität die Carboxylgruppe immer vollkommener abgesättigt und der Beladung mit dem Enzym unzugänglich gemacht wird. Wenn aber Brenztraubensäure erst beim Zuckerabbau entsteht, also nicht als brenztraubensaures Salz in das System eingeführt wird, so kann, weil das Ferment bereits an der Vorstufe der Brenztraubensäure haftet, trotz alkalischer Reaktion der intermicellaren Flüssigkeit die carboxylatische Spaltung möglich sein, da — im grob strukturchemischen Sinne gesprochen — die Carboxylgruppe schon mit dem Ferment einen Komplex gebildet hat und nicht mehr von beigegebenem Alkali schnell genug ergriffen wird. Daß die Integrität der Carboxylgruppe für den Ablauf eines Fermentprozesses, der sich nicht einmal am Carboxylrest abspielt, von ausschlaggebender Bedeutung ist, zeigen wichtige Versuche von *S. Edlbacher* und *P. Bonem*²⁾. Sie haben,

¹⁾ Vgl. hierzu *W. Wislicenus* und *W. Beckh*, A. 295, 339, 1897; *H. Gault* und *R. Weick*, Chem. Centralbl. 1921, III, 1354; 1922, I, 548; fernere Analogien bei den Keto-Enolstrukturen der Polypeptide.

²⁾ *S. Edlbacher* und *P. Bonem*, H. 145, 89, 1925.

zugleich als einen Beweis weitgehender Ferment-spezifität, gefunden, daß die Arginase nur freies Arginin, nicht aber mehr Arginin-methylester spaltet, und daß sie selbst beim Arginyl-arginin nur an dem Molekülteil angreift, in dem das Carboxyl- und Guanidin-radikal in unsubstituierter Form zugegen sind.

Daß eine Reaktion, die in dem Sinne zusammengesetzt ist, daß an ihrem Ablauf verschiedene Teilfermente zusammenarbeiten, sich optimal bei einer Wasserstoffionen-konzentration vollzieht, die für jede Teilreaktion gesondert keineswegs optimal ist, lehrt das Beispiel der enzymatischen Amygdalin-hydrolyse¹⁾. Das Wirkungsoptimum von Prunase (β -Glucosidase + Oxynitrilase) liegt nach den bisherigen Feststellungen bei $p_H = 4,4$, das der Amygdalase bei 5,5, das der Gesamtsplaltung bei p_H 6 bis hinaus über 8.

Auch sonst ist des öfteren eine Abhängigkeit der p_H -Aktivitätskurve vom Substrat beobachtet worden²⁾. So wird (nach *Hertzmann* und *Bradley*) Edestin bei $p_H = 7$ und Ovalbumin bei $p_H = 5$ durch Leberprotease zerlegt. Das p_H -Optimum der Peptidase schwankt allein gegenüber den Dipeptiden (nach *Abderhalden* und *Fodor*) zwischen 6,7 und 8,5, obgleich nach *E. Waldschmidt-Leitz*³⁾ nur ein Erepsin existieren dürfte. Das Trypsin wirkt auf Casein bei $p_H = 6,5$ und auf Hämoglobin bei 7,5 (*Northrop*). Wie *R. Willstätter*⁴⁾ ausführt, ist das p_H -Optimum überhaupt nicht dem Enzym eigentümlich, sondern es wechselt deutlich mit dem Substrat; so spalten pflanzliche Proteasen Gelatine sowie Pepton bei $p_H = 5$ und Fibrin bei $p_H = 7,2$. Die Lipase des Magens⁵⁾ gar kann, je nach ihrem Reinheitsgrade, bei $p_H = 5$ oder $p_H = 8$ angreifen⁶⁾.

In diesem Zusammenhange muß auch erwähnt werden, daß nicht selten Enzyme ihre optimale Tätigkeit bei einer Hydroxylionen-konzentration entfalten, die wahrscheinlich in der Norm ihnen nicht zu Gebote steht. So sah *O. Meyerhof*⁷⁾ das glykolytische Ferment am

¹⁾ *G. Bertrand* und *A. Compton*, Chem. Centralbl. 1911, II, 1042; 1921, III, 486; *R. Willstätter* und *W. Csányi*, H. 117, 180, 1921; *R. Willstätter*, *R. Kuhn* und *H. Sobotka*, ebendasselbst 134, 227, 1924.

²⁾ Lit. bei *Oppenheimer-Kuhn*, Fermente, 3. Aufl., 1925, Teil I, S. 204, 320, 325.

³⁾ *E. Waldschmidt-Leitz*, und *A. Harteneck*, H. 149, 221, 1925; *E. Waldschmidt-Leitz* und *A. Schöffner*, ebendasselbst 151, 31, 1926.

⁴⁾ *R. Willstätter*, Naturwissenschaften 14, 941, 1926.

⁵⁾ *F. Haurowitz* und *W. Petrou*, H. 144, 68, 1925.

⁶⁾ Nach *Ringier* und *Grutterink* (H. 156, 275, 1926) liegt die optimale Wirkung des „Trypsins“, das ein Gemisch von Trypsinogen, Kinase und Erepsin ist, bei $p_H = 11,3$, während die Komponenten ganz andere Optima besitzen. Dieselben Autoren fanden u. a. für Papain zwei Maxima, bei $p_H = 2,5$ und 11, die durch Phosphat auf ein einziges bei etwa $p_H = 7$ liegendes, zusammengedrängt werden.

⁷⁾ *O. Meyerhof*, Pflügers Arch. 188, 125, 1921.

stärksten bei $p_H = 9,0$ Milchsäure bilden, so liegt das Optimum der Arginase (nach *Edlbacher* und *Bonem*, l. c.) bei $p_H = 9,8$, das der Histidase¹⁾ bei $p_H = 9,0$, das der Nierenphosphatase²⁾ bei 9,2. Daß trotzdem alle diese Agenzien bei den ganz anderen Aciditätsverhältnissen in den Organismen zur Betätigung kommen, wird kaum ernstlich bezweifelt werden.

Nach überzeugungskräftigen Ausführungen von *P. Pfeiffer*³⁾ müssen die Enzym-Substratverbindungen zu den *echten Molekül-Verbindungen* gerechnet werden. Die heute nachgewiesenen⁴⁾ lokalisierten Restaffinitäten machen eine solche Annahme noch wahrscheinlicher. Im Hinblick auf das Konfigurations- und Gärungsproblem der Brenztraubensäure sind zwei Tatsachen hervorzuheben. Gerade die Äthylenbindung (α -Oxy-acrylsäure-form) schafft besonders günstige Bedingungen für die koordinative Anlagerung, die so fest sein kann, daß der entstandene Komplex ohne eigentliches asymmetrisches Kohlenstoffatom sogar in optisch aktive Formen zerlegt werden kann⁵⁾. Des weiteren ist der Carboxylrest im Verein mit einer Sauerstoffgruppe für die wechselseitige, zum Teil stöchiometrische Absättigung der Partialaffinitäten verantwortlich, und *P. Pfeiffer* führt mit Recht die Analogie zwischen Fermentspezifität und Additionstendenz der Gallensäuren an, die von *H. Wieland* und *H. Sorge* aufgedeckt ist.

Die folgenden experimentellen Belege bestätigen unsere früheren Befunde und zeigen im Verein mit den vorausgegangenen Darlegungen, daß zu einer Einschränkung der Brenztraubensäure-theorie der Gärung bislang kein Anlaß vorliegen dürfte.

Vorbemerkungen zu den Tabellen.

1. Alle Ansätze mit Hefenpräparaten (mit Trocken-, Aceton-, Alkohol-Äther-Hefen sowie Mazerationssäften) sind unter Zugabe von 1 Proz. des Flüssigkeitsvolumens an Toluol vorgenommen. Die frischen Hefen sind ohne Antiseptica angewendet.

2. Von den in den Tabellen angeführten einzelnen Gäransätzen sind stets $\frac{7}{10}$ der gesamten Aufschwemmung bzw. der Lösung im Einzelversuch benutzt worden.

3. Wo besondere Angaben über die Selbstgärung des Hefenmaterials nicht in den Tabellen stehen, ist der Betrag der Autofermentation Null oder verschwindend gering.

¹⁾ *S. Edlbacher*, H. 157, 109, 1926.

²⁾ *H. D. Kay*, Biochem. Journ. 20, 810, 1926.

³⁾ *P. Pfeiffer*, Naturwissenschaften 14, 1108, 1926.

⁴⁾ *E. Hertel*, Ber. 57, 1559, 1924.

⁵⁾ *L. T. Sandborn* und *C. S. Marvel*, Chem. Centralbl. 1926, II, 397.

Tabelle I.

1. 15,0 cem m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Unterhefe P.
2. 15,0 " m/20 Glucose + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Unterhefe P.
3. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure in Kochsaft¹⁾ + 1,5 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Unterhefe P.
4. 15,0 " m/20 Glucose in Kochsaft + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Hefe P.
5. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure + 2,0 cem 2mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe P.²⁾
6. 15,0 " m/20 Glucose + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe P.
7. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure in Kochsaft + 2 cem 2mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe P.
8. 15,0 " m/20 Glucose in Kochsaft + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 1 g Trockenhefe P.
9. 15,0 " Wasser + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Hefe P.³⁾
10. 15,0 " Wasser + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe P.³⁾
11. 15,0 " Kochsaft + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 2,5 g frische Hefe P.³⁾
12. 15,0 " Kochsaft + 1,0 cem mol. Essigsäure + 0,35 cem 2mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe P.³⁾

		Bei 29° entwickelte cem CO ₂											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nach	0 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
"	10 "	0	0	0	0	1,6	0	0	1,5	0	0	0	0
"	15 "	1,0	0,6	1,1	0,5	3,9	0	3,0	0	0	0	0	0
"	25 "	1,1	0,9	1,2	3,0	10,0	0	11,5	0	0	0	0	0
"	70 "	3,8	12,0	3,3	11,9	12,1	0	16,8	0,1	0	0	0	0
"	130 "	7,0	14,0	4,2	14,1	17,2	0,2	20,1	1,7	0	0,1	0	0
"	300 "	7,8	15,2	5,8	15,5	17,5	0,6	20,2	4,5	0	0,3	0,1	0,4
"	1080 "	14,2	18,1	14,1	19,0	18,2	14,6	22,6	15,6	0,6	1,1	0,8	0,7

Bei $p_H = 4,75$ bis 4,8 wird Brenztraubensäure durch Trocken-Unterhefe/schneller u. vollständiger vergoren als Glucose. Bei Verwendung v. frischer Unterhefe ist bei sonst gleichen Bedingungen das Verhältnis umgekehrt.

¹⁾ Frisch bereitet. — ²⁾ 12 Tage alt. — ³⁾ Selbstgärungskontrollen.

Tabelle III.

1. 15,0 ccm m/10 Brenztraubensäure + 1,5 ccm 2 mol. K-Acetat + 1,0 g Trocken-Ober-hefe S.¹⁾.
2. 15,0 " Kochsaft²⁾ + 0,35 ccm $\frac{2}{6}$ mol. K-Acetat + 0,2 ccm mol. Essigsäure + 1,5 ccm m/2 Glucose + 1,0 g Trocken-Ober-hefe S.
3. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 ccm 2 mol. K-Acetat + 1,0 g Trockenhefe „Bramsch“³⁾.
4. 15,0 " Kochsaft + 0,35 ccm $\frac{2}{6}$ mol. K-Acetat + 0,2 ccm mol. Essigsäure + 1,5 ccm m/2 Glucose + 1,0 g Trockenhefe „Bramsch“⁴⁾.
5. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 ccm 2 mol. K-Acetat + 2,0 g Alkohol-Äther-Oberhefe S.⁴⁾.
6. 15,0 " Kochsaft + 0,35 ccm $\frac{2}{6}$ mol. K-Acetat + 0,2 ccm mol. Essigsäure + 1,5 ccm m/2 Glucose + 2 g Alkohol-Äther-Oberhefe S.
7. 15,0 " Wasser + 0,35 " " + 0,2 " " " + 1,0 g Trocken-Ober-hefe S.⁵⁾.
8. 15,0 " Kochsaft + 0,35 " " " + 0,2 " " " + 1,0 g " " S.⁵⁾.
9. 15,0 " Wasser + 0,35 " " " + 0,2 " " " + 1,0 g Trockenhefe „Bramsch“^{4,5)}.
10. 15,0 " Kochsaft + 0,35 " " " + 0,2 " " " + 1,0 g " " " ⁵⁾.
11. 15,0 " Wasser + 0,35 " " " + 0,2 " " " + 2,0 g Alkohol-Äther-Oberhefe S.⁵⁾.
12. 15,0 " Kochsaft + 0,35 " " " + 0,2 " " " + 2,0 g " " " S.⁵⁾.

Bei 26 bis 27° entwickelte ccm CO₂

Nach	0 Min.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
"	10 "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
"	20 "	0,5	0	0,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
"	30 "	1,2	0	2,5	0	1,0	0,2	0	0	0	0	0	0
"	40 "	3,1	0	5,7	0	1,4	0,2	0	0	0	0	0	0
"	50 "	5,0	0,2	8,1	0	1,8	0,3	0	0	0	0	0	0
"	125 "	6,8	0,6	9,8	0	5,8	0,3	0	0,1	0	0	0	0
"	500 "	13,8	10,3	12,0	0,5	8,2	0,8	0,1	0,1	0	0	0	0
"	1440 "	22,1	19,0	14,0	6,9	19,6	0,8	0,2	0,3	0	0,2	0	0
"		23,2	21,6	16,4	14,8	19,6	1,2	0,8	0,6	0,8	0,8	0	0,1

Bei pH = 4,8 bis 5,0 wird Brenztraubensäure durch Trocken-Ober-hefe und Trockenhefe aus obergärig kultivierter Unterhefe, ferner durch Alkohol-Äther-Oberhefe weit rascher als (Glucose vergoren).

¹⁾ Zwei Tage alt. — ²⁾ Frisch bereitet. — ³⁾ Untergärige Rasse, aber wie obergärig gezüchtet. — ⁴⁾ Vier Tage alt. —

⁵⁾ Selbstgärungskontrollen.

Tabulle IV.

1. 15,0 ccm Mazerationsaft P + 1,5 ccm 2 mol. K-Acetat + 1,5 ccm mol. Brenztraubensäure.
2. 15,0 " " P + 3,0 " " + 1,5 " " "
3. 15,0 " " P + 1,5 " m/2 Glucose.
4. 15,0 " " P + 0,35 " $\frac{2}{16}$ mol. K-Acetat + 0,2 ccm mol. Essigsäure + 1,5 ccm m:2 Glucose.
5. 15,0 " " P + 1,5 " m/2 Glucose + 0,002 g hexose-di-phosphorsaures Natrium.
6. 15,0 " " P + 1,5 " " + 0,002 g " " + 0,35 ccm $\frac{2}{16}$ mol. K-Acetat.
" " " + 0,2 " mol. Essigsäure.
7. 15,0 " " P + 1,5 " H₃O + 0,002 g hexose-di-phosphorsaures Natrium.

Nach 0 Min.	Bei 26° entwickelte ccm CO ₂						
	1	2	3	4	5	6	7
0	0	0	0	0	0	0	0
5 "	0,6	0,4	0	0	0	0	0
10 "	2,0	2,8	0	0	0	0	0
15 "	3,1	3,5	0	0	0	0	0
20 "	3,9	4,0	0	0	0	0	0
25 "	5,1	4,4	0	0	0	0	0
30 "	6,3	4,8	0	0	0,1	0,1	0
45 "	8,0	5,7	0	0	0,5	0,7	0
60 "	9,7	6,3	0,5	0	3,0	2,6	0
120 "	14,9	11,9	5,2	5,5	7,2	6,4	0
180 "	15,8	13,6	8,3	7,4	9,0	8,2	0
240 "	15,8	13,6	8,5	7,6	9,4	8,4	0
480 "	15,8	13,5	8,9	8,0	11,3	10,4	0
1200 "	15,4	13,4	12,8	10,9	14,4	13,7	0,8
1440 "	15,6	13,4	14,0	11,7	15,5	14,8	1,0

Durch den Mazerationsaft, der aus 18 Tage alter Trocken-Unter-hefe bereitet worden war, wurde bei pH = 5,0 die Brenztraubensäure schneller als die äquivalente Menge Glucose vergoren. In beiden Fällen ist nach 24 Stunden angenähert die gleiche Menge Kohlendioxyd entwickelt. Zugabe des Aktivators Hexose-di-phosphat vermochte dem Traubenzucker nicht die Gärungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure zu verleihen.

Tabelle V.

1.	25 ccm m/10 Brenztraubensäure	+ 2,5 ccm 2 mol. K-Acetat	+ 0,125 g Trocken-Unter-hefe P.
2.	25 "	"	"
3.	25 "	"	"
4.	25 "	m/20 Glucose in Kochsaft	+ 0,2 ccm mol. Essigs. + 2,0 ccm H ₂ O + 0,25 g Trocken-Ober-hefe S.
5.	25 "	"	"
6.	25 "	"	"

Nach	Bei 25° entwickelte ccm CO ₂					
	1	2	3	4	5	6
0 Min.	0	0	0	0	0	0
10 "	0,0	0,1	0	0	0	0
25 "	0,3	0,3	0,2	0	0	0
40 "	0,4	0,6	0,3	0	0	0
60 "	0,5	1,0	1,5	0	0	0
180 "	4,8	9,1	8,8	6,6	0	1,1
900 "	6,8	10,4	17,2	7,2	3,7	9,0
1140 "	9,5	12,2	21,2	8,1	7,7	11,8
1440 "	12,4	13,8	23,2	8,9	10,6	14,2

Trocken-ober-hefe sowie Trocken-Unter-hefe vergären bei $p_H = 4,8$ die Brenztraubensäure wesentlich schneller als Glucose, obgleich für letztere durch Anstellung der Versuche in Kochsaft besonders günstige Bedingungen geschaffen worden waren.

Tabell. 17.

1. 15 cem m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 2,5 g frische Unterhefe Engelhardt.
2. 15 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H₂O + 2,5 g frische Hefe Engelhardt.
3. 1,5 " " in Kochsaft + 2,5 g frische Hefe Engelhardt.
4. 15 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 2,0 g Alkohol-Äther-Oberhefe M.¹⁾.
5. 15 " m/20 Glucose + 0,35 cem m/2 K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H₂O + 2,0 g Alkohol-Äther-Oberhefe M.
6. 15 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 1,0 g Aceton-Oberhefe M.²⁾.
7. 15 " m/10 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H₂O + 1,0 g Aceton-Oberhefe M.³⁾.
8. 15 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 2,0 g Alkohol-Äther-Hefe P.
9. 15 " m/10 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H₂O + 2,0 g Alkohol-Äther-Hefe P.
10. 15 " " in Kochsaft⁴⁾, sonst wie Ansatz 5.

Nach	Bei 26° entwickelte cem CO ₂										Bei pH = 4,8 vergärt sowohl obergärige als untergärige Alkohol-Äther- und Aceton-Hefe Brenztraubensäure schneller als Glucose. Bei einer vergleichshalber benutzten frischen Unterhefe ist wieder das Verhältnis zugunsten der Glucose verschoben. Die Versuche 4, 5, und 10 lehren, daß es tatsächlich vom Cozymasegehalt abhängt, welchen Wert man für den N-Quotienten erzielt.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10											
0 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10 "	0,1	2,9	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	1,9	0	0	0	0	0	0	0
20 "	0,3	6,4	4,0	0,2	0	0	0	0	0	0	1,1	0	0	3,8	0	0	0	0	0	0	0
30 "	0,4	6,7	5,0	0,4	0	0	0	0	0	0	1,8	0	0	4,9	0	0	0	0	0	0	0
40 "	0,5	7,4	6,1	0,5	0	0	0	0	0	0	6,0	0	0	6,0	0	0	0	0	0	0	0
50 "	0,6	7,8	6,6	0,9	0	0	0	0	0	0	6,3	0	0	7,9	0	0	0	0	0	0	0
60 "	2,4	8,3	7,1	1,2	0	0	0	0	0	0	6,4	0	0	9,0	0,2	0	0	0	0	0	0
120 "	3,6	9,9	8,3	2,5	0	0	0	0	0	0	6,7	0	0	12,2	0,9	0	0	0	0	0	0
280 "	4,5	13,8	12,1	7,6	0	0	0	0	0	0	7,1	1,6	0	28,9	7,0	0,1	0	0	0	0	0
1000 "	8,2	18,4	16,8	15,2	0	0	0	0	0	0	14,3	20,2	0	—	23,3	3,8	0	0	0	0	0
1120 "	9,3	19,7	18,0	15,4	0	0	0	0	0	0	14,4	20,5	0	—	25,6	4,8	0	0	0	0	0
1440 "	11,4	22,0	19,9	15,5	0	0	0	0	0	0	14,4	20,9	0	—	30,5	6,3	0	0	0	0	0

1) 2 Tage alt. — 2) 3 Tage alt. — 3) Hefe M. ist die alte obergärige Mischung des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin. Diese Sorte enthält nach Auskunft von Herrn Dr. H. Haehn neuerdings andere Komponenten; mit einer von ihm uns günstig überlassenen Quantität haben wir eine Stichprobe vorgenommen und im wesentlichen das gleiche Ergebnis erzielt. — 4) Bereitet aus frischer Unterhefe P.

Tabelle VII.

1. 15,0 cem m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 1,0 g Aceton-Unter-hefe *Engelhardt* 1).
2. 15,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H_2O + 1,0 g Aceton-Unterhefe *Engelhardt*.
3. 15,0 " m/10 Brenztraubensäure + 1,5 cem 2 mol. K-Acetat + 2,0 g Alkohol-Äther-Unterhefe *Engelhardt* 2).
4. 15,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 0,95 cem H_2O + 2,0 g Alkohol-Äther-Unterhefe *Engelhardt*.

	Bei 28° entwickelte cem CO ₂				Bei 28° entwickelte cem CO ₂				
	1	2	3	4	1	2	3	4	
Nach 0 Min.	0	0	0	0	Nach 60 Min.	7,6	0	4,1	0
" 10 "	1,2	0	0,1	0	" 70 "	8,2	0	5,3	0
" 20 "	2,4	0	0,3	0	" 420 "	15,1	1,8	11,2	6,3
" 30 "	3,7	0	0,9	0	" 1440 "	17,5	6,9	22,7	15,9
" 40 "	5,0	0	2,0	0	" 2640 "	18,9	8,6	23,2	19,1
" 50 "	6,3	0	2,9	0	" 2880 "	19,3	9,2	24,2	20,3

Auch mit einer anderen untergärigen Rasse erhält man bei $pH = 4,8$ das übliche Bild. Aceton- sowie Alkohol-Äther-Präparate dieser Hefe vergären Brenztraubensäure rascher als Glucose.

Tabelle VIII.

1. 25,0 cem m/10 Brenztraubensäure + 2,5 cem 2 mol. K-Acetat + 0,25 g Aceton-Unterhefe P. 3).
2. 25,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 2,0 cem Wasser + 0,25 g Aceton-Unterhefe P.
3. 25,0 " m/10 Brenztraubensäure + 2,5 cem 2 mol. K-Acetat + 0,25 g Aceton-Unterhefe E. 4).
4. 25,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 2,0 cem Wasser + 0,25 g Aceton-Unterhefe P.
5. 25,0 " m/10 Brenztraubensäure + 2,5 cem 2 mol. K-Acetat + 0,25 g Aceton-Oberhefe M. 5).
6. 25,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 2,0 cem H_2O + 0,25 g Aceton-Oberhefe M.
7. 25,0 " m/10 Brenztraubensäure + 2,5 cem 2 mol. K-Acetat + 0,25 g frische Oberhefe S.
8. 25,0 " m/20 Glucose + 0,35 cem $\frac{2}{5}$ mol. K-Acetat + 0,2 cem mol. Essigsäure + 2,0 cem H_2O + 0,25 g frische Oberhefe S.

	Bei 26° entwickelte cem CO ₂							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nach 0 Min.	0	0	0	0	0	0	0	0
" 10 "	0,6	0	0,1	0	0	0	0	0
" 20 "	0,7	0	0,2	0	0,1	0	0	0
" 30 "	0,7	0	0,2	0	0,1	0	0	0
" 40 "	0,8	0	0,4	0	0,1	0	0	0,2
" 50 "	0,8	0	0,5	0	0,2	0	0	0,5

	Bei 26° entwickelte cem CO ₂							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nach 60 Min.	0,9	0,1	0,5	0	0,2	0	0	0,8
" 75 "	1,0	0,1	0,5	0	0,2	0	0	1,6
" 195 "	4,6	0,1	3,5	0	6,0	0	0	3,6
" 915 "	5,3	0,2	3,7	0,2	5,8	0,1	0,4	6,8
" 1440 "	7,5	0,2	4,1	0,2	5,9	0,1	0,4	8,0
" 2355 "	10,1	0,4	5,1	1,8	8,2	13,6	0,5	14,5

Bei $pH = 4,8$ u. sehr kl. Menge Hefenmaterial offenb. sich besond. die über. Vergärungsfähigkeit d. Brenztraubens. durch Hefenzubereitungen, gegenüber frischer leb. Hefe ist auch unt. diesen Beding. d. Traubenzucker im Vorteil.

1) 3 Tage alt. — 2) 3 Tage alt. — 3) 10 Tage alt. — 4) 10 Tage alt. — 5) 10 Tage alt.

Berichtigung.

In der Mitteilung von *G. E. Wladimiroff*, diese Zeitschrift 177, soll es heißen

S. 290:

- Elektrische Leitfähigkeit des Eiereiweißes.
- Elektrische Leitfähigkeit der intermicellären Flüssigkeit, berechnet nach der Formel $l_i = \frac{l}{\left(1 - \frac{\alpha}{2} \kappa\right)^2}$,

statt

- Elektrische Leitfähigkeit des Eiereiweißes der intermicellären Flüssigkeit.
- Elektrische Leitfähigkeit, berechnet nach der Formel $l_i = \frac{e}{\left(1 - \frac{\alpha}{2} \kappa\right)^2}$.

S. 306:

unter Nr. 15: 346 statt 340.

*

Autorenverzeichnis.

- Abelin, J.* und *Bunya Kobori.* Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe. V. Mitteilung: Über den Einfluß des Natriumphosphats auf den Gaswechsel nach Fleischaufnahme. S. 211.
- Alders, Nikolaus, Hermann Chiari* und *Daniel Laszlo.* Über das glykolytische Vermögen zellfreier Extrakte aus Tumoren und anderen Geweben. S. 46.
- Bach, A., A. Oparin* und *R. Wähler.* Untersuchungen über den Fermentgehalt von reifenden, ruhenden und keimenden Weizensamen. S. 363.
- Banerjee, Dhirendranath.* Kann durch Verfütterung von Natrium bicarbonicum oder aktivem Eisenoxyd der Verlauf der Avitaminose bei Reistauben beeinflusst werden? S. 27.
- Bleyer, B.* und *W. Braun.* Beitrag zur Kenntnis des oxydativen Abbaues der Glucose S. 105.
- Blüh, Otto.* Über Adsorptions- und Diffusionserscheinungen im elektrischen Felde und eine elektrostatische Meßmethode zur Bestimmung des elektrischen Wanderrungssinnes gelöster Stoffe. S. 415.
- Braun, W.* s. *B. Bleyer.*
- Chiari, Hermann* s. *Nikolaus Alders.*
- Chrzaszcz, T.* und *C. Goralówna.* Einfluß der Fütterung auf die Enzymmenge der Kuhmilch. S. 247.
- — Über die Diastasemenge der Kuhmilch unter pathologischen Bedingungen. S. 263.
- Coelho, Eduardo* s. *Ludwig Pincussen.*
- Dyke, H. B. van* und *A. Schürmeyer.* Die Entfärbung von Lichtgrün durch Serum von männlichen und weiblichen Menschen und Tieren. S. 353.
- Fehér, D.* Untersuchungen über die Kohlensäureernährung des Waldes. Vorläufige Mitteilung. S. 201.
- Freundlich, H.* und *L. Farmer Loeb.* Harnsaureres Natrium als Kolloidelektrolyt. S. 141.
- Fuchs, Walter.* Theorie der Ligninbildung. S. 30.
- Gassner, L.* Der Gehalt des Nervensystems an gebundenem Cholesterin. S. 359.
- Goralówna, C.* s. *T. Chrzaszcz.*
- Gracanic, Mihovil.* Über das Verhältnis zwischen der Katalaseaktivität und der Samenvitalität. S. 205.
- Groot, J.* Über das Verhalten von Zuckerarten in verdünnt alkalischer Lösung. II. Mitteilung: Das Verhalten von Glucose KOH und NaOH gegenüber. S. 341.
- Hägglund, Erik* und *Truls Rosenqvist.* Über die Abhängigkeit deralkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. VI. S. 61.
- Janek, A.* und *Br. Jirgensons.* Sensibilisierende und stabilisierende Wirkung der Haut auf kolloide Lösungen. S. 193.
- Jirgensons, Br.* s. *A. Janek.*
- Kobori, Bunya.* Zur Kenntnis des Kohlehydratstoffwechsels. II. Mitteilung: Über den Einfluß der Alkaliphosphate und einiger anderer Elektrolyte auf den Kohlehydratstoffwechsel. S. 218.
- s. *J. Abelin.*

- Krebs, Hans Adolf.* Über die Rolle der Schwermetalle bei der Autoxydation von Zuckerlösungen. S. 377.
- Kurelec, Viktor Ritter von.* Über die Lage der Absorptionsstreifen von Kaliumpermanganat und Uranylnitrat in verschiedenen farblosen Lösungsmitteln. S. 65.
- Lange, F.* s. *S. Loewe.*
- Lányi, Elisabeth.* Beiträge zur Reduktion von Kupferoxydsalzen durch Traubenzucker und durch Harnsäure. S. 85.
- Laszlo, Daniel* s. *Nikolaus Alders.*
- Loeb, L. Farmer* s. *H. Freundlich.*
- Loewe, S., F. Lange* und *E. Spohr.* Über weibliche Sexualhormone (Thelytropine). XII. Mitteilung: Brunsterzeugende Stoffe (Thelykinine) als Erzeugnisse des Pflanzenreiches. S. 1.
- Massatsch* s. *Schittenhelm.*
- Neuberg, Carl.* Über die Vergärungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure und damit zusammenhängende Fragen. S. 471.
- Oparin, A.* s. *A. Bach.*
- Pincussen, Ludwig.* Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. I. Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoffkomponenten durch Adrenalin und Pilocarpin. Von *Alfred Walter.* S. 132.
- Über Veränderungen des Stoffwechsels unter verschiedenen Bedingungen. II. Über die Beeinflussung der Ausscheidung der Stickstoffkomponenten durch Kalium und Calcium. Von *Eduardo Coelho.* S. 136.
- Remy, E.* Das Verhalten aktiver Chlorpräparate gegenüber organischer Materie. S. 97.
- Rosenqvist, Truls* s. *Erik Hägglund.*
- Rubner, M.* und *A. Schittenhelm.* Untersuchungen über Malzkeimlinge und deren Nährwert. S. 426.
- Sachs, H.* Zur Frage der Abhängigkeit der Komplementbindung und Komplementwirkung von der Kolloidlabilität des Serums. S. 288.
- Scharrer, K.* und *J. Schwaibold.* Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VI. Mitteilung: Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels. S. 307.
- Scharrer, K.* s. *J. Schwaibold.*
— s. *A. Strobel.*
- Schittenhelm, Massatsch* und *Warnat.* Über die biologische Brauchbarkeit eines gereinigten Hefetrockenpräparats. S. 454.
- Schittenhelm, A.* s. *M. Rubner.*
- Schmitt-Krahmer, Constanze.* Die Milchsäurebildung in roten und weißen und funktionell verschiedenen Muskeln der Vögel. S. 272.
- Schropp, W.* s. *A. Strobel.*
- Schürmeyer, A.* s. *H. B. van Dyke.*
- Schwaibold, J.* und *K. Scharrer.* Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VIII. Mitteilung: Über den Chemismus des tierischen Jodstoffwechsels. S. 334.
- Schwaibold, J.* s. *K. Scharrer.*
- Štukareff, K. A.* Bestimmung kleiner Salzsäuremengen im Magensaft mittels seiner elektrometrischen Analyse. S. 127.
- Elektrometrische Titrierung des Magensaftes als Methode der Bestimmung seines Pufferungsgrades. S. 117.
- Spiegel-Adolf, Mona.* Goldsol und Proteine. S. 395.
- Spohr, E.* s. *S. Loewe.*
- Strobel, A.* und *K. Scharrer.* Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. V. Mitteilung: Fütterungsversuch mit abnehmenden Jodgaben zu Milchziegen. S. 300.
- Strobel, A., K. Scharrer* und *W. Schropp.* Zur Kenntnis des Jods als biogenes Element. VII. Mitteilung: Fütterungsversuche mit verschiedenen Jodgaben an Milchkühen. S. 313.
- Surányi, L.* Beiträge zur Cholesterinbestimmungsmethodenach Surányi und Korényi. S. 293.

- Timofejewa, A.* Über die Einwirkung von Jod und Jodpräparaten, Thyreektomie und Schilddrüsenfütterung auf die Blutkatalase in vitro und in vivo. S. 35.
- Trendtel, F.* Über individuelle Verschiedenheiten des isoelektrischen Punktes beim Frauenmilchcasein. S. 371.
- Ungar, A.* Über den Ca-Gehalt des Blutserums bei Mangel an Vitamin B. S. 357.
- Verzár, F.* s. *L. Gassner.*
- Wähner, R.* s. *A. Bach.*
- Walter, Alfred* s. *Ludwig Pincussen.*
- Warnat* s. *Schittenhelm.*
- Wilheim, R.* Zur Frage der Eiweißkörper mit Bence - Jonescher Reaktion. Zugleich ein Beitrag zum Problem der Reversibilität der Hitzegerinnung. S. 231.
- Williger, Johannes.* Fütterungsversuch an Milchziegen mit Glykokoll als Eiweißersatz. S. 156.
-

Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Azeff-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Bom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, E. 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. Häggund-Abo, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, A. J. Kluyver-Delft, 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, 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. Möllsch-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. Paul-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, J. Snapper-Amsterdam, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-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., F. Verzár-Dobreczen, O. Warburg-Berlin, H. J. Waterman-Delft, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinaky-Moskau.

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hunderteinundachtzigster Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1927

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

Inhalt.

	Seite
Iwanoff, Nicolai N. und A. Toschewikowa. Über zwei Arten von Harnstoffbildung bei Champignons	1
Iwanoff, Nicolai N. und M. I. Smirnowa. Über Harnstoff bei Bakterien. II	8
Jurišić, P. J. Beobachtungen über die Aufnahme von Farbstoffen durch die roten Blutkörperchen	17
Feulgen, R. und K. Imhäuser. Die quantitative Bestimmung des Plasmas im Serum	30
Rona, P. und R. Ammon. Zur stereochemischen Spezifität der Lipasen und Beiträge zur Giftwirkung an den fettspaltenden Fermenten . .	49
Klisiecki, A., W. Mozolowski und M. Taubenhau. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VII. Mitteilung: Über die Ammoniakbildung im physiologisch stagnierenden Blute . . .	80
Mozolowski, W. und M. Taubenhau. Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VIII. Mitteilung: Hängt die Ammoniakbildung im Blute mit der Anwesenheit von Cyanaten zusammen?	85
Brahm, C. Versuche, die Sterilisierung von Grünfütter durch Zufuhr flüssiger Stoffe zu erreichen. I. Unter Mitarbeit von Gertrud Andresen und Ruth Prillwitz.	96
Hürthle, Rudolf. Schicksal von Glykuronsäure und Galakturonsäure im tierischen Organismus	105
Lasch, F. und S. Brügel. Über die Schutzwirkung des Saponins bei Insulin gegen Fermente	109
Berezeller, L. und H. Wastl. Ernährungslehre und Variationsstatistik. IV. Mitteilung: Vergleich der chemischen Eigenschaften einiger Weizensorten	117
— — Ernährungslehre und Variationsstatistik. V. Mitteilung: Vergleich der physikalischen Eigenschaften (Korngröße und Hektolitergewicht) einiger Weizensorten.	133
Burkser, E., I. Brun und K. Bronstein. Zur Frage der Bioradioaktivität der Pflanzen und der Existenz von Radiumelementen in denselben	145
Smorodinzew, J. A. und V. A. Danilow. Der Einfluß verschiedener Präparate der Chiningruppe auf die fermentativen Funktionen des Organismus. VI. Mitteilung: Abhängigkeit der Chinin- und Harnstoffwirkung auf die Pankreaslipase von der Wasserstoffzahl des Mediums	149
Häglund, Erik und L. Ahlbom. Vergleichende Untersuchungen über die Vergärung von Glucose und Brenztraubensäure	158
Kuroda, T. Über die Giftigkeit einiger Lokalanaesthetica bei intrarterieller Applikation	172

	Seite
Carlens, Olof und A. Krestownikoff. Über durch den Melkakt hervorgerufene hypoglykämische Zustände	176
Pletsch, Albert. Die Wirkung des Kartoffelknollensaftes auf die biologische Reduktion von o-Dinitrobenzol	183
Schulz, Hugo. Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen	192
Jacoby, Martin. Über die Verstärkung der Enzymwirkung durch kleinste Mengen in ihrer Zusammensetzung bekannter Substanzen	194
Meyer, R. Die Abhängigkeit der Wachstumsgröße von der Quantität der Ernährungsfaktoren bei Pilzen. (Vorläufige Mitteilung.)	207
Berczeller, L. und H. Wastl. Über den Mechanismus der Blutkörperchensenkung	210
— Über Lebensdauer und einseitige Ernährung mit organischen Nahrungsstoffen	216
Laufberger, Vilém. Über das Verhalten des Alanins und der Brenztraubensäure in überlebender diabetischer Leber	220
— Über die Cytolyse der Gewebszellen	225
Hora, Franz. Über die Bedingungen der Gewebscytolyse	230
Rupp, E. und H. Schlee. Berichtigung	250
Enevoldsen, V. Über vielleicht durch Bakterienwachstum verursachte Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration natürlicher Wasser	251
Ssadikow, W. S. Über ein neues kollagen-lösendes Ferment (Kollagenase)	267
Stapp, W., R. Feulgen und K. Volt. Über das Vorkommen des Plasmalogens. I. Mitteilung: Über das Vorkommen des Plasmalogens in Körperflüssigkeiten	284
Toni, G. De. Das Lithiumcitrat als allgemeines koagulationshemmendes Mittel in der minimetrischen Blutuntersuchung. Zugleich ein Beitrag zur Systematisierung der Blutmikroanalyse	289
Hägglund, Erik und Truls Rosenqvist. Zur Kenntnis der Kinetik der Carboxylasewirkung	296
Bokor, R. Ein Beitrag zur Mikrobiologie des Waldbodens	302
Silberstein, Fritz, Johann Freud und Tibor Révész. Zur Biochemie des Carcinoms. II.	305
— — — Zur Biochemie des Carcinoms. III	316
— — — Über den Ersatz von Zucker durch andere chemisch definierte Körper bei der Bekämpfung und Hintanhaltung des durch Insulin hervorgerufenen hypoglykämischen Komplexes	327
Silberstein, Fritz und Siegfried Kessler. Über die Beeinflussung der Insulinwirkung durch Organextrakte, Ergotamin und Histamin	333
Schloss, Wilhelm. Bestehen Beziehungen zwischen Isoagglutination und Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit?	345
Bleyer, L. Über einige Wirkungen der Alkyl-Resorcincarbonsäuren und ihre Abhängigkeit von der Konstitution der Alkyl-Seitenkette	350
Lorber, Leo. Zwei einfache Methoden zur quantitativen Bestimmung der Acetessigsäure	366
— Das quantitative Verhältnis des Acetons und der Acetessigsäure im Harn auf Grund der zu ihrem Nachweis gebrauchten qualitativen Proben	375
— Untersuchungen über die tautomeren Enol- und Ketoformen der Acetessigsäure	383
— Einfache mikro-kolorimetrische Eisenbestimmungsmethode	391

	Seite
Fleischmann, W. und Fritz Kubowitz. Über den Stoffwechsel der Leucocyten	395
Alders, Nikolaus. Kritisches und Experimentelles über die Bestimmung des Nucleinsäuregehalts von Organen	400
Snapper, I. und A. Grünbaum. Über den Abbau der β -Oxybuttersäure in der Leber	410
– – Über den Abbau der Diacetsäure bei der Leberdurchströmung	418
Szent-Györgyi, A. v. Zellatmung. V. Mitteilung: Über den Oxydationsmechanismus einiger Pflanzen	425
– Zellatmung. VI. Mitteilung: Zur Funktion der Nebennierenrinde und über die Substanz CXII	433
Falkenhausen, M. Frhr. v. und Hans J. Fuchs. Über proteolytische Fermente im Serum. VI. Mitteilung: Über die Spezifität des proteolytischen Fermentes im Serum verschiedener Kaninchenrassen.	438
Heckscher, Hans. Über die nephelometrische Bestimmung der Neutralfett-Cholesterinfraktion im Blute nach Bing und Heckschers Methode. Über die Genauigkeit der Methode und die für ihren Gebrauch geltenden Bedingungen sowie eingehende Erklärung der technischen Einzelheiten	444
Autorenverzeichnis	488

Über zwei Arten von Harnstoffbildung bei Champignons.

Von

Nicolai N. Iwanoff und A. Toschewikowa.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Agronomie zu Petersburg-Leningrad.)

(Eingegangen am 20. November 1926.)

Durch die vorhergehenden Arbeiten des einen von uns ist experimentell gezeigt worden, daß sich in den Pilzen Harnstoff bilden kann, entweder auf synthetischem Wege auf Kosten des von außen eingeführten Ammoniaks oder durch Zerfall aus dem Arginin derjenigen Eiweißstoffe, auf denen sich der betreffende Pilz entwickelt hat. Die harnstoffsynthetische Tätigkeit ist nur höheren Hutpilzen eigen; es genügte, die Fruchtkörper des Bovists¹⁾ mit gasförmigem Ammoniak oder mit Ammoniumsalzlösung zu behandeln, damit dieselben während des Aufbewahrens Harnstoff in überschüssiger Menge im Vergleich zu den Kontroll Exemplaren anhäufte; weder in den getöteten Pilzen, noch im Saft dieser Pilze konnte man Harnstoffsynthesen durch von außen zugefügtes Ammoniak hervorrufen.

Ein anderes Bild erzielt man bei der Untersuchung von niederen, besonders Schimmelpilzen²⁾, und von Bakterien³⁾. Hier wird bei Kulturen auf Pepton oder auf Zerfallsprodukten von Eiweißstoffen Harnstoff nur aus dem Arginin des Nährmediums angehäuft; gibt man statt Pepton ein Gemisch von Aminosäuren ohne Arginin, so wird kein Harnstoff gebildet. In diesem und jenem Falle wird der Harnstoff angehäuft, weil das denselben spaltende Ferment, die Urease, fehlt.

In einer früheren Abhandlung⁴⁾ hat der eine von uns den Prozeß der Harnstoffbildung in Champignons mit der Bildung des Harnstoffs

¹⁾ N. N. Iwanoff, diese Zeitschr. 136, 9, 1923.

²⁾ Derselbe, ebendasselbst 157, 229, 1925; 162, 425, 1925.

³⁾ Derselbe, ebendasselbst 175, 181, 1926.

⁴⁾ Derselbe, ebendasselbst 143, 62, 1923.

in der Leber von Warmblütern verglichen. Die Leber ist ein Organ, welches bei Tieren aus Ammoniak und Kohlensäure Harnstoff erzeugt und nach den Angaben von *Wakemann* und *Dakin*¹⁾ beim Durchleiten von Harnstoff kein Ammoniak bildet. Durch Anwendung ihrer empfindlichen Methode der Harnstoffbestimmung haben *Fosse* und *Rouchelmann*²⁾ gezeigt, daß man in der zerriebenen Hundeleber keine Abnahme des Harnstoffs beobachten kann. Dieser Umstand wird durch das Fehlen der harnstoffspaltenden Funktion in der Leber erklärt. Läßt man die Champignons Harnstoff aufsaugen, so häufen diese denselben bis zu 14,9 Proz. an, zersetzen aber denselben nicht in Ammoniak und Kohlensäure; der Saft der Champignons ist ebenso nicht imstande, Harnstoff zu spalten. Indessen besitzen die Champignons, ebenso wie die Leber, das Ferment, die Arginase, welches Harnstoff von Arginin abspaltet. Die Ähnlichkeit des Fruchtkörpers des Champignons mit der Leber erregte in uns den Gedanken, zu beweisen, daß in ein und demselben Objekt, in den Champignons, der Harnstoff zweierlei Ursprungs sein kann: 1. synthetischen, aus Ammoniak und Kohlensäure. und 2. analytischen, aus Arginin. Da schon früher gezeigt worden ist³⁾, daß die Fruchtkörper von Champignons durch ihren Stiel verschiedene Substanzen aufsaugen und dieselben in den Hut richten, so war es von Interesse, das Schicksal der von denselben aufgesogenen Ammoniumsalze einerseits und des Arginins andererseits zu verfolgen.

Im Verlauf von 4 Monaten (Januar bis April) 1926 erhielten wir Fruchtkörper von Champignons (*Psalliota campestris*), welche im Treibhaus gezogen wurden. Die Champignons von verschiedenem Alter wurden vom Mycel getrennt, der Länge nach in zwei gleiche Hälften geschnitten und mit dem Stiel versetzt: Kontrollchampignon in Wasser, Versuchschampignon in eine Lösung von Ammoniumsalz oder von Arginin; nach 2, 3 und 4 Tagen wurde der Versuch beendet, und zur Analyse wurden nur die Hüte gewählt, die Stiele fortgelassen. Die Kontroll- und Versuchsportionen wurden bei 105 bis 110° C getrocknet, in Pulver verwandelt und aus demselben mittels heißen Wassers auf dem Wasserbad ein Extrakt erzielt. In dem Extrakt wurde nach *R. Fosse* der Harnstoff bestimmt.

Besonders interessant für die Untersuchung erschien uns das Ammoniumcarbonat, welches die für den Harnstoff nötigen Substanzen, Kohlensäure und Ammoniak, enthält. Die Harnstoffsynthese ist ein Oxydationsprozeß, welcher parallel mit großem Verbrauch von Kohlehydraten beim Atmen verläuft.

1) *A. Wakemann* and *H. Dakin*, Journ. of biol. Chem. **9**, 327, 1911.

2) *R. Fosse* et *N. Rouchelmann*, C. r. **172**, 771, 1921.

3) *N. N. Iwanoff*, diese Zeitschr. **150**, 115, 1924.

Alle unsere Versuche zeigten einstimmig, daß das aus der Lösung entnommene Ammoniumcarbonat in den Hut des Pilzes eindringt und daselbst in Harnstoff umgewandelt wird.

Versuch 1.

Die Hälften von zwei großen Pilzen wurden der Länge nach zerschnitten und mit den Stielen versenkt:

1. in 200 ccm Wasser; 2. in 200 ccm Wasser + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Nach 3 Tagen wurden die Huthälften getrocknet, in Pulver verwandelt und analysiert auf Harnstoff; die Stiele wurden weggelassen.

Es erwies sich in 2 g Trockensubstanz¹⁾:

Kontrollportion 123,2 mg Harnstoff
Ammoniumportion 172,4 „ „

In den Versuchsportionen erwies sich Harnstoff um 40 Proz. mehr, weil das Ammoniumcarbonat in Harnstoff übergegangen war.

Im folgenden Versuch wurde in der Kontroll- und in der Versuchsportion außer Harnstoff auch der Gesamtstickstoff bestimmt.

Versuch 2.

Zwei alte Fruchtkörper von Champignon wurden der Länge nach zerschnitten und die Hälften versenkt:

1. in 200 ccm Wasser; 2. 200 ccm Wasser + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Der Versuch dauerte 3 Tage, dann wurden die Hüte bei 110° getrocknet, zu Pulver zerrieben und auf Harnstoff und Gesamtstickstoff analysiert.

Es erwies sich in 2 g Trockensubstanz:

	Gesamt-N mg	Harnstoff mg	Harnstoff-N mg
Kontrollportion	224,6	175,2	81,8
Ammoniumportion	239,0	215,0	100,5

In der Versuchsportion war die Gesamtmenge des Stickstoffs und in fast demselben Verhältnis die Menge des Harnstoffstickstoffs gestiegen.

Versuch 3.

Zwei junge Fruchtkörper von Champignon wurden der Länge nach zerschnitten und beide Hälften versenkt:

1. in 200 ccm Wasser; 2. 200 ccm Wasser + 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Der Versuch dauerte 3 Tage, dann wurden die Hüte getrocknet, gepulvert und analysiert. Gesamtstickstoff in 1 g.

Kontrollprobe . . 102,2 mg (0,3530 g ergaben 36,09 mg N = 10,22 Proz.)
Ammoniumprobe 108,8 mg (0,3220 g ergaben 35,05 mg N = 10,88 Proz.)

¹⁾ Das Gewicht der Huthälften betrug etwas über 2 g, gerechnet wurde auf Portion von 2 g.

In 1 g erwies sich:

	Harnstoff mg	Harnstoff-N mg
In Kontrollportion . . .	52,15	24,33
„ Ammoniumportion . . .	68,82	32,11

Die Gesamtmenge des Stickstoffs ist gestiegen in der Ammoniumportion dank des eingesogenen Ammoniumcarbonats, welches in Harnstoff überging.

Wir haben eine Reihe Versuche mit Ammoniumsalzen verschiedener Säuren angestellt und haben dieselben Resultate erzielt. Hier sei einer mit Ammoniumnitrat angeführt.

Versuch 4.

Ein großer Champignon wurde der Länge nach in zwei Teile zerschnitten und mit den Stielen versenkt:

1. in 150 ccm Wasser; 2. in 150 ccm 1,5proz. NH_4NO_3 .

Nach 2 Tagen wurde der Versuch beendet, die Stiele verworfen, die Huthälften bei 70° getrocknet, gepulvert und auf Harnstoffgehalt geprüft. Die Portionen betragen etwa 2 g.

Es erwies sich in 2 g Trockensubstanz:

Kontrollportion	120,2 mg Harnstoff
Ammoniumportion	144,8 „ „

Ammoniumnitrat trägt ebenso zur Harnstoffanhäufung bei wie Ammoniumcarbonat.

Aus den beschriebenen Versuchen geht hervor, daß die Fruchtkörper von Champignons, ähnlich der Leber der Warmblüter, Harnstoff aus von außen zugefügtem Ammoniak synthetisieren können.

Weiter haben wir eine Reihe Versuche angestellt, in denen die Hälften der Fruchtkörper mit dem Stiele, die einen in Wasser, die anderen in Argininnitratlösung versenkt wurden; diese Lösung drang in den Pilzhut ein, was man nach der Reaktion auf Salpetersäure und nach der gesteigerten Stickstoffmenge in demselben ebenso wie nach dem Steigen des Harnstoffs in der Versuchsportion beurteilen konnte.

Versuch 5.

Zwei junge Fruchtkörper von Champignon wurden der Länge nach zerschnitten und die Hälften mit Stielen versenkt:

1. in 100 ccm Wasser; 2. in 100 ccm Wasser + 0,5 g Argininnitrat.

Nach 3 Tagen wurden die Hüte getrocknet, gepulvert und auf Harnstoff analysiert.

Es erwies sich in 2 g Trockensubstanz:

Kontrollportion	112,6 mg Harnstoff
Argininportion	122,0 „ „

Das Arginin drang in den Pilzhut ein und wurde dort unter Ausscheidung von Harnstoff gespalten.

Im folgenden Versuch wurde in dem wässerigen Extrakt aus den Pilzhälften außer Harnstoff noch der Gesamtstickstoff bestimmt.

Versuch 6.

Der Champignon wurde der Länge nach in zwei Hälften geteilt, die mit den Stielen auf 4 Tage versenkt wurden:

1. in 100 ccm Wasser; 2. in 100 ccm wässrigem 1proz. Argininnitrat. Die Hüte der Hälften wurden getrocknet bei 70°, gepulvert und mit Wasser auf siedendem Wasserbad extrahiert; im Extrakt wurden Harnstoff und Gesamtstickstoff bestimmt.

Es erwies sich in 1 g Trockensubstanz.

	Harnstoff mg	Gesamt-N im Extrakt mg
1. Kontrollportion	46,7	47,1
2. Arginin	57,5	65,4

Die Gesamtstickstoffmenge ist in der Versuchsportion gestiegen: von dem eingedrungenen Arginin ist Harnstoff abgespalten worden. Folglich wird das Arginin im Fruchtkörper des Champignons durch die Arginase ebenso wie in der Leber der Warmblüter gespalten.

Die beschriebenen Versuche zeigen, daß im lebendigen Gewebe des Fruchtkörpers ebensolche fermentative Spaltungsprozesse, wie in dem getöteten, stattfinden. Wie bekannt, ist die Arginase, welche das Arginin in Ornithin und Harnstoff spaltet, von *Kossel* und *Dakin*¹⁾ in der Leber entdeckt, von *Shiga*²⁾ in der Hefe konstatiert worden, und *A. Kiesel*³⁾ hat gezeigt, daß dieses Ferment im Pflanzenreich sehr verbreitet ist; speziell hat letzterer gefunden, daß Champignons, unter Bedingung der Autolyse mit Toluol, das von außen zugefügte Arginin spalten und daß man im Medium durch qualitative Reaktion Harnstoff feststellen kann.

Kann im lebenden Gewebe des Fruchtkörpers des Champignons wie synthetische, so auch analytische Harnstoffbildung stattfinden, so können wir erwarten, daß in dem aus Champignons ausgepreßten Saft nur der letztere Prozeß stattfinden wird, weil die Harnstoffsynthese in Pilzen, nach früheren Angaben⁴⁾, nur im lebenden Gewebe verlaufen kann. Von den Angaben *Kielsels*, daß im Champignon Arginase

1) *Kossel* und *Dakin*, Zeitschr. f. phys. Chem. 41, 321; 42, 181, 1904.

2) *Shiga*, ebendasselbst 42, 505, 1904.

3) *A. Kiesel*, ebendasselbst 75, 169, 1911. Das Arginin und dessen Verwandlung in Pflanzen, Moskau 1916 (russisch).

4) *N. N. Iwanoff*, diese Zeitschr. 143, 62, 1923.

vorhanden und die Urease schwach entwickelt ist, ausgehend, haben wir folgenden Versuch angestellt.

Versuch 7.

Aus zehn Fruchtkörpern von Champignons, die in der Schale zerrieben, wurde der Saft ausgepreßt und Portionen zu 10 cem mit Toluol gewählt.

Nach 2 Tagen bei 35° C:

	Harnstoff mg
1. 10 cem Saft Kontrolle	29,2
2. 10 " " + 0,1 g (NH ₄) ₂ CO ₃	29,7
3. 10 " " + 0,1 g Arginin	36,9

Im Pilzsaft wird kein Harnstoff gebildet, wenn man Ammoniumcarbonat zufügt, so daß keine synthetische Harnstoffbildung stattfindet; aber durch die Anwesenheit von Arginase im Saft wird aus Arginin Harnstoff abgespalten, was aus der dritten Portion, zu der 0,1 g Arginnitrat zugefügt worden war, zu ersehen ist.

Das Ausbleiben der Harnstoffsynthese im Champignonsaft aus Ammoniumcarbonat erklärt sich dadurch, daß unter diesen Bedingungen der normale, für die Harnstoffsynthese notwendige Oxydationsprozeß gestört wird.

Die Harnstoffbildung bei Pilzen ermöglicht uns, ein verallgemeinerndes Bild von der Stickstoffumwandlung in Pflanzen- und Tierzellen darzustellen. Niedere Pilze (Schimmel) und niedere Tiere verbinden das von ihnen ausgearbeitete Ammoniak mit Säuren und machen es auf diese Weise unschädlich. Anders verhält sich die Sache mit Ammoniak bei höheren Tieren und bei höheren Pilzen (Boviste, Champignons); hier wird aus Ammoniak und Kohlensäure synthetisch Harnstoff gebildet, welcher bei Tieren als Abfallsprodukt erscheint, bei den Pilzen aber ebenso als Abfallsprodukt in Abwesenheit von Kohlenhydraten, und als Nährstoffe in Gegenwart von Kohlenstoffsubstanzen, analog dem Asparagin und Glutamin grüner Pflanzen.

Pflanzen und Tiere haben sich unter morphologischen und physiologischen Komplikationen während des Evolutionsganges auf selbständigen Wegen und unabhängig voneinander entwickelt, aber oft beobachtet man in ihren physiologischen Anpassungen einen Parallelismus. Die Leber der Warmblüter und der Fruchtkörper des Champignons synthetisieren in gleicher Weise Harnstoff. Dieser Fall ist nicht der einzige. Es ist bekannt, daß insektenfressende Pflanzen (Nepenthes) einen Saft ausscheiden, welcher ein Ferment enthält, das analog dem Pepsin höherer Tiere ist. Dieses Ferment der insektenfressenden Pflanzen, das nur eine primäre Spaltung des Eiweißstoffs

hervorrufen, erscheint als eine hochentwickelte physiologische Anpassung, die bei niederen Tieren fehlt. Somit erlaubt uns die Untersuchung der Harnstoffbildung bei Pflanzen, die Zellen der Pflanzen und Tiere physiologisch miteinander noch mehr zu nähern.

Schlußfolgerungen.

1. Die Fruchtkörper der Champignons, vom Mycel getrennt, saugen unter den Versuchsbedingungen aus der Lösung Ammoniumcarbonat auf, lenken dasselbe in den Hut und synthetisieren daselbst Harnstoff aus demselben.

2. Außer synthetischer Harnstoffbildung in Champignons kann auch die Bildung von Harnstoff aus von außen eingeführtem Arginin beobachtet werden.

3. Im letzten Falle kann Harnstoff auch im Champignonsaft, dem Arginin zugefügt ist, konstatiert werden, aber bei Zugabe von Ammoniumcarbonat zum Champignonsaft wird keine Harnstoffanhäufung erzielt, weil die synthetische Harnstoffbildung einen Oxydationsprozeß darstellt, welcher nur in lebenden Zellen des Pilzes vor sich geht.

Über Harnstoff bei Bakterien. II.

Von

Nicolai N. Iwanoff und M. I. Smirnowa.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Agronomie zu Petersburg-Leningrad.)

(Eingegangen am 20. November 1926.)

Vor einiger Zeit hatte der eine¹⁾ von uns eine vorläufige Mitteilung über das Vorkommen von Harnstoff bei eiweißzersetzenden Bakterien veröffentlicht. Die Kulturen von *Bac. megatherium* und *Bac. tumescens* auf Pepton mit Gelatine bildeten merkliche Harnstoffmengen, die in einzelnen Fällen bis 7,88 mg auf 10 cem Nahrungssubstanz betragen. Harnstoff wurde nicht gebildet, wenn die Bakterien sich auf Aminosäuren entwickelt hatten, aber derselbe erschien in dem Falle, wo zum Kulturmedium Argininsalz hinzugefügt wurde. Diese Tatsachen führten zu dem Schluß, daß wir es in diesem Falle mit einer Harnstoffbildung aus Arginin zu tun haben. Zur Erweiterung und Vertiefung dieses Problems haben wir eine Reihe Versuche angestellt, wobei wir zur Harnstoffbestimmung die Methode von *R. Fosse* benutzten. Es erwies sich, daß in betreff der Harnstoffbildung auf ein und demselben Nährsubstrat verschiedene Bakterien sich verschieden verhalten: Die einen häufen Harnstoff verhältnismäßig leicht an, die anderen mit Schwierigkeit, und endlich die dritten unter jeglichen Bedingungen überhaupt keinen Harnstoff. Diese Verschiedenheit hängt natürlich von dem Umstand ab, daß zur Bildung von Harnstoff aus dem Arginin des Eiweißstoffs eine sukzessive Tätigkeit einer Reihe von Fermenten nötig ist; andererseits läßt sich das Nichtvorkommen von Harnstoff bei einigen Arten dadurch erklären, daß derselbe unter dem Einfluß der Urease weiter in Ammoniak und Kohlensäure gespalten wird. In einer vorhergehenden Arbeit²⁾ war gezeigt worden, daß man bei einer Kultur von Pilzen auf Gelatine und Pepton, ohne Zugabe von Kohlehydraten, dieselben ohne Urease kultivieren und dabei Harnstoff anzuheufen zwingen kann.

¹⁾ N. N. Iwanoff, diese Zeitschr. 175, 181, 1926.

²⁾ Derselbe, ebendasselbst 157, 229, 1925.

Es gelang zu zeigen, z. B. an Schimmelpilzen, daß die Zugabe von Kohlehydraten, Glycerin und anderen Substanzen zu solchen ureasefreien Kulturen die Urease zur Tätigkeit anregte und das Verschwinden des Harnstoffs begünstigte.

Weiter folgend, werden Versuche über den Einfluß von kohlenstoffhaltigen Substanzen bei Bakterien auf folgendem Nährsubstrat beschrieben:

Pepton	1,0 g
Liebigs Extrakt	0,5 g
Gelatine	10,0 g
Kochsalz	0,5 g
Leitungswasser bis	100 ccm

Dieses Nährmedium wurde stets in Reagenzröhrchen auf 10 ccm gebracht, mit Kulturen besät und bei 30° C stehengelassen.

Versuche mit harnstoffbildenden Bakterien.

10 ccm Nährmedium; zum zweiten wurden 0,5 g Glucose und zum dritten 0,2 g Mannit hinzugefügt. Temperatur 30° C.

Bac. megatherium.

	Wachstumsdauer in Tagen	Harnstoffmenge in mg
1. Ohne Zugabe von Glucose	12	3,1
	55	15,5
2. Mit 0,5 g Glucose	12	0
	55	0
3. Mit 0,2 g Mannit	12	0

In Gegenwart von Glucose und Mannit hat sich gar kein Harnstoff gebildet; nach der Analogie mit Schimmelpilzen zu urteilen, begünstigen diese Substanzen höchstwahrscheinlich die Bildung der Urease.

In einer anderen Reihe von Versuchen entwickelten sich die Bakterien auf Pepton mit Gelatine; in der Kultur wurde die Anwesenheit von Harnstoff konstatiert; darnach wurden unter sterilen Bedingungen 0,2 g Glucose mit 2 ccm destilliertem Wasser hinzugefügt.

B. megatherium.

1. Nach 12 Tagen 3,1 mg Harnstoff
2. Ebenso, aber nach 12 Tagen waren 0,5 g Glucose hinzugefügt und dann nach 33 Tagen 0 „ „
3. Nach 21 Tagen 4,4 „ „
4. Ebenso, aber nach 21 Tagen zugegeben 0,5 g Glucose und nach 10 Tagen Spuren „

Somit wird durch Zugabe von Glucose zur Kultur die Spaltung des Harnstoffs unter dem Einfluß der unter diesen Bedingungen sich bildenden Urease begünstigt. In den Fällen, wo die Glucose zu älteren Kulturen, z. B. 36- bis 42tägigen, hinzugefügt wurde, beobachteten

wir, daß, selbst nach andauerndem Aufbewahren, der vorhandene Harnstoff nicht gänzlich zersetzt wurde, es blieben z. B. 1,8 mg zurück.

Diese Beobachtung erklären wir durch den Umstand, daß die Glucose, die zu einer alten Kultur hinzugefügt wird, keine neue Entwicklung von ureasehaltigen Bakterien hervorrufen kann.

Indem wir Harnstoff in großen Mengen von Kulturen *B. megatherium* bestimmten, konnten wir konstatieren, daß mit dem Steigen der Aufbewahrungszeit der Kultur die Harnstoffmenge stieg, aber in einzelnen Fällen, bei verhältnismäßig langem Aufbewahren derselben, beobachteten wir eine Stockung und sogar eine gewisse Verminderung der Harnstoffmenge, was man der Einwirkung des Mediums zuschreiben konnte, da dasselbe alkalische Eigenschaften besaß.

So wurde in Kulturen mit *B. megatherium*, unter sonst gleichen Bedingungen, erzielt:

Kulturdauer Tage	Harnstoff mg
55	15,50
69	13,10
75	11,09

B. tumescens.

Auf demselben Nährsubstrat in 10 ccm wurde *B. tumescens* gesät und bei 30° C verschiedene Zeit stehengelassen.

Kulturdauer Tage	Harnstoff mg
12	4,04
25	10,00
32	12,40
69	12,80

Es wurden also ebensolche Anhäufungen wie bei *B. megatherium* erzielt.

Ähnliche Resultate wurden auch durch Zugabe von Glucose zum Nährsubstrat erhalten; so z. B. bei Zugabe von 0,1 g Glucose am Anfang des Versuchs erwies sich nach 55 Tagen keine Spur von Harnstoff, während ohne Zugabe von Glucose 12,4 mg desselben zugegen waren.

Proteus Sophii.

Auf demselben Substrat.

Kulturdauer Tage	Harnstoff mg
14	9,8
69	10,9

Falls Mannit oder Glycerin hinzugegeben wurde, so war Harnstoff nur spurenweise vorhanden.

B. mesentericus.

Dasselbe Nährsubstrat.

Nach 69 Tagen ergab die Kultur 13,2 mg Harnstoff.

B. subtilis.

Dasselbe Nährsubstrat.

Nach 69 Tagen ergab die Kultur 3,0 mg Harnstoff.

B. mycoides.

Dasselbe Nährsubstrat.

Nach 69 Tagen ergab die Kultur 6,4 mg Harnstoff.

Neben diesen Bakterien, die uns beständig Harnstoff lieferten, wenn sie auf Gelatine und Pepton gewachsen waren, trafen wir auch solche Bakterien, welche auf demselben Nährsubstrat, selbst bei andauernder Kultur, keinen Harnstoff gaben. Zu solchen Bakterien gehören nach unseren Versuchen *B. fluorescens*, *B. coli commune*, *Proteus vulgaris* und das von Herrn Prof. *Omeljanskij* entdeckte und uns zur Verfügung gestellte *B. esteroaromaticus Omel.*; die eben genannten ergaben bei einer Kultur von 42 bis 69 Tagen gar keine Spuren von Harnstoff, dafür aber fanden wir in den Zerfallsprodukten derselben stets Ammoniak. Es ist klar, daß die Anhäufung oder das Fehlen des Harnstoffs mit der Abwesenheit oder Anwesenheit der Urease verbunden sein muß. Um diese Frage zu lösen, fügten wir zu den wachsenden Kulturen von Bakterien unter sterilen Bedingungen bestimmte Mengen Harnstoff hinzu und beobachteten das weitere Schicksal desselben.

Versuche über die Aufklärung des Verhältnisses zwischen dem Harnstoff und der Urease.

Auf gewöhnlichem Nährsubstrat — 10 ccm Gelatine + Pepton — wurde die Kultur *B. megatherium* entwickelt.

Nach 28 Tagen wurden zwei parallele Kulturen gewählt: in der ersten wurden 4,4 mg Harnstoff konstatiert, zur zweiten wurde unter sterilen Bedingungen 2 ccm Wasser mit 7,3 mg Harnstoff hinzugefügt und noch 7 Tage stehengelassen; nach Verlauf dieses Zeitraums wurde ebenso Harnstoff bestimmt, dessen Menge sich zu 11,4 mg erwies.

Somit waren in der zweiten Kultur 4,4 mg Harnstoff enthalten und 7,3 mg hinzugegeben. Falls die Urease völlig fehlte, so müßten nach der Berechnung 11,7 mg (7,3 + 4,4) Harnstoff vorhanden sein; in der Tat erwiesen sich auch 11,4 mg, d. h. fast dasselbe Quantum, das laut Berechnung zu erwarten war.

In einem anderen Falle, in einer Kultur von *B. megatherium*, waren 2,3 mg Harnstoff vorgefunden worden und es wurden 2 ccm Wasser mit

7,3 mg Harnstoff hinzugefügt und noch 18 Tage stehengelassen: es erwiesen sich 9,4 mg Harnstoff, d. h. eine Menge, die fast die anfängliche von (2,3 + 7,3) 9,6 mg betrug.

Hieraus folgt, daß bei *B. megatherium* die Anhäufung von Harnstoff als Folge der Abwesenheit des Ferments Urease erscheint, weil selbst der von außen zugefügte Harnstoff keiner Zersetzung unterworfen wird.

Eine ähnliche Erscheinung beobachteten wir bei allen Bakterien, welche Harnstoff anhäuften.

B. tumescens.

In 28 tägiger Kultur waren 10,0 mg Harnstoff enthalten, zugefügt wurden 8,7 mg Harnstoff und 7 Tage stehengelassen bei 30° C; es erwiesen sich im Resultat 19,5 mg, eine etwas größere Menge, als die ursprüngliche, 18,7 mg.

Proteus Sophii.

In der Kultur waren 2,59 mg Harnstoff enthalten, zugefügt wurden 7,3 mg Harnstoff. Nach 10 Tagen erwiesen sich 9,10 mg statt der ursprünglichen 9,89 mg.

B. subtilis.

In der Kultur waren 1,25 mg Harnstoff enthalten, zugefügt wurden 7,3 mg Harnstoff. Nach 18 Tagen erwiesen sich 7,09 mg statt 8,55 mg.

In allen Bakterienkulturen, bei denen eine Harnstoffanhäufung vorgefunden wurde, fehlte die Urease. Nach unseren Versuchen fehlte nicht in allen Fällen, wo wir Harnstoffanhäufung beobachteten, die Urease vollständig; manchmal, wie z. B. bei *B. subtilis*, wurde der von außen zugefügte Harnstoff einer gewissen Spaltung unterworfen; so fanden wir 7,09 mg statt 8,55 mg. Dafür aber in anderen Fällen, wie z. B. bei *B. megatherium* und *B. tumescens*, fehlte die Urease vollständig. Somit zeigt sich in den schon beschriebenen Beispielen ein Übergang von Bakterien ganz ohne Urease zu solchen, die dieselbe in kleinen Mengen enthalten.

Viel klarere Resultate erzielten wir mit Bakterien, welche keinen Harnstoff anhäufen.

Versuche mit Bakterien, welche keinen Harnstoff anhäufen.

Bei *Proteus vulgaris* wurde in keinem der von uns untersuchten Fälle Harnstoff konstatiert. *Proteus vulgaris* entwickelte sich auf gewöhnlichem Substrat — Gelatine + Pepton — während 28 Tagen bei 30° C. Im Resultat wurde ein gutes Häutchen auf der Oberfläche erhalten. Es wurde die Harnstoffmenge bestimmt und in der parallelen Portion Ammoniak abdestilliert.

Versuchsbedingungen	Harnstoff mg	NH ₃ -N mg
1. 28 Tage	0	12,3
2. 28 Tage darnach 8,7 mg Harnstoff zugeführt und noch 8 Tage stehengelassen	0	16,9

Es erwies sich, daß der zugefügte Harnstoff sich vollständig zersetzt hatte und in Ammoniak, dessen Menge gestiegen, übergegangen war; folglich erklärt sich die Abwesenheit von Harnstoff durch Anwesenheit von Urease.

Unerwartete Resultate erhielten wir bei *B. coli commune* und *B. fluorescens*. Auf gewöhnlichem Nährsubstrat — Pepton + Gelatine — war es uns nicht gelungen, bei diesen Bakterien Harnstoff zu entdecken, aber, wie aus weiterem zu ersehen ist, war überhaupt auch keine Urease vorhanden.

B. coli commune entwickelte sich auf gewöhnlichem Substrat während 8 Tagen, Harnstoff war nicht vorhanden, während zur parallelen Portion 7,3 mg Harnstoff hinzugefügt und noch 8 Tage stehengelassen wurde bei 30° C. Zugefügt wurden 7,3 mg Harnstoff, nach 8 Tagen erwiesen sich 7,5 mg Harnstoff.

In einem anderen Falle wurden zu einer 32tägigen Kultur von *B. coli commune* ebenso hinzugefügt 7,3 mg Harnstoff, nach 11 Tagen erwiesen sich 7,6 mg Harnstoff.

Folglich fehlte die Urease, was man auch daraus ersehen konnte, daß sich Ammoniak in sehr minimalen Mengen aus den Kulturen von *B. coli commune* abdestillieren ließ; in einzelnen Fällen wurden 1,28–1,84–2,17 mg Ammoniakstickstoff erhalten.

B. fluorescens.

1. In 25tägiger Kultur war 0 mg Harnstoff enthalten, hinzugefügt 7,3 mg Harnstoff, es erwiesen sich nach 6 Tagen 7,2 mg Harnstoff.

2. In 42tägiger Kultur war 0 mg Harnstoff enthalten, zugefügt 7,3 mg Harnstoff, es erwiesen sich nach 15 Tagen 7,1 mg Harnstoff.

Somit enthielt *B. fluorescens*, wie auch *B. coli commune*, keine Urease, und zugleich bildeten sie aus Gelatine und Pepton keinen Harnstoff. Um diese Erscheinung zu erklären, blieb nichts übrig, als anzunehmen, daß der Eiweißstoffzerfall bei diesen zwei von uns untersuchten Bakterien nicht so tief verläuft, wie in anderen Fällen, und daß Harnstoff nicht deswegen nicht angehäuft wird, weil derselbe zerfällt, sondern weil sich der Eiweißstoffzerfall nicht bis zur Harnstoffbildung erstreckt. Letzteres konnte geschehen, entweder weil die Eiweißstoffspaltung nicht bis Arginin verlief, oder weil kein Ferment Arginase vorhanden war, welches von Arginin Harnstoff abspalten würde.

Zur Entscheidung dieser Frage entschlossen wir uns, als Nährmaterial nicht Eiweißstoff, sondern dessen freies Arginin enthaltendes Zerfallsprodukt zu wählen.

45 g käufliches Edestin wurden mit 30proz. Schwefelsäure durch Erhitzen zersetzt. Nach Beendigung der Hydrolyse wurde das Medium von Säure durch Baryt befreit und der Überfluß des letzteren durch einen Kohlensäurestrom entfernt; das abfiltrierte Hydrolysat wurde bis auf 250 ccm eingedampft und in Reagenzröhrchen zu 10 ccm verteilt.

Alle oben erwähnten Bakterien wurden auf das Hydrolysat gesät und auf Harnstoffanhäufung ausprobiert.

Nach 12 Tagen gaben *Proteus vulgaris* und *B. esteroaromaticus Omel.* keine Spuren von Harnstoff, sondern eine große Menge Ammoniakstickstoff (12,93 und 5,83 mg); dieses steht in völligem Einklang mit dem, was auch auf Pepton und Gelatine beobachtet wurde, aber *B. coli commune* und *B. fluorescens* gaben bei andauernden Kulturen merkliche Mengen Harnstoff.

	Kulturdauer Tage	Harnstoff mg
<i>B. coli commune</i>	70	4,2
<i>B. fluorescens</i>	87	9,8

Indessen haben diese beiden letzteren Bakterien nie Harnstoff auf Pepton und Gelatine gebildet.

Diese Tatsache, im Zusammenhang mit dem Fehlen bei denselben von Urease, läßt annehmen, daß auf Eiweißsubstrat kein Harnstoff gebildet wird, weil der Eiweißstoffzerfall zu keinem Harnstoff führt, aber nicht, weil derselbe bis zu Ammoniak gespalten worden ist.

Der Eiweißstoffzerfall unter dem Einfluß von verschiedenen Bakterien verläuft weit ungleichartiger: in einigen Fällen besitzen die Mikroben die Summe der Fermente, welche die Spaltung des Eiweißstoffmoleküls über Aminosäuren bis zu Ammoniak führen; in diesen Fällen ist zugleich mit dem desaminierenden Ferment auch die Urease zugegen, wie dies der Fall bei *Proteus vulgaris* und *B. esteroaromaticus Omel.* ist, bei denen wir niemals die Gegenwart von Harnstoff beobachtet haben.

In anderen Fällen verläuft der Eiweißstoffzerfall ebenso weit, aber unter den Bedingungen einer kohlehydratlosen Entwicklung bilden die Mikroben kein Ferment Urease, und der sich anhäufende Harnstoff wird nicht weiter als bis zu Ammoniak und Kohlensäure gespalten.

Und endlich die dritte Gruppe der Bakterien ruft einen weniger tiefen Zerfall des Eiweißstoffes hervor, wie dies der Fall bei *B. fluores-*

*cens*¹⁾ und wahrscheinlich auch bei *B. coli commune* ist, wo die Eiweißstoffspaltung nicht bis zum Stadium der Harnstoffbildung aus Arginin verläuft, aus welchem Grunde es nicht gelingt, Harnstoff zu konstatieren, wenn wir als Nährmaterial Eiweißstoff vor uns haben. Nimmt man aber zur Kultur dieser Bakterien argininenthaltende Produkte der Hydrolyse, so wird aus denselben Harnstoff abgespalten, welcher keiner weiteren Verwandlung unterworfen wird, da die Urease bei diesen Bakterien fehlt²⁾).

Wir wählten zu unseren Versuchen einige Bakterien und erzielten bei der Untersuchung derselben auf Harnstoff bedeutende Unterschiede, welche uns erlaubten, die Bakterien in drei Gruppen zu teilen. Aber wir sind der Meinung, daß bei weiterer Untersuchung der eiweißstoffzersetzenden Bakterien eine noch größere Mannigfaltigkeit in dieser Hinsicht zu erwarten sei.

Die Harnstoffprobe kann, bei einem kritischen Anschlag zu derselben, nur einen Hinweis auf eine größere oder kleinere Tiefe der Eiweißstoffspaltung des Nährsubstrats liefern. Das Auffinden von Harnstoff wird zeigen, daß der Zerfall des Eiweißstoffs durch das Stadium des Arginins gegangen ist, d. h. tief, aber die Abwesenheit von Harnstoff kann nach unseren Angaben auf zweierlei Weise gedeutet werden: entweder haben wir es mit einer noch tieferen Spaltung zu tun, wo der gebildete Harnstoff schon das Stadium von Ammoniak erreicht hat, oder die Eiweißstoffspaltung ist keine tiefe, d. h. dieselbe hat die Abspaltung des Harnstoffs vom Arginin nicht erreicht.

Die Probe auf Harnstoff muß infolge der Einfachheit und Sicherheit der schönen Methode von *R. Fosse* eine weite Verbreitung in der Bakteriologie erhalten.

Wie schon in der vorigen Abhandlung³⁾ gezeigt worden ist, wird Harnstoff bei Bakterien nur auf analytischem Wege, d. h. durch Abspaltung desselben aus Arginin gebildet. Die auf einer Lösung von Aminosäuren kultivierten Bakterien bildeten keinen Harnstoff; letzterer erschien stets nach Zugabe von Arginin zum Medium. Folglich ist der Bakterienharnstoff analog demjenigen der Schimmelpilze, welche denselben ebenso aus Arginin des Substrats bilden; derselbe kann nicht mit dem Harnstoff höherer Pilze, wie Champignons und Boviste, verglichen werden, da derselbe synthetisch aus Ammoniak und Kohlensäure gebildet wird. Die im Kulturmedium sich bildende Harnstoff-

¹⁾ Siehe *W. L. Omeljanskij*, Grundrisse der Mikrobiologie 1926, S. 185 (russisch).

²⁾ Vielleicht wäre es vorsichtiger, hier nicht von einem vollständigen Fehlen der Urease zu reden, sondern von einer sehr schwachen Wirkung derselben.

³⁾ *N. N. Iwanoff*, diese Zeitschr. 175, 181, 1926.

menge steht natürlich in einem Verhältnis zu der Argininmenge im Nährsubstrat.

Bei der Entwicklung verschiedener Bakterien erzielten wir sehr nahe Mengen von Harnstoff, welche nicht die Grenze von 12,8–13,1–15,5 mg auf 10 ccm gewöhnliches Nährgemisch von Gelatine und Pepton überstiegen; diese Zahlen, die von uns bei sehr andauernden Kulturen erhalten wurden, sprechen für den Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung des Nährmediums und der Menge des sich bildenden Harnstoffs.

Kann man annehmen, daß der Harnstoff in Bakterien ebenso auf synthetischem Wege gebildet wird? Bisher haben wir keine Andeutungen in dieser Hinsicht. Die Annahme von *Winogradsky*, daß bei der Fixierung des Stickstoffs durch Bakterien Harnstoff erzeugt werden kann, wird durch neuere Untersuchungen nicht bestätigt, da dieselben beweisen, daß hier als erstes Produkt Ammoniak¹⁾ erscheint.

Weitere Versuche werden zweifellos zeigen, daß der Harnstoff als eine gewöhnliche und verbreitete Substanz unter den Eiweißstoffumwandlungsprodukten vieler Bakterien erscheint.

Schlußfolgerungen.

1. Die Bakterien *B. megatherium*, *B. tumescens*, *Proteus Sophii*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *B. mycoides* bilden Harnstoff in Mengen von 12,8 bis 15,5 mg auf 10 ccm Nährsubstrat aus 10 Proz. Gelatine und Pepton.

2. *B. fluorescens*, *B. coli commune* bilden Harnstoff nur in dem Falle, wenn sie sich auf argininenthaltenden Produkten der Eiweißstoffhydrolyse entwickelt haben, während *Proteus vulgaris* und das von Prof. *Omeljanskij* entdeckte *B. esteroaromaticus Omel.* nie Harnstoff bilden.

3. Harnstoff wurde nur in Kulturen erhalten, welche sich ohne Zugabe von Kohlehydraten und Mannit entwickeln; die Zufügung dieser Substanzen begünstigte das Verschwinden des Harnstoffs aus dem Nährsubstrat.

4. Die Harnstoffanhäufung geschieht wegen des Fehlens der Urease in Bakterien; sobald letztere erscheint, verschwindet der Harnstoff.

¹⁾ *S. Kostytschew*, *A. Ryskaltchuk* und *O. Schwezowa*, Zeitschr. phys. Chem. 154, 1, 1926.

Beobachtungen über die Aufnahme von Farbstoffen durch die roten Blutkörperchen.

Von
P. J. Jurišić.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie (pathol. Physiologie) und Pharmakologie der Universität in Zagreb.]

(Eingegangen am 20. November 1926.)

Seitdem *Nirenstein*¹⁾ in seiner Arbeit über die Vitalfärbung gezeigt hatte, „daß sich der lebende Zellkörper Farbstoffen gegenüber so verhält, als ob er ein flüssiges Neutralfett wäre, das einen gewissen Betrag fettlöslicher Säure und fettlöslicher Base gelöst enthält“ (l. c., S. 301), haben nun auch die Fragen bezüglich des physiko-chemischen Verhaltens der Farbstoffe im Innern der vital gefärbten Zellen an Interesse gewonnen. Denn es fragt sich eben, welchen Gesetzmäßigkeiten die Vitalfarbstoffe in bezug auf ihren Dispersitätsgrad und ihre chemische Natur im Innern der vital gefärbten Zellen folgen. Die nächstliegenden Erklärungsmöglichkeiten, die hier in Anwendung gebracht werden könnten, berühren hauptsächlich die Fragen, ob die Aufnahme von Vitalfarbstoffen durch die lebende Zelle den Gesetzen der Verteilung — im physiko-chemischen Sinne — zwischen zwei Phasen gehorcht oder ob die Farbstoffe im Zellinnern adsorbiert werden bzw. ob der Vitalfärbung eine chemische Bindung zugrunde liegt. Diese Erklärungsmöglichkeiten liegen wohl in jenen Fällen am nächsten, wo es sich um eine Diffusfärbung handelt. Um die aufgeworfenen Fragen am lebenden Objekt experimentell zu prüfen, war es notwendig, solche Objekte zu verwenden, die in physiologischer Beziehung ein möglichst gleichmäßiges Verhalten erwarten lassen, und die außerdem reichlich vorhanden sind, damit man sie als eine homogene Phase auf-

¹⁾ *E. Nirenstein*, Pflügers Arch. 179.

fassen kann. Aus diesem Grunde nahm ich für meine Versuche die roten Blutkörperchen bzw. die Blutkörperchenstromata, die aus defibriniertem Rinderblut gewonnen wurden. Die roten Blutkörperchen haben auch den Vorteil für sich, daß sie mit großer Wahrscheinlichkeit eine homogene, d. i. diffuse Verteilung des in ihnen aufgenommenen Farbstoffs annehmen lassen.

Experimenteller Teil.

Methodik.

Die Blutkörperchen wurden vier- bis fünfmal in isotonischer NaCl-Lösung (0,9proz.) gewaschen. Bestimmte Volummengen (m) von Blutkörperchenbrei wurden dann in Zentrifugenröhrchen mit einer bestimmten Anzahl Kubikzentimeter (n) Farbstofflösung versetzt. In den meisten Versuchen kamen auf 2 ccm Blutkörperchenbrei 10 ccm Farbstofflösung. Farbstofflösungen, denen isotonische NaCl- bzw. Rohrzuckermengen zugesetzt waren, wurden zwecks Erhaltung der Reaktion und Hintanhaltung von Agglutination mit Phosphatpuffer von p_H 7,12 im Verhältnis 9:1 versetzt. Außerdem wurde vor dem Waschen der Blutkörperchen, aus in der Arbeit von *Tanaka*¹⁾ angeführten Gründen, $\frac{1}{2}$ Stunde lang Sauerstoff durch das defibrinierte Blut geleitet. Bloß in jenen Fällen, wo der Farbstoff durch den Phosphatpuffer aus der Lösung gefällt wird, wie z. B. bei Neutralrot (*Kahlbaum*) und Toluidinblau (*G*) wurden die Rohrzuckerproben zwecks Vermeidung der Agglutination mit NaCl-Lösung im Verhältnis 9:1 versetzt. Die Farbstoffaufnahme wurde auch zeitlich verfolgt, indem ein Teil der Proben, die alle kräftig durchgeschüttelt wurden, sofort scharf abzentrifugiert wurde. Die erste Prozedur dauerte ungefähr 2 Minuten. Da, wie *Schulemann*²⁾ gezeigt hat, die Farbstofflösungen zeitlich ihren Dispersitätsgrad ändern, wurden bei den Versuchen bloß frisch hergestellte Lösungen verwendet. Es wurden folgende basische Farbstoffe untersucht: Rhodamin 3 B (*B*), Toluidinblau (*Kahlbaum*) und Toluidinblau (*G*), Neutralrot extra (*Kahlbaum*), Magdalarot (*G*), Brillantkresylblau (*G*) und Methylenblau rectif. nach *Ehrlich* (*G*). Von Säurefarbstoffen verwendete ich: Tuchscharlach G (*K*), Echtrot A (*B*), Tuchrot 3 G A (*B*), Metanilgelb (*A*), Tropäolin 0001 (*Merck*), Orange R (*G*), Eosin w. gelbl. (*G*), Nigrosin w. (*G*), Erioglaucin (*G*), Kongorot (*G*), Orange I (*I*), Diaminreinblau, Cyanol (*C*) und Trypanrot (*G*). Die Buchstaben in den Klammern bedeuten die Bezugsquellen nach *Nirenstein*³⁾. Die Farbstoffaufnahme wurde kolorimetrisch mit dem Kolorimeter von *Dubosq* bestimmt. Die zugesetzte Farbstofflösung wird natürlich durch die zwischen den Blutkörperchen vorhandene Waschflüssigkeit etwas verdünnt, jedoch ist dieser Fehler wohl zu vernachlässigen.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß man bei lebenden roten Blutkörperchen, wenn man sie längere Zeit auch in konzentrierteren Lösungen von Farbstoffen, die lipoidlöslich sind und demzufolge von Blut-

¹⁾ *K. Tanaka*, Pflügers Arch. **203**, 449, 1924.

²⁾ *W. Schulemann*, diese Zeitschr. **80**, 1, 1917.

³⁾ *E. Nirenstein*, l. c., S. 251, 252.

körperchen auch aufgenommen werden, hält, bei nachträglicher mikroskopischer Untersuchung von einer Anfärbung gar nichts merken kann. Ich untersuchte in dieser Hinsicht folgende Farbstoffe in isotonischen NaCl- bzw. Rohrzuckerlösungen: Toluidinblau (*Kahlbaum*), Methylviolett B. extra (*Kahlbaum*), Tuchscharlach G, Echtrot A, Orange I (*J*), Methylenblau, Brillantkresylblau und Metanilgelb, Nigrosin W und Eosin w gelb. Mikroskopische Untersuchung wurde nach 17 Stunden mit Hom. Imm. Obj. 18a ++, 1/12¹; Comp. Ocl. 8. Ap. 1,30 (*Reichert*) vorgenommen. Bei keinem der angeführten Farbstoffe war von einer Anfärbung etwas zu merken. Bloß bei Metanilgelb¹⁾ bemerkte ich an vielen Erythrocyten eine deutliche, *diffuse*, gelbe Anfärbung, was vielleicht mit der giftigen Wirkung dieses Farbstoffs in Verbindung steht. Es war zu entscheiden, ob es sich nun um eine Reduktion der eingedrungenen Farbstoffe oder um die Tatsache handelt, daß der Farbstoff durch Hämoglobin, das in den Blutkörperchen in starker Konzentration vorhanden ist, verdeckt wird. Zu dem Zwecke wurde die hemmende Wirkung der Narkotica auf die Reduktionskraft des frischen Serums geprüft. Das Ergebnis ist aus dem Versuch 1 ersichtlich.

Versuch 1.

Einwirkung der Narkotica auf die Reduktionskraft des Serums. 0,02proz. Lösung von Methylenblau (Isot. NaCl + Phosphatpuffer $p_H = 7,12$).

1.	$\left. \begin{array}{l} \text{1 cem Serum} \\ + \text{5 cem 0,02proz.} \\ \text{Lösung von Me-} \\ \text{thylenblau + 5 cem} \end{array} \right\}$	0,9	proz. NaCl-Lösung ($p_H = 7,12$)
2.		0,05	mol. i. Butylurethan
3.		0,025	mol. „ „
4.		0,0125	mol. „ „
5.		0,00625	mol. „ „
6.		0,003125	mol. „ „

Konzentrationen von i. Butylurethan wurden in 0,9proz. NaCl-Lösung + Phosphatpuffer $p_H = 7,12$ hergestellt. Die Farbtöne waren bei Beginn des Versuchs in allen Proben von 1 bis 6 vollkommen gleich. Alle Proben wurden in gleich weiten Reagenzgläsern mit Olivenölverschluß verschlossen. Ergebnis: Nach 15 Stunden Farbtöne 1 bis 6 gleich. Lösungen vollkommen klar. Nach 19 Stunden im 5. und 6. beginnende Reduktion am Boden des Reagenzglases. Nach 21 Stunden 1. fast ganz reduziert, 5. und 6. ganz reduziert. In 2., 3. und 4. keine Reduktion. Von den Konzentrationen 0,0125 bis 0,05 mol. kommt die hemmende Wirkung von i. Butylurethan deutlich zum Ausdruck. Ähnliche Resultate erhält man auch mit Äthylurethan.

Beim Übertragen dieser Versuchsergebnisse auf die Prüfung der hemmenden Wirkung von Narkotica hinsichtlich der eventuellen Reduktionskraft der Blutkörperchen bei der Aufnahme von Farbstoffen wurde so vorgegangen: Die roten Blutkörperchen wurden in isotonischen

1) Bei den Versuchen mit Metanilgelb bekam ich oft Hämolyse.

Rohrzucker- bzw. NaCl-Lösungen, die, wie oben gesagt, durch Phosphatpuffer auf ein p_H 7,12 gebracht wurden, suspendiert. Bei Zugabe von 0,29 mol. Propylurethan im Verhältnis 1:1 zeigen die roten Blutkörperchen auch bei dieser Versuchsanordnung insofern ein differentes hämolytisches Verhalten, als in NaCl-Lösung sofort ausgiebige Hämolyse entsteht, während dagegen in Rohrzuckerlösung dieselbe viel schwächer zum Ausdruck kommt. Aus diesem Grunde wurde Propylurethan auf seine hemmende Wirkung bloß in Rohrzuckerlösung untersucht.

Die Erythrocyten wurden zuerst in isotonischer Rohrzuckerlösung + 0,29 mol. Propylurethan im Verhältnis 1:1 $\frac{1}{2}$ Stunde lang suspendiert und dann Farbstoff in Substanz zugegeben, so daß eine tief gefärbte Lösung resultierte. Nach vierstündiger Einwirkung ergab die mikroskopische Untersuchung in der schon erwähnten Weise für Tuchrot 3 G A, Tuchscharlach G, Eosin W, Orange I, Brillantkresylblau, Methylenblau und Toluidinblau (G) an den normal aussehenden Erythrocyten keine sichtbare Anfärbung. Nach 12stündiger Einwirkung konnte man nur bei Tuchscharlach G eine ganz schwache, vollkommen homogene Anfärbung konstatieren.

Dieser Versuch zeigt, daß die Tatsache der Unfärbbarkeit der lebenden roten Blutkörperchen höchstwahrscheinlich nicht auf der Reduktion der aufgenommenen Farbstoffe, sondern vielleicht auf der Tatsache beruht, daß der Farbton des aufgenommenen Farbstoffs durch Hämoglobin verdeckt wird. Außerdem sehen wir, daß auch im Falle einer schwachen Anfärbung immerhin bloß eine homogene, d. i. diffuse Verteilung vorhanden war, was uns berechtigt, die Blutkörperchen als eine homogene „lipoid“ Phase bezüglich der Verteilung von Farbstoffen anzunehmen. Die Ergebnisse der kolorimetrischen Untersuchung sind aus den Tabellen I, II und III ersichtlich.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß die untersuchten basischen Farbstoffe eine Aufnahme im Sinne des *Henryschen* Satzes zeigen, da die a:b-Quotienten, innerhalb von kolorimetrischen Fehlern, konstant sind. Außerdem zeigt sich wieder, daß basische Farbstoffe aus isotonischer NaCl-Lösung mehr aufgenommen haben als aus Rohrzuckerlösung¹⁾. Eine Ausnahme in dieser Richtung macht Magdalarot, das sich diesbezüglich entgegengesetzt, d. i. wie ein Säurefarbstoff verhält. Für Neutralrot erhielt ich reproduzierbare Werte bloß für zwei Minuten. Durch das Alkalisichwerden der Außenlösung bekommt Neutralrot einen gelben Ton, welcher nach Zugabe von 1 bis 2 Tropfen 10proz. Essigsäure verschwindet. Toluidinblau (G) und Toluidinblau (*Kahlbaum*) verhalten sich insofern verschieden, als Toluidinblau (G) durch Phosphatpuffer gefällt wird und in NaCl-Lösung einen violetten

¹⁾ R. Höber und H. Memmesheimer, Pflügers Arch. 198, 564. 1923.

Tabolle 1.
 Abhängigkeit der Aufnahme basischer Farbstoffe durch die Blutkörperchen von der Konzentration
 der zugesetzten Farbstofflösung.

Farbstoff	m : n	Ver- suchs- dauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz.	Konzentration der Außenlg. in Proz. (NaCl) (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b	Konzentration der Außenlg. in Proz. Rohrz. (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b
Rhodamin 3 B	2 : 10	2'	0.04	0.018	0.11	6,1	0,288	0,056	1,9
			0.02	0.009	0.055	6,1	0,014	0,03	2,1
			0.01	0.0043	0.0285	6,6	0,0068	0,016	2,3
			0.005	0.0023	0.0135	5,8	0,0033	0,0085	2,5
			0.04	0.018	0.11	6,1	0,280	0,06	2,1
			0.02	0.009	0.055	6,1	0,139	0,0305	2,2
Brilliantkresylblau	2 : 10	2'	0.01	0.0043	0.0285	6,6	0,0068	0,016	2,3
			0.005	0.0022	0.0140	6,3	0,0033	0,0085	2,5
			0.04	0,232	0,084	3,6	0,284	0,058	2
			0.02	0,108	0,046	4,2	0,14	0,03	2,1
			0.01	0,050	0,025	5	0,0074	0,013	1,7
			0.005	0,028	0,011	3,9	0,004	0,005	1,25
		2 ^h	0.04	0,188	0,106	5,6	0,284	0,058	2
			0.02	0,104	0,048	4,6	0,136	0,032	2,3
			0.01	0,056	0,022	3,9	0,0068	0,016	2,3
			0.005	0,028	0,011	3,9	0,004	0,005	1,25

Tabelle I (Fortsetzung).

Farbstoff	m : n	Versuchs- dauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz.	Konzentration der Außenlag. (NaCl) (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b	Konzentration der Außenlag. in Proz. Rohrz. (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b
Toluidinblau (<i>Kahlbaum</i>)	2 : 10	2'	0,01	0,0068	0,016	2,3	0,0068	0,016	2,3
			0,005	0,0034	0,008	2,3	0,0034	0,008	2,3
			0,0025	0,0016	0,0045	2,7	0,0018	0,0035	1,9
			0,00125	0,00075	0,0025	3,3	0,00088	0,0018	2,04
			0,01	0,00576	0,0212	3,6	0,0068	0,016	2,3
Neutralrot extra	2 : 10	2'	0,005	0,00283	0,0108	3,8	0,00338	0,0081	2,4
			0,0025	0,00132	0,0059	4,4	0,0018	0,0035	1,9
			0,00125	0,00059	0,0033	5,5	0,00084	0,00155	1,8
			0,04	0,0071	0,1645	23,1	0,0164	0,118	7,1
			0,02	0,0036	0,082	22,7	0,0083	0,0585	7
Magenta-rot	2 : 10	2'	0,01	0,0020	0,04	20	0,0045	0,0275	6,1
			0,005	0,0011	0,0195	17,7	0,0021	0,0145	6,9
			0,08	0,068	0,06	0,88	0,056	0,12	2,1
			0,04	0,033	0,035	1	0,029	0,055	1,8
			0,02	0,0172	0,014	0,8	0,015	0,025	1,6
		4h	0,01	0,0088	0,006	0,6	0,008	0,01	1,25
			0,08	0,056	0,12	2,1	0,044	0,18	4
			0,04	0,0308	0,046	1,4	0,020	0,1	5
			0,02	0,0150	0,025	1,6	0,010	0,05	5
			0,01	0,0074	0,013	1,7	0,0054	0,023	4

Abhängigkeit der Aufnahme von Säurefarbstoffen durch die Blutkörperchen von der Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung.

Farbstoff	m : n	Versuchsdauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz.	Konzentration der Außenlösung in Proz. (NaCl) (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b	Konzentration der Außenlösung in Proz. Rohrz. (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b
Metanilgelb	3 : 10	2'	0,03	0,0112	0,062	5,5	0,01	0,066	6,6
			0,015	0,0052	0,0323	6,2	0,0053	0,032	6
			0,0075	0,0024	0,0168	7	0,0024	0,0168	7
			0,03	0,0041	0,0744	18,1	0,0018	0,093	51,6
			0,015	0,00204	0,0425	20,8	0,00092	0,046	50
Tropäolin 0001	2 : 10	2'	0,075	0,00093	0,0216	23,3	0,00044	0,023	52,2
			0,0125	0,00862	0,0194	2,2	0,0073	0,026	3,5
			0,00625	0,00428	0,0098	2,2	0,00348	0,0138	3,9
			0,003125	0,00215	0,0048	2,2	0,00177	0,0047	3,8
			0,0015625	0,00112	0,0022	1,9	0,00092	0,0032	3,4
Orange R	2 : 10	2'	0,0125	0,00832	0,0209	2,5	0,0041	0,041	10
			0,00625	0,00428	0,0098	2,2	0,00208	0,0208	10
			0,003125	0,00212	0,005	2,3	0,00108	0,010	9,4
			0,0015625	0,00116	0,002	1,7	0,00058	0,0049	8,4
			0,04	0,0332	0,034	1	0,0332	0,034	1
0,02	0,0164	0,018	1	0,0164	0,018	1			
0,01	0,0076	0,012	1,5	0,008	0,01	1,2			

Tabelle II (Fortsetzung).

Farbstoff	m : n	Versuchs- dauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz.	Konzentration der Außenlösung in Proz. (NaCl) (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b	Konzentration der Außenlösung in Proz. Rohrz. (b)	Konzentration des Farbstoffs in den Blutkörperchen in Proz. (a)	a : b
Orange R	2 : 10	5h	0,04 0,02 0,01	0,0304 0,0164 0,008	0,048 0,018 0,01	1,5 1 1,2	0,028 0,0148 0,0068	0,06 0,026 0,016	2,1 1,7 2,3
Eosin w. gelblich	2 : 10	2'	0,08 0,04 0,02 0,01	0,064 0,0332 0,016 0,009	0,08 0,034 0,02 0,005	1,2 1 1,2 0,5	0,05 0,028 0,0142 0,0071	0,15 0,06 0,029 0,0145	3 2,1 2 2
		15h	0,08 0,04 0,02 0,01	0,064 0,033 0,016 0,0083	0,08 0,034 0,02 0,0085	1,2 1 1,2 1	0,05 0,025 0,014 0,007	0,15 0,075 0,03 0,015	3 3 2,1 2,1
Nigrosin w.	2 : 10	5h	0,02 0,01 0,005 0,0025	0,014 0,007 0,0036 0,002	0,03 0,015 0,007 0,0025	2,1 2,1 1,9 1,2	0,015 0,008 0,0044 0,002	0,025 0,01 0,003 0,0025	1,6 1,2 0,7 1,2
Kongorot	2 : 10	10'	0,02 0,01 0,005 0,0025	0,02 0,007 0,004 0,0019	0,02 0,007 0,0032 0,0019	1,2	0,02 0,007 0,0032 0,0019	0,02 0,007 0,0032 0,0019	1,2

Tabelle III.

Aufnahme von kolloidalen diamylaminlöslichen Säurefarbstoffen durch die roten Blutkörperchen. (Isotonische Rohrzuckerlösung + Phosphatpuffer $p_H = 7,12$.)

Farbstoff	m : n	Ver- suchs- dauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz. *)	Konzentration der Außen- lösung in Proz. (h)	Konzentration des Farbstoffs in den Blut- körperchen in Proz. (a)	a : b
Tuchscharlach G	2 : 10	2'	0,03	0,000 4	0,148	370
			0,015	fast 0	0,075	∞
			0,007 5	0	0,037 5	∞
			0,003 75	0	0,018 75	∞
Tuchscharlach G	0,5 : 14	2'	0,06	0,044	0,448	10,1
			0,03	0,021	0,252	12
			0,015	0,007 5	0,210	28
			0,007 5	0,000 82	0,187	228
		3h	0,06	0,032	0,784	24,5
			0,03	0,015 6	0,403	25,8
			0,015	0,002 6	0,347	133,5
			0,007 5	0,000 351	0,200	570
		6h	0,06	0,026 4	0,940	35,6
			0,03	0,007 6	0,627	82,5
			0,015	0,001 56	0,376	241
			0,007 5	0,000 234	0,203	869,4
		9h	0,06	0,024 8	0,985	39,7
			0,03	0,005 6	0,683	121,9
			0,015	0,001 08	0,389	360
			0,007 5	0,000 2	0,204	1020
Echtröt A . . .	1 : 10	2'	0,04	0,026 4	0,136	5,1
			0,02	0,010 8	0,092	8,5
			0,01	0,004	0,06	15
			0,005	0,000 68	0,043 2	63,5
		3h	0,04	0,015 6	0,244	15,6
			0,02	0,003 12	0,168 8	54,1
			0,01	0,000 72	0,092 8	128,8
			0,005	0,000 2	0,048	240
		17h	0,04	0,005 6	0,344	61,4
			0,02	0,002	0,18	90
			0,01	0,000 4	0,096	240
			0,005	0,000 08	0,049 2	615

*) Farbstofflösungen wurden vor der Verwendung filtriert.

Ton erhält. Jedoch zeigt auch dieser Farbstoff eine Aufnahme im Sinne des *Henryschen* Satzes.

Nach den bisherigen Auffassungen über die Aufnahme von basischen Farbstoffen durch die lebende Zelle hätte man aber eher eine Aufnahme durch Adsorption vermuten können. Denn wie *Loewe*¹⁾ zeigen konnte,

¹⁾ S. *Loewe*, diese Zeitschr. 42. 150, 1912.

nehmen die in Chloroform gelösten Lipide, wie Lecithin, Kephalin, Cerebrosid bzw. Restlipide des Gehirns Methylenblau aus wässriger Lösung durch Adsorption auf, indem diese Lipide, in Chloroform gelöst, durch ihren kolloidalen Zustand als Adsorbentien wirken. *Nirenstein*¹⁾ hat ebenfalls zeigen können, daß die Aufnahme von Methylenblau durch Ölsäure der Adsorptionsisotherme folgt. Für die Wichtigkeit der Adsorptionserscheinungen wurde auch „vielfach die Erscheinung angeführt, daß die Aufnahme von Alkaloiden in die lebende Zelle, die nicht anders zu beurteilen wäre als diejenige basischer Farbstoffe, der Adsorptionsisotherme folgt“ (zitiert nach *Nirenstein*, l. c., S. 322). Auch *Tanaka*²⁾ deutet bei seinen Untersuchungen über die Aufnahme von Säurefarbstoffen aus isotonischen Rohrzucker- bzw. NaCl-Lösungen seine Resultate als eine Folge der polaren bzw. apolaren Adsorption von Farbstoffen an globulinartige Substanzen. Wir sehen aber, daß unsere Versuchsergebnisse gegen diese Auffassung sprechen.

Die Tabellen II und III zeigen die Aufnahme von sauren Farbstoffen. Man sieht aus der Tabelle II, daß die untersuchten mehr oder weniger diamylaminlöslichen Säurefarbstoffe ebenfalls eine Aufnahme durch Verteilung zwischen zwei Phasen zeigen, daß sie sich also in diesem Punkte von den basischen Farbstoffen nicht prinzipiell verschieden zu verhalten brauchen. Als Beispiel eines diamylaminunlöslichen Säurefarbstoffs ist Kongorot angeführt. Praktisch wird er sehr wenig aufgenommen. Eine Adsorption konnte nicht konstatiert werden. Dasselbe Verhalten zeigen: Cyanol, Erioglaucin, Diaminreinblau und Trypanrot. Tabelle III enthält die zeitliche Verfolgung der Aufnahme von zwei diamylaminlöslichen kolloidalen Säurefarbstoffen, Tuchscharlach G und Echtrot A. Da dieselben in NaCl-Lösung fast nicht löslich sind, wurde ihre Aufnahme bloß in Rohrzuckerlösung plus Phosphatpuffer von p_H 7,12 im Verhältnis 9 : 1 verfolgt. Bei diesen Versuchen wurden je vier Zentrifugenröhrchen mit Blutkörperchenbrei versetzt und zu gleicher Zeit mit Farbstofflösung gefüllt und dann nach einer bestimmten Zeit zentrifugiert. Die mit sinkender Konzentration erhaltenen wachsenden a : b-Quotienten sprechen für eine vorherrschende Adsorption.

Auf Grund der bisherigen Ergebnisse kann nun auch die Frage der chemischen Bindung der Farbstoffe im Innern der vitalgefärbten Zelle berührt werden. Bekanntlich versuchte *P. Ehrlich*³⁾, die Vitalfärbung dadurch zu erklären, daß besondere Gruppen des Biomoleküls — die Chromorezeptoren — mit eingedrunenem Farbstoff in chemische Bindung treten. Gegen die Annahme einer chemischen Bindung mit den Chromorezeptoren spricht aber die Tatsache, daß man bei einem irreversiblen Reaktionsverlauf, bei unserer Versuchsanordnung, auch bei verschiedenen Konzentrationen, im Falle des erreichten Gleichgewichts, den gleich großen

1) *E. Nirenstein*, l. c., S. 324 bis 325.

2) *K. Tanaka*, l. c., S. 452, 453, 456.

3) *P. Ehrlich*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **42**, 1909.

Verlust an Farbstoffmenge in der Außenlösung zu erwarten hätte. Unsere Versuchsergebnisse sprechen aber gegen diese Auffassung. Andererseits wieder spricht die Konstanz der $a : b$ -Werte in einer Konzentrationsreihe, auch bei Änderung der Blutkörperchenmenge, der Konzentration bzw. von Volumen der zugesetzten Farbstofflösung, gegen die Annahme eines reversiblen Reaktionsverlaufs. Wenn wir nun die Möglichkeit der chemischen Bindung der Farbstoffe an Eiweißsubstanzen des Zellkörpers in Betracht ziehen, so wird diese Frage — abgesehen von den Einwänden, die gegen diese Auffassung von *Nirenstein*¹⁾ gemacht wurden — dadurch noch erschwert, daß sich die Eiweißsubstanzen durch ihre Ampholytnatur je nach der Lage ihres p_H vom isoelektrischen Punkte bezüglich der chemischen Bindung mit basischen bzw. sauren Farbstoffen prinzipiell verschieden verhalten. So fand *J. Loeb*²⁾, daß basische Farbstoffe mit den Proteinen nur in dem Falle in chemische Bindung treten, wenn das p_H der letzteren auf der alkalischen Seite ihres isoelektrischen Punktes liegt. Ich fand aber, daß in meinen weiter unten zu besprechenden Versuchen mit Stromata der Blutkörperchen, die bei ihrem isoelektrischen Punkte zur Fällung gebracht wurden, bei nachträglichem Zusatz einer durch Phosphatpuffer auf ein p_H 7,12 gebrachten Farbstofflösung, basische und saure Farbstoffe durch die in Lösung gegangenen Eiweißsubstanzen festgehalten werden. Bei einer solchen Wasserstoffionenkonzentration wäre an eine chemische Bindung nur mit basischen Farbstoffen zu denken. Die sauren dagegen sollten je nach der Größe der apolaren Adsorbierbarkeit durch Adsorption festgehalten werden. Das kolorimetrische Ergebnis bezüglich der Farbstoffaufnahme zeigt aber keineswegs diese prinzipielle Verschiedenheit in der Aufnahme der basischen bzw. sauren Farbstoffe durch die roten Blutkörperchen.

Es lag nun nahe, die gefundenen Tatsachen auch an Blutkörperchenstromata zu prüfen. Auch *Tanaka*³⁾ hat bei seinen Untersuchungen über die Aufnahme von Säurefarbstoffen durch die roten Blutkörperchen seine Resultate auch an Stromata zu reproduzieren versucht. Die mit der *Sachsschen*⁴⁾ Methode aus den durch Wärme lysierten Blutkörperchen erhaltenen Stromata zeigten aber nicht jene Regelmäßigkeit wie die roten Blutkörperchen. Es wäre denkbar, daß durch die Wärme die Stromata denaturiert werden. Deswegen versuchte ich, die mit der *Mondschen*⁵⁾ Methode erhaltenen Stromata für meine Versuche zu verwenden. Auch in diesem Falle mißlingen die Versuche, weil bei nachträglichem Versetzen mit Farbstofflösungen ebenso in isotonischen NaCl- wie in Rohrzuckerlösungen bei einem p_H von 7,12 ein großer Teil von Stromasubstanz in Lösung ging. Nach dem Zentrifugieren hatten die zugesetzten Farbstofflösungen einen anderen Ton — wohl durch Festhaltung der Farbstoffe an den in Lösung gegangenen Eiweiß-

1) *E. Nirenstein*, l. c., S. 320, 321.

2) *J. Loeb*, Die Eiweißkörper, S. 34. Berlin, Verlag Springer, 1924.

3) *K. Tanaka*, l. c., S. 456.

4) Zitiert nach *K. Tanaka*, l. c., S. 456.

5) *R. Mond*, Pflügers Arch. 208, 581. 1925.

substanzen — als die Testlösung, so daß ein Kolorimetrieren nicht möglich wurde. Bei diesen Versuchen wurden Rhodamin 3B, Metanilgelb und Kongorot verwendet.

Zum Schluß wurde der Einfluß der Temperatur auf die Aufnahme von Farbstoffen untersucht. Wie aus der Tabelle IV hervorgeht, kommt derselbe bei den verwendeten Farbstoffen deutlich zum Ausdruck.

Tabelle IV.

Einfluß der Temperatur auf die Farbstoffaufnahme durch die roten Blutkörperchen.

Farbstoff	m : n	Ver- suchs- dauer	Konzentration der zugesetzten Farbstofflösung in Proz. (Rohrzucker)	Konzentration der Außen- lösung bei Zimmertempe- ratur in Proz. (Rohrzucker)	Konzentration der Außen- lösung bei 0° C in Proz. (Rohrzucker)
Tuchscharlach G . . .	0.5 : 10	2h	0.06	0.006 8	0.03
			0.03	0.002 2	0.012
			0.015	0.000 72	0.0014
Echtrot A	1 : 10	3	0.04	0.015	0.024
			0.02	0.003 1	0.0088
			0.01	0.000 7	0.0024
Metanilgelb	3 : 10	5	0.03	0.001 8	0.0037
			0.015	0.000 9	0.0018
			0.0075	0.000 44	0.0009
Orange I	2 : 10	3	0.02	0.011 6	0.014
			0.01	0.006 0	0.0076

Tanaka¹⁾ ging von der Annahme aus, daß das gegensätzliche Verhalten in der Aufnahme von Säure- und basischen Farbstoffen aus isotonischen NaCl- bzw. Rohrzuckerlösungen auf die wohladsorptive Bindung an globulinartige Stoffe zurückzuführen sei. Wir sehen aber, daß die überwiegende Mehrheit von Farbstoffen in unseren Versuchen eine Aufnahme durch Verteilung zwischen zwei Phasen zeigt. Auch bei lipoidunlöslichen Säurefarbstoffen konnte keine Adsorption an der Oberfläche von roten Blutkörperchen konstatiert werden.

Bloß zwei kolloidale lipoidlösliche Säurefarbstoffe lassen — was das Anwachsen des a : b-Quotienten anbelangt — eine vielleicht vorherrschende Aufnahme durch Adsorption vermuten.

Daß nicht nur die chemische Natur des Farbstoffs allein für die Art der Aufnahme maßgebend sei, folgt auch daraus, daß Orange R (G)

¹⁾ K. Tanaka. l. c., S. 456.

eine Aufnahme durch Verteilung, während das Orange R, mit welchem *Tanaka*¹⁾ arbeitete, eine Aufnahme durch Adsorption zeigt.

Wir sehen es jedenfalls, daß das kolorimetrische Ergebnis der Farbstoffaufnahme gegen die Annahme einer adsorptiven Festhaltung der Farbstoffe im Innern der roten Blutkörperchen spricht.

Es ist mir eine besondere und angenehme Pflicht, meinem Chef, Herrn Prof. Dr. *M. Miculicich*, für die mir in jeder Hinsicht erwiesene *brüderliche* Unterstützung bei meinen Untersuchungen meinen innigsten Dank auszusprechen. Dank schulde ich auch Herrn Prof. Dr. *Höber* aus Kiel, von dem ich die Anregung zur Ausführung vorliegender Untersuchungen erhielt.

¹⁾ Leider ist bei *Tanaka* die Bezugsquelle nicht angegeben.

Die quantitative Bestimmung des Plasmals im Serum.

Von

R. Feulgen und K. Imhäuser.

(Aus dem Physiologischen Institut, Chemische Abteilung, der Universität
(Gießen.)

(Eingegangen am 9. Oktober 1926.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Bei der Erforschung der Physiologie des *Plasmalogens* war eine Methode zur quantitativen Bestimmung im Blutserum¹⁾ erforderlich. Nun ist das Plasmalogen als solches noch nicht rein dargestellt worden und sein Molekulargewicht noch vollkommen unbekannt, während das *Plasmal*, das leicht aus dem Plasmalogen entsteht, rein dargestellt werden kann. Aus diesem Grunde und deswegen, weil das *Plasmal* durch eine zur Kolorimetrie geeignete Farbreaktion ausgezeichnet ist, arbeiteten wir zunächst eine Methode zur quantitativen Bestimmung dieses Körpers aus. Da das Plasmal *nur* in Form seiner Vorstufe, niemals aber frei vorkommt, so brauchen später, wenn wir das Plasmalogen genauer kennengelernt haben, die Werte für das Plasmal nur mit einem Faktor multipliziert zu werden, um die für das Plasmalogen zu erhalten.

Indessen liegen die Verhältnisse auch bei der kolorimetrischen Bestimmung des Plasmals komplizierter. Aus einer späteren Mitteilung über das Plasmal wird nämlich hervorgehoben, daß es mindestens zwei, wenn nicht mehrere verschiedene offenbar nahe verwandte Körper gibt, welche mit der fuchsinschwefligen Säure unter Farbstoffbildung reagieren, die sich durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Thiosemicarbazone in Alkohol und Äther, sowie der Silbersalze dieser Thiosemicarbazone in denselben Lösungsmitteln unterscheiden. Daher stellen

¹⁾ Über den *qualitativen* Nachweis von Plasmalogen im Blutserum werden *Stepp*, *Feulgen* und *Voit* in einer folgenden Arbeit berichten.

die mit unserer quantitativen Methode erzielten Zahlen Werte für das „Gesamtplasmal“ dar.

Von diesen „Plasmalkörpern“ haben wir bisher einen als in Alkohol und Äther schwer lösliches Thiosemicarbazon in schön kristallisiertem Zustande rein dargestellt. Das Silbersalz dieses Thiosemicarbazons ist in Äther unlöslich. Daneben erhielten wir aber auch eine in Alkohol und Äther leicht lösliche, ein lösliches Silbersalz liefernde Fraktion, die Thiosemicarbazone enthielt und mit fuchsinschweflicher Säure unter Bildung eines Farbstoffs von demselben Aussehen reagierte. Diese Fraktion stellt ein Öl dar, das noch nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, und ist wahrscheinlich ein Gemenge von mehreren verwandten Körpern. Dies erscheint verständlich zu sein, wenn wir später zeigen werden, daß dem kristallisiert erhaltenen Thiosemicarbazon wahrscheinlich ein Oxoderivat des Oktadekans und vermutlich Oktadekanal (Stearinaldehyd) zugrunde liegt, so daß weitere Verwandte vermutet werden dürfen. Wir nennen das bisher rein dargestellte Plasmal vorläufig „a-Plasmal“. Es macht den bei weitem größten Teil der lipoiden Substanz aus, wie sie von *Feulgen* und *K. Voit*¹⁾ in der früher beschriebenen Weise durch Wasserdampfdestillation gewonnen worden war, und ihm legen wir als Standardsubstanz unsere Berechnung bei der quantitativen Bestimmung des Plasmals zugrunde. Da aber die Identifizierung des a-Plasmals und sein Molekulargewicht noch nicht mit der wünschenswerten Sicherheit feststeht, so berechnen wir die Werte für das Plasmal vorläufig als *a-Plasmalthiosemicarbazon*, von dem wir auch als Standardsubstanz ausgehen. Wir machten uns so unabhängig von dem noch nicht genau feststehenden Molekulargewicht des a-Plasmals und konnten eine Reihe von dringenden physiologischen Fragen in Angriff nehmen, ohne auf das Ergebnis der wegen der Kostbarkeit der Substanzen nur langsam fortschreitenden chemischen Untersuchung zu warten. Da es sich, wie aus späteren Arbeiten hervorgehen wird, bei der Beurteilung vieler physiologischer Fragen immer nur um *Vergleichswerte* handelt, so ist diese Methode zur quantitativen Bestimmung tatsächlich vorderhand vollkommen ausreichend. Die erzielten Werte brauchen später ja bloß mit geeigneten Faktoren multipliziert zu werden, um die Menge des freien Plasmals oder auch des Plasmalogens zu erhalten.

Über die Reindarstellung des a-Plasmalthiosemicarbazons wird in einer späteren Abhandlung berichtet werden, weil wir hierbei eine Methode zur quantitativen Auswertung der Reaktion mit fuchsinschweflicher Säure voraussetzen müssen und durch Vorwegnahme der quantitativen Bestimmung am besten Wiederholungen vermeiden.

¹⁾ *R. Feulgen* und *K. Voit*, Pflügers Arch. 206, 389, 1924.

I. Die Grundlagen der Methode.

Da wir in der „Plasmalreaktion“ eine ebenso empfindliche wie charakteristische Reaktion zur Erkennung des Plasmals und Plasmalogen besitzen, so lag es nahe, diese auszunutzen und zu einer quantitativen Bestimmung auszubauen. Wir versuchten zuerst, das Plasmalogen durch Lösungsmittel dem Serum zu entziehen und *außerhalb* des Serums die Farbstoffbildung mit der fuchsinschwefligen Säure zu bewirken. Wir sind aber von dieser Arbeitsweise bald wieder abgekommen, vor allem deswegen, weil das Plasmalogen nur in organischen Lösungsmitteln löslich ist. In diesen macht nämlich die Hervorrufung der Farbe mit fuchsinschwefliger Säure große Schwierigkeiten; denn entweder löst sich das Reagens nicht in organischen Lösungsmitteln, oder aber es zersetzt sich, wie in Alkohol, unter Rotfärbung, wahrscheinlich infolge der Herabsetzung des Dissoziationsgrades des Reagenzes. Aus diesem Grunde haben wir das zu bestimmende Plasmalogen in dem Serum belassen, zumal sich zeigte, daß es so feindispers und dabei stabil kolloidal gelöst vorkommt, daß sich mit dem Serum bei geeigneter Arbeitsweise tadellos klare und leicht kolorimetrierbare Farbstofflösungen erzielen lassen.

Die Plasmalreaktion besteht darin, daß erstens freies Plasmal mit fuchsinschwefliger Säure einen sehr ergiebigen Farbstoff bildet, daß zweitens fuchsinschweflige Säure bei langer Einwirkung wegen ihrer Acidität aus Plasmalogen das Plasmal frei machen kann, und daß drittens Sublimat dieses fast augenblicklich bewirkt. Versetzt man dementsprechend Serum mit fuchsinschwefliger Säure, eine andere Probe aber mit sublimathaltiger fuchsinschwefliger Säure, so erfolgt in der zweiten Probe die Farbstoffbildung in wenigen Minuten, in der ersten Probe aber erst nach mehreren Stunden. Diese bevorzugte Wirkung des Sublimats ist sehr charakteristisch und wird daher bei der „Plasmalreaktion“ mit verwertet.

Indessen eignet sich das „Manifestmachen“ des Plasmals mit Sublimat keineswegs zur Erzielung kolorimetrierbarer Lösungen, denn Sublimat verursacht immer eine Eiweißfällung. Wenn diese auch unter den Bedingungen, die wir bei der Anstellung der Plasmalreaktion im Serum einhalten, sehr unvollständig ist, so entsteht doch zum mindesten eine derartige Trübung, daß eine kolorimetrische Auswertung unmöglich wäre.

Wir rufen deshalb den Farbstoff hervor, indem wir das zu untersuchende Serum mit fuchsinschwefliger Säure vermischen und das Manifestwerden der Aldehydgruppe des Plasmals einfach der Acidität des Reagenzes überlassen, die unterstützt wird durch Ansäuern des Serums, was übrigens auch deswegen notwendig ist, weil Serum Säuren bindet, und weil fuchsinschweflige Säure nur bei einer bestimmten Acidität beständig ist. (Vermischt man z. B. nicht angesäuertes Serum

mit wenig fuchsinschwefliger Säure, so erhält man sofort eine starke Rotfärbung durch Zersetzung des Reagenzes, die mit dem Plasmal nichts zu tun hat.)

So lassen sich durch einfaches Vermischen von angesäuertem Serum mit fuchsinschwefliger Säure und längeres Stehen (etwa 18 Stunden) schöne Farbstofflösungen erhalten, die sich ausgezeichnet kolorimetrieren lassen. Der aus dem Plasmal und der fuchsinschwefligen Säure entstehende Farbstoff ist, ebenso wie das Plasmal selbst, in Wasser unlöslich, befindet sich also bei diesen Proben in kolloidaler Lösung.

Erhebliche Schwierigkeiten bereitete uns die Auffindung einer geeigneten Standardsubstanz. Wir wollten grundsätzlich von der Verwendung artfremder Farbstoffe bei der kolorimetrischen Auswertung absehen und gedachten als Standardsubstanz lediglich reines Plasmal oder ein Plasmalderivat zu benutzen. Das Plasmal ist indessen wegen seiner freien Aldehydgruppe leicht zersetzlich und daher wenig als Standardsubstanz geeignet. Es zeigte sich aber, daß das *Plasmalthiosemicarbazon* ebenfalls quantitativ mit fuchsinschwefliger Säure reagiert, wenngleich die volle Ausbildung des Farbstoffs längere Zeit in Anspruch nimmt als wenn freies Plasmal in Reaktion tritt. Das Thiosemicarbazon ist ausgezeichnet haltbar und durch Umkristallisieren aus Alkohol unter Kontrolle seines Schmelzpunkts (106 bis 107°) leicht rein darzustellen. Es setzt sich in Gegenwart von fuchsinschwefliger Säure um, unter Bildung des Farbstoffs und Freiwerden von Thiosemicarbazid.

Nun ist aber das *Plasmalthiosemicarbazon* in Wasser unlöslich, und da, wie oben ausgeführt, das Arbeiten mit fuchsinschwefliger Säure in organischen Lösungsmitteln erhebliche Schwierigkeiten bereitet, so ging unser Bestreben dahin, die Standardsubstanz in *kolloidale* Lösung zu bringen und dann mit ihr durch Vermischen mit fuchsinschwefliger Säure den Standardfarbstoff hervorzubringen. Dieses schien uns um so notwendiger zu sein, als auch das zu bestimmende Plasmalogen ja selbst im Serum kolloidal gelöst vorhanden ist, so daß nur bei einer solchen Arbeitsweise sowohl in dem zu untersuchenden Serum als auch in der Standardfarbe gleiche Bedingungen vorliegen. Wir versuchten allerhand Schutzkolloide, um das vorschwebende Ziel zu erreichen. Als einzig (dafür aber auch hervorragend) brauchbares Schutzkolloid erwies sich *Serum selbst*. Abgesehen davon, daß sich dieses Schutzkolloid technisch am besten eignet, haben wir jetzt vollständig gleiche Verhältnisse auf beiden Seiten des kolorimetrischen Systems, also auf der Standardseite und auf der Seite der zu untersuchenden Substanz.

Vermischt man Serum mit einer geringen Menge einer alkoholischen Lösung von *Plasmalthiosemicarbazon*, so fällt dieses nicht aus, sondern

bleibt in feinstdispenser, stabiler Suspension, so daß dem Serum gar nichts anzusehen ist, und nach Zusatz von fuchsinschwefliger Säure und längerem Stehen entsteht der Farbstoff, der, selbst in Wasser unlöslich, ebenfalls so feindispers und dabei stabil ist, daß die Flüssigkeit wie eine echte Lösung aussieht. Als Serum zur Herstellung der kolloidalen Standardplasmalthiosemicarbazonlösung kann man ein beliebiges „Hilfsserum“ nehmen; wir wählen entweder hierzu das zu untersuchende Serum selbst, oder, wenn dieses nicht in genügender Menge zur Verfügung steht, ein anderes, am besten Hammelserum, weil dieses von allen Seren den geringsten Gehalt an Eigenplasmalogen hat.

Damit kommen wir zu einer neuen Schwierigkeit. Das Hilfsserum enthält stets selbst Plasmalogen, das natürlich ebenfalls mit fuchsinschwefliger Säure unter Farbstoffbildung reagiert, und der Farbstoff, der sich in der Standardlösung ausbildet, ist eine Summe, bestehend aus dem Farbstoff aus der Standardsubstanz und dem Plasmalogen, welches dem Hilfsserum eigen ist. Es gelang nun, unter Verwendung des *Bürkerschen* Kolorimeters¹⁾, den unerwünschten Farbstoff des Hilfsserums und andere störende Unbekannte durch Kompensation zu eliminieren.

Das Prinzip des *Bürkerschen* Kolorimeters ist aus der Abb. 1 zu ersehen.

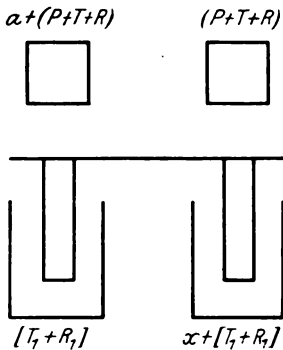


Abb. 1.

Die Werte in den entsprechend gekennzeichneten Klammern kompensieren sich gegenseitig.

Aneinanderbringen der beiden Gesichtsfeldhälften gestattet, und andere Nebenteile sind in der Abbildung weggelassen.

In die obere linke Kammer kommt die Standardfarbstofflösung, die in folgender Weise bereitet wird: Das Hilfsserum wird mittels einer Mikropipette mit einer bestimmten Menge einer alkoholischen Lösung von Plasmalthiosemicarbazon vermischt, fuchsinschweflige Säure hinzugesetzt und 18 Stunden stehengelassen. Es bildet sich eine

¹⁾ K. Bürker, Pflügers Arch. 203, 274, 1923; Zeitschr. f. angew. Chem., Jahrg. 36, S. 427, 1923.

Farbe aus, die zum Teil auf das Konto der Standardsubstanz, zum Teil aber auf das dem Hilfsserum eigentümliche Plasmalogen zurückzuführen ist. Um diese letztere Farbstoffmenge zu eliminieren, wird zu gleicher Zeit wie die erwähnte Standardlösung, also 18 Stunden vor der Ablesung, eine gleiche Menge Hilfsserum mit der entsprechenden Menge fuchsinschwefliger Säure vermischt. Der sich entwickelnde Farbstoff entspricht nur dem Plasmalogengehalt des Hilfsserums. Diese Farbstofflösung kommt in die obere rechte Kammer („obere Kompensierlösung“). In der linken Kammer befindet sich jetzt der der Standardsubstanz entsprechende Farbstoff a , ferner der dem Plasmalogengehalt des Hilfsserums entsprechende Farbstoff P , die Serumtrübung T und die Eigenfarbe des Reagenzes R . In der rechten Kammer hingegen befindet sich die dem Plasmalogengehalt des Hilfsserums entsprechende Farbe P , die Trübung T und die Eigenfarbe des Reagens R . Man sieht, daß die unbekanntene Werte für P , T und R auf beiden Seiten gleich vorkommen; sie heben sich daher auf, und als einzig wirksamer Farbstoff bleibt oben links derjenige, welcher auf Grund der Standardsubstanz entstanden ist (a). Sogar die Eigenfarbe des Serums und die häufig sehr störende, jedem Serum mehr oder weniger eigentümliche Trübung werden vollkommen eliminiert.

Schräg gegenüber, also unten in den rechten Becher kommt jetzt das zu untersuchende Serum, welches 18 Stunden mit fuchsinschwefliger Säure gestanden hatte, hinein. Es enthält einen der unbekanntenen und zu bestimmenden Plasmalmenge entsprechenden Farbstoff x , der mit dem Standardfarbstoff kolorimetrisch verglichen werden soll. Aber der Becher enthält auch noch eine dem Serum eigentümliche Trübung und Farbe T_1 , sowie die Eigenfarbe des Reagenzes R_1 . Diese letzteren Größen müssen unbedingt eliminiert werden, da sie sonst einen kolorimetrischen Vergleich beider Seiten unmöglich machen würden. Dies geschieht dadurch, daß man auf die andere Seite, also in den linken Becher hinein, ein ganz frisch hergestelltes Gemisch von Serum und Reagens hineinbringt, das erst unmittelbar vor der Ablesung angesetzt und so schnell benutzt wird, daß eine Farbstoffsynthese wie auf der rechten Seite nicht zustande kommt („untere Kompensierlösung“). Wir haben dann also links unten lediglich T_1 und R_1 , und zwar, da im Bürkerschen Kolorimeter die beiden Eintauchstäbe durch Zahn und Trieb gleichmäßig sich bewegen, in gleicher Schichthöhe wie rechts. Mithin werden die Unbekannten T_1 und R_1 in dem unteren rechten Becher kompensiert. Übersieht man jetzt das ganze System, so wird man finden, daß tatsächlich alle störenden Farben und Trübungen kompensiert sind, und daß sich jetzt nur noch die Standardfarbe und die Farbe der zu untersuchenden Substanz gegenüberstehen. Sie werden nach den bekannten Regeln der Kolorimetrie verglichen.

Trotz dem anscheinend vollkommenen Parallelismus auf beiden Seiten zeigte der Versuch, daß die beiden Gesichtsfeldhälften häufig doch einen erheblichen Unterschied in der Farbe aufwiesen, was einen Vergleich manchmal unmöglich machte. Es zeigte sich, daß die Ursache in der doch nicht vollkommen homologen Behandlung der Flüssigkeiten *in den beiden unteren Bechern* zu suchen war. Diese Flüssigkeiten bestehen zwar beidseitig aus denselben Bestandteilen, es sind Mischungen von Serum und Reagens in beiderseits gleichem Verhältnis, aber von diesen hat die eine, im rechten Becher befindliche Mischung zur Ausbildung der Farbe 18 Stunden gestanden, während die andere „untere Kompensierlösung“ ganz frisch kurz vor der Ablesung gemischt werden muß, um jede Farbstoffbildung zu verhindern. Dieser Unterschied in der Einwirkungsdauer des sauren Reagens hat zur Folge, daß die *Trübungen* in beiden Lösungen nicht mehr genau dieselben sind; nach dem Vermischen von Serum und fuchsinschwefliger Säure verändert sich nämlich die Trübung im Laufe einiger Stunden. Eine vermehrte Trübung wirkt aber wie ein Grauzusatz zu einer klaren Farbe und macht die Farbe „trübe“ im Sinne *Ostwalds*, und die Folge davon ist, daß die Farbe der einen Gesichtsfeldhälfte anders aussieht als die der anderen, so daß eine Einstellung des Kolorimeters auf Farbgleichheit häufig nicht möglich ist. Dieser Übelstand macht sich um so mehr bemerkbar, je weniger Plasmal das Serum enthält. Im übrigen zeigen die verschiedenen Sera in dieser Hinsicht große Unterschiede.

Es war also unbedingt erforderlich, die Lösungen der beiden Becher so herzustellen, daß beide gleich lange bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration stehen. Die Art, wie wir dies erreichen, geht aus der Tabelle hervor. Die Angaben links vom Strich entsprechen dem Inhalt des linken Bechers, während der rechte Becher nach den Angaben rechts vom Strich beschickt wird. Wir wollen der Einfachheit halber von linker und rechter Lösung sprechen. Beide Lösungen werden nach dieser neuen Methode zu gleicher Zeit angesetzt, also 18 Stunden vor der Ablesung. Die Mischung erfolgt in Reagenzgläsern.

Linke Lösung	Rechte Lösung
Serum Säuregemisch <i>S</i>	Serum Säuregemisch <i>FS</i>
18 Stunden stehenlassen	
<i>FS</i>	<i>S</i>

In beide Reagenzgläser kommt zunächst eine gleiche Menge des zu untersuchenden Serums hinein, wie aus dem Schema ersichtlich. Sodann werden beide Reagenzgläser mit gleichen Mengen desselben

Säuregemisches angesäuert. Dieses Säuregemisch verhindert die oben erwähnte Pseudoreaktion der fuchsinschwefligen Säure mit dem Serum auf Grund einer Zersetzung des Reagenzes. Jetzt kommt in das rechte Glas die fuchsinschweflige Säure hinein (*FS*), in das linke Glas aber eine gleiche Menge „SO₂-haltigen Wassers“, in dem Schema mit *S* bezeichnet, welches genau so zusammengesetzt ist wie die fuchsinschweflige Säure, nur daß hier das Fuchsin fehlt. Es hat praktisch mit genügender Genauigkeit dieselbe Wasserstoffionenkonzentration wie die fuchsinschweflige Säure. Diese Mischungen bleiben jetzt 18 Stunden stehen, während welcher Zeit sich die Farbe in dem rechten Glase ausbildet. Das linke Glas steht also gleich lange bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration wie das rechte Glas, hat also dieselbe Trübung, aber wegen Fehlens des Reagenzes keinen Farbstoff entwickelt. Diese beiden Lösungen sind aber noch nicht vergleichbar, denn die rechte Lösung enthält die schwach gelbe Farbe der fuchsinschwefligen Säure, die linke aber nicht. Deswegen wird unmittelbar vor der Ablesung die linke Lösung mit derselben Menge fuchsinschwefliger Säure vermischt, wie sie das rechte Glas bereits enthält, dafür aber dem Inhalt des rechten Glases jenes der fuchsinschwefligen Säure entsprechende SO₂-haltige Wasser, im Schema *S* genannt, in gleicher Menge hinzugefügt. Erst jetzt ist alles auf beiden Seiten gleich, und die Ablesung kann vor sich gehen.

Diese Arbeitsweise hat noch folgenden Vorzug. Die linke, als Kompensierlösung dienende Flüssigkeit enthält von vornherein schweflige Säure. Diese hat die Fähigkeit, sich mit dem Plasmal zu verbinden, so daß später, wenn kurz vor dem Ablesen fuchsinschweflige Säure hinzukommt, diese bei weitem nicht mehr so große Neigung zu einer Farbstoffbildung zeigt, wie wenn das Plasmal ohne SO₂ gestanden hätte. Das ist sehr angenehm, da man sich mit der Ablesung nicht so sehr zu beeilen braucht; denn es ist selbstverständlich, daß die Ablesung beendet sein muß, wenn sich der Farbstoff in der Kompensierlösung auszubilden beginnt, was sonst, wenn viel Plasmal zugegen ist, schon nach wenigen Minuten eintreten kann.

Als Hilfsserum kann man, wie erwähnt, das zu untersuchende Serum selbst nehmen. Aus physiologisch optischen Gründen (*Webers* Gesetz) ist die Schärfe der Einstellung um so besser, je weniger Eigenplasmalogen das Hilfsserum enthält; aus diesem Grunde empfehlen wir als Hilfsserum Hammelserum, das von allen bisher untersuchten Seren den geringsten Plasmalogengehalt hat.

II. Die Beurteilung der Methode.

Es erhebt sich zunächst die Frage, ob die Farbstoffbildung mit fuchsinschwefliger Säure der Gesetzmäßigkeit der Proportionalität

gehört. Bei der Untersuchung der Zuverlässigkeit einer kolorimetrischen Methode würde man so vorgehen, daß man bekannte Mengen der zu bestimmenden reinen Substanz in einem indifferenten Lösungsmittel (meist Wasser) löst und dann ermittelt, ob man mit der Methode auch diese Mengen wiederfindet. Auf unseren Fall übertragen, würde man also reines Plasmalogen zu verschiedenen Konzentrationen in plasmalogenfreiem Serum kolloidal lösen und untersuchen müssen, ob man mit der beschriebenen Methode das Plasmalogen wiederfindet. In der Eigenart der Verhältnisse liegt aber begründet, daß dieses Verfahren hier nicht anwendbar ist, denn weder können wir Plasmalogen zurzeit rein darstellen, noch ein plasmalogenfreies Serum beschaffen.

Wir müssen uns daher vorderhand mit der Beantwortung der Frage begnügen, ob man bei einem bestimmten Serum dieselben Werte findet, wenn man das Plasmalthiosemicarbazon als Standardsubstanz in verschiedenen Konzentrationen anwendet. Man kann so wenigstens feststellen, ob auf der Standardseite das Gesetz der Proportionalität mit genügender Genauigkeit gilt, in welchem Falle auf der Seite der zu untersuchenden Substanz das gleiche angenommen werden darf. Zahlreiche Versuche in dieser Richtung lieferten befriedigende Resultate. Sie sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Es wurden 15 Sera der verschiedensten Tierspezies untersucht, auf die es hier aber nicht ankommt. Der erste Stab in der Tabelle zeigt die Konzentration der angewandten alkoholischen Plasmalthiosemicarbazonlösung, über deren Verwendung der folgende Abschnitt Auskunft erteilt¹⁾, der zweite Stab die damit erzielten Werte für das Plasmal, ausgedrückt in Milligramm Plasmalthiosemicarbazon pro Liter Serum. Zwei Beobachtungen weisen größere Differenzen auf, sie sind mit einem Fragezeichen kenntlich gemacht. Die Ursache hierfür konnten wir nicht feststellen.

Serum Nr.	Konzentration der alkoholischen Standard- lösung in Promille	Die mit den verschiedenen Konzen- trationen gefundenen Werte (mg pro Liter)
1	1,2	33,4
	2,4	34,5
2	1,2	21,8
	2,4	22,5
3	1,2	32,7
	2,4	34,2
4	0,3	5,4
	0,6	6,1
5	1,2	30,0?
	2,4	41,4?

¹⁾ Von dieser alkoholischen Standardlösung werden jedesmal 25 cmm zu 2 ccm Hilfsserum zugesetzt.

Fortsetzung.

Serum Nr.	Konzentration der alkoholischen Standard- lösung in Promille	Die mit den verschiedenen Konzen- trationen gefundenen Werte (mg pro Liter)
6	0,15	7,9
	0,3	8,5
7	0,3	14,0
	0,6	14,0
	1,2	15,4
8	0,3	9,6
	0,6	9,7
9	0,6	12,2
	1,2	12,6
10	0,15	4,1
	0,3	3,9
11	0,15	3,5
	0,3	3,5
12	1,2	55,6
	2,4	60,5
13	1,2	44,1
	2,4	45,5
14	0,3	13,3
	0,6	13,1
15	0,3	6,9?
	0,6	9,9?

Aus dieser Tabelle geht auch hervor, daß die Plasmalogenwerte in den verschiedenen Seren sehr schwanken können. Unterschiede im Verhältnis 1 : 15 in den Seren verschiedener Tierspezies kommen vor. Allgemein ist der Gehalt an Plasmal gering und beträgt bei manchen Tieren nur wenige Milligramm pro Liter Serum. Wenn wir so geringe Mengen noch bestimmen können, unter Verwendung von nur 4 ccm des zu untersuchenden Serums, wovon nur 2 ccm mit einem Gehalt von $\frac{1}{100}$ mg Plasmal zur eigentlichen Farbstoffbildung benutzt werden, so verdanken wir das der großen Ergiebigkeit des aus dem Plasmal und der fuchsinschwefligen Säure entstehenden Farbstoffs.

Es muß jetzt noch die Frage nach dem günstigsten Zeitpunkt der Ableseung beantwortet werden. Bei den frisch angesetzten Lösungen erscheint die Farbe anfänglich vorwiegend in der Standardlösung, weil das Plasmalthiosemicarbazon leichter sich mit der fuchsinschwefligen Säure umsetzt als das Plasmalogen. Daher erhält man in den ersten Stunden zu große Schichthöhen bei der Einstellung auf Farbgleichheit. Mit der Entwicklung des Farbstoffs auf der Seite der zu untersuchenden Substanz nimmt die Schichthöhe bis zum richtigen Werte ab. Man muß also hinreichend lange Zeit bis zur Ableseung warten. Indessen blaßt die Farbe bei zu langem Stehen ab, und auch dies geschieht nicht gleichmäßig auf beiden Seiten, sondern in dem Sinne, daß die Schicht-

höhe bei Farbgleichheit größer wird. Setzt man also die Lösungen frisch an und beobachtet fortlaufend, so beobachtet man anfänglich ein Sinken, dann aber wieder ein Steigen der Schichthöhe, und dazwischen liegt ein Minimum an Schichthöhe, das dann für die Berechnung benutzt werden muß. Stellt man sich diese Verhältnisse graphisch dar, unter Verwendung der Schichthöhen als Ordinaten, so erhält man eine Kurve, die anfänglich steil fällt, dann horizontal verläuft und endlich wieder allmählich ansteigt. Es war zu untersuchen, ob der horizontale Teil der Kurve, in dem die Ablesung erfolgen muß, eine genügende Breite aufweist, und ob es möglich ist, unter schematischer Festsetzung einer Zeit die Ablesung mit Sicherheit in einem Punkte zu machen, der sich genügend von den benachbarten Wendepunkten fernhält. Derartige Versuche wurden mehrfach mit demselben Resultat angestellt. Zur Anstellung dieser Versuche wurde eine größere Menge

der Lösungen auf einmal angesetzt und fortschreitend Proben zur kolorimetrischen Untersuchung entnommen. Da wir anfänglich alle 2 bzw. alle 4 Stunden entnehmen mußten, so wurden, um nicht durch die Nachtzeit mit ihren veränderten Beleuchtungsverhältnissen behindert zu werden, zwei Portionen mit entsprechender Zeitverschiebung angesetzt.

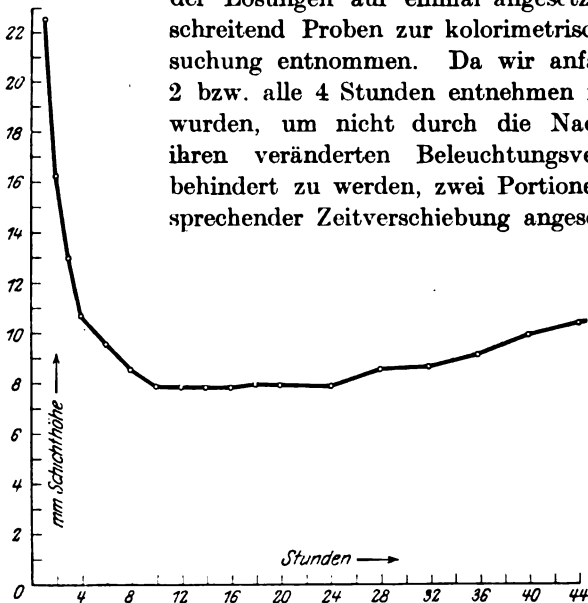


Abb. 2.

Die Abb. 2 gibt die Resultate wieder. Die Abszissen sind Stunden, die Ordinaten Millimeter Schichthöhe. Man sieht, daß von der 10. bis 24. Stunde die Kurve horizontal verläuft; mithin liegt der günstigste Zeitpunkt für die Ablesung bei etwa 16 bis 18 Stunden. Die Veränderung der Schichthöhe würde noch mehrere Tage weiter verfolgt. Am 6. Tage hatte die Schichthöhe vom Minimum (8 mm) auf 13 mm wieder zugenommen.

Die beschriebene Methode zur quantitativen Bestimmung des Plasmals setzt selbstverständlich voraus, daß andere Stoffe, welche mit der fuchsinschwefligen Säure unter Farbstoffbildung reagieren, im Serum nicht vorkommen, oder, genauer ausgedrückt, nur in einer Konzentration vorkommen, die unter der Schwelle der Nachweisbarkeit mit fuchsinschwefliger Säure liegt. Alle Beobachtungen deuten bis jetzt darauf hin, daß dies in der Tat zutrifft. Zunächst ist die Aldehydgruppe an sich von außerordentlicher Seltenheit in der Biochemie der Tiere. Augenblicklich kennen wir nur drei Stoffe, welche Aldehydcharakter haben, nämlich den Acetaldehyd, die Thymonucleinsäure nach partiellem Abbau (worauf die Nuclealreaktion und Nuclealfärbung beruhen) und das Plasmalogen bzw. das Plasmal. Acetaldehyd kommt in Geweben und Körperflüssigkeiten jedenfalls nicht in einer Menge vor, daß er mit fuchsinschwefliger Säure direkt nachweisbar wäre, und auch die Thymonucleinsäure hat der eine von uns (*R. Feulgen*) vergeblich im Serum direkt nachzuweisen versucht. Vor allem aber haben wir in der ordnungsgemäß, d. h. unter Mitverwendung von Sublimat angestellten *Plasmalreaktion* ein ausgezeichnetes Mittel, um eine Substanz, die mit der fuchsinschwefligen Säure reagiert, auch als Plasmalogen zu erkennen, und zwar auf Grund der höchst charakteristischen Eigentümlichkeit, daß Sublimat imstande ist, aus Plasmalogen Plasmal zu bilden. Käme das Plasmal frei vor, dann wäre eine Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure nicht so ausnehmend eindeutig, aber Plasmal kommt immer nur als Plasmalogen vor; Plasmal ist, wie später ausführlich auseinandergesetzt werden wird, im Blutkreislauf gar nicht in nennenswerter Menge denkbar, und damit haben wir auch stets die unerhört charakteristische Eigentümlichkeit der Sublimatwirkung zur Diagnose zur Verfügung. Wir haben bei Anstellung der Plasmalreaktion noch nie beobachtet, daß andere Aldehyde mit freier Aldehydgruppe zugegen sind. Endlich stimmt der Farbstoff, welcher bei der Plasmalreaktion und bei der quantitativen Methode sich im Serum entwickelt, im Aussehen überein mit dem aus reinem Plasmal und fuchsinschwefliger Säure entstehenden; er ist auffallend blautichig und unterscheidet sich dadurch von der Nuance der Nuclealreaktion und vor allem von der Acetaldehydreaktion. Wir glauben, daß ein spektrophotometrischer Vergleich des im Serum und aus reinem Plasmal sich bildenden Farbstoffs unsere Ansichten bestätigen wird.

III. Die Technik der Bestimmung.

a) Die erforderlichen Reagenzien.

1. Normalsalzsäure.

2. *Fuchsinschweflige Säure*. Da dieses Reagens genau so hergestellt werden muß wie das SO_2 -haltige Wasser, so empfiehlt es sich, beide Lösungen in einem Maßkolben unter genauer Abwägung der Bestandteile anzusetzen.

In einem Erlenmeyerkolben übergießt man 0,5 g Fuchsin¹⁾ mit etwa 70 ccm siedenden Wassers, schüttelt bis zur Lösung um, filtriert in einen Meßkolben zu 100 ccm hinein, wäscht das Filter mit etwas heißem Wasser nach, gibt dann 10 ccm n HCl hinzu und kühlt unter der Wasserleitung auf Zimmertemperatur ab. Zu dieser sauren Fuchsinlösung fügt man dann genau 0,500 g Natriumbisulfid (wasserfrei pro analysi), füllt mit Wasser bis zur Marke auf und läßt bis zum Gebrauch 2 Tage im Dunkeln stehen. Der Meßkolben dient zugleich als Aufbewahrungsgefäß. Er muß einen tadellosen schließenden Stopfen haben, der nie länger als unbedingt nötig abgenommen werden darf.

3. *SO₂-haltiges Wasser.* 0,500 g Natriumbisulfid (wasserfrei pro analysi) werden in einem Meßkolben von 100 ccm Inhalt in etwa 80 ccm Wasser gelöst, 10 ccm n HCl zugefügt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Der Meßkolben dient auch hier als Vorratsgefäß, dessen Stopfen gut schließen muß und nie länger als unbedingt nötig abgenommen wird.

Es ist sehr wesentlich, daß die fuchschweifige Säure und das SO₂-haltige Wasser in genau gleicher Weise hergestellt und auch aufbewahrt werden, weil das überschüssige SO₂ leicht aus diesen Lösungen entweicht. Aus diesem Grunde verwahre man die Lösungen auch in zwei gleichen Meßkolben auf, in denen sie auch angesetzt werden. Man sorge dafür, daß der Flüssigkeitsstand in beiden Kolben im Laufe des Gebrauchs gleich bleibt, indem man aus dem Kolben, von dessen Inhalt man weniger verbraucht, von Zeit zu Zeit einfach etwas weggießt.

b) Die Standardstammlösungen.

In Kolorimetern gewöhnlicher Bauart befindet sich der Standardfarbstoff in einem Becher mit Eintauchstab, und die Schichthöhe des Standardfarbstoffs ist durch mehr oder weniger tiefes Eintauchen des Glasstabs in weiten Grenzen veränderlich. Infolgedessen kann man mit einer einzigen Standardfarbstofflösung große Konzentrationsbereiche der zu bestimmenden Substanz bestreichen. Bei dem hier verwendeten Bürkerschen Kolorimeter hingegen befindet sich die Standardfarbstofflösung in der linken oberen Kammer, die ein für allemal eine Schichthöhe von 10 mm hat. Infolgedessen ist der Bereich, der mit einer Standardfarbstofflösung überdeckt werden kann, nur beschränkt; er entspricht einem Konzentrationsverhältnis von etwa 1 : 2 oder 1 : 3, wenn anders man sich nicht aus dem Optimum der Kolorimeteereinstellung entfernen will, und daraus folgt, daß man für einen größeren Konzentrationsbereich mehrere verschieden konzentrierte Standardfarbstofflösungen herstellen muß. Wie oben auseinandergesetzt, erhält man die Standardfarbstofflösung, indem man eine bestimmte Menge eines Hilfsserums mit einer bestimmten Menge Plasmalthiosemicarbazon kolloidal versetzt und dann mit fuchschweifiger Säure den Farbstoff entwickelt. Um dem Hilfsserum verschiedene Plasmalthiosemicarbazonkonzentrationen zu erteilen, könnte man von einer einzigen genügend konzentrierten alkoholischen Plasmalthiosemicarbazonlösung ausgehen und von dieser dem Hilfsserum jeweils die geeigneten Mengen zusetzen. Wir ziehen aber vor, schon um Irrtümer auszuschalten, stets eine gleiche Menge der alkoholischen Stammlösung (25 cmm) dem Hilfsserum

¹⁾ Wir benutzten in letzter Zeit ausschließlich das „Fuchsin gelbstichig“ rein für photographische Zwecke der Höchster Farbwerke.

zuzugeben und statt dessen die Konzentration zu variieren bzw. eine Reihe von alkoholischen Standardstammlösungen verschiedener Konzentration im Vorrat zu halten. Dabei halten wir die Menge der dem Hilfsserum zuzugebenden alkoholischen Lösung so gering, daß der dem gewöhnlichen Alkohol eigentümliche Gehalt an Acetaldehyd unter der Schwelle der Nachweisbarkeit mit fuchsinschwefliger Säure liegt.

Bei der Untersuchung der verschiedensten Seren haben sich die folgenden Konzentrationen für die alkoholische Plasmalthiosemicarbazonlösung als geeignet erwiesen: 0,15, 0,3, 0,6, 1,2, 2,4 Prom. Die Herstellung des als Standardsubstanz dienenden Plasmalthiosemicarbazons, die übrigens im Prinzip schon aus dem früher mitgeteilten hervorgeht, wird später genau beschrieben werden. Die Lösungen, von denen man nur jedesmal 25 cmm braucht, müssen in kleinen, durch gute Gummistopfen wohl verschlossenen Flaschen gegen Verdunstung des Alkohols geschützt aufbewahrt werden.

c) Sonstige Geräte.

Zur Bestimmung sind noch erforderlich eine Reihe kleiner Reagenzgläser, die mit guten Gummistopfen luftdicht verschlossen werden können. Ferner eine Pipette zu 2 ccm, eine zu 1 ccm und eine Mikroauswaschpipette zu 25 cmm. Als solche nehmen wir die dem Kolorimeter beiliegende Blutpipette. Die Pipetten müssen innen vollkommen fettfrei sein. Sie liegen, mit Ausnahme der Mikropipette, wenn sie nicht gerade benutzt werden, während der Versuchsperiode am besten in einem Gemisch von gleichen Teilen konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure. Die Pipette zu 2 ccm (Serumpipette) muß genau sein und eventuell festgestellt werden, wieviel Serum sie ausfließen läßt, wenn man ihr genügende Auslaufzeit gewährt. Daraus wird eine Pipettenkorrektur berechnet, die auf den Endwert in entsprechender Weise in Anrechnung gebracht wird. Wir benutzen im Rahmen dieser Methode die beiden großen Pipetten stets derart, daß die gefüllte Pipette senkrecht in das zu beschickende Reagenzglas gehalten, mit der Auslaufspitze an der Wand desselben angelegt und vom Augenblick des Loslassens des Fingers an gerechnet. 15 Sekunden gewartet wird, d. h. etwa 10 Sekunden länger, als die eigentliche Auslaufzeit der Pipette beträgt. An die Pipette zu 1 ccm werden keinerlei Anforderungen bezüglich Genauigkeit gestellt, nur muß sie stets in gleicher Weise bedient werden, damit sie stets gleiche Mengen hergibt, und im Laufe einer Bestimmung darf sie nicht gewechselt werden.

Die Ausführung der Bestimmung.

Für eine Bestimmung sind mindestens vier Serumlösungen erforderlich: Die Standardlösung, die obere Kompensierlösung, die zu untersuchende Lösung und die untere Kompensierlösung. Kennt man nicht annähernd den Gehalt des zu untersuchenden Serums an Plasmal, so müssen mehrere Standardlösungen angesetzt werden, aus Gründen, die oben angeführt worden sind. Der Übersichtlichkeit wegen soll im folgenden der Gang der Untersuchung mit nur einer Standardlösung beschrieben werden. Zur Herstellung sind vier kleine, mit Gummistopfen verschließbare Reagenzgläser erforderlich. Ihre Beschickung erfolgt nach folgendem Schema:

I. Standardlösung	II. Obere Kompensier- lösung	III. Zu untersuchende Lösung	IV. Untere Kompensier- lösung
2 ccm Hilfs- serum	2 ccm Hilfs- serum	2 ccm zu unter- suchend. Serum	2 ccm zu unter- suchend. Serum
25 cmm alkoh. Standardlösung	25 cmm Alkohol	25 cmm Alkohol	25 cmm Alkohol
1 ccm Säure- gemisch	1 ccm Säure- gemisch	1 ccm Säure- gemisch	1 ccm Säure- gemisch
1 ccm <i>FS</i>	1 ccm <i>FS</i>	1 ccm <i>FS</i>	1 ccm <i>S</i>
18 Stunden im Dunkeln stehenlassen			
1 ccm <i>S</i>	1 ccm <i>S</i>	1 ccm <i>S</i>	1 ccm <i>FS</i>
In dieser Tabelle bedeutet: <i>FS</i> = fuchsin-schweflige Säure, <i>S</i> = SO ₂ -haltiges Wasser.			

Die beiden ersten Reagenzgläser werden danach mit je 2 ccm von dem Hilfsserum, die beiden letzten mit je 2 ccm von dem zu untersuchendem Serum beschickt. Jetzt versetzt man das erste Reagenzglas mit 25 cmm der betreffenden alkoholischen Standardstamm-lösung, die anderen aber mit 25 cmm Alkohol. Dies geschieht in folgender Weise: Man nimmt die mit Schlauch und Mundstück versehene Mikropipette und saugt die Standardlösung bis über die Marke hinein, so daß die Flüssigkeit in den oberen erweiterten Raum etwas eintritt. Man vermeide ein Benetzen des Gummischlauchs. Man verschließt jetzt das Mundstück mit der Zunge und bringt die Pipette sofort in eine fast horizontale Lage, die Auslaufspitze etwas geneigt. Dann gibt man das Mundstück frei, das man aber noch zwischen den Zähnen bei geöffneten Lippen hält, reinigt die Pipette ohne ihre Lage zu verändern, außen erst mit einem mit Alkohol benetzten, dann mit einem trockenen Tuche und betupft die Spitze der Pipette mehrmals kurz mit dem Finger; auf diese Weise entfernt man jedesmal sehr kleine Mengen der Flüssigkeit aus der Pipette und kann so den Meniskus des Flüssigkeitsspiegels an der Marke scharf einstellen. Durch Betupfen mit einem Tuche oder einem Stück Filtrierpapier kann man größere Mengen auf einmal entfernen. Jetzt bringt man die vorschriftsmäßig gefüllte Pipette sofort und ohne die Wandung zu berühren in das erste Reagenzglas hinein, wobei die Spitze in das Serum eingetaucht wird, und bläst den Flüssigkeitsfaden heraus, bis Luftblasen entweichen, die zugleich das Serum durchmischen. Um noch Reste der Lösung von der Wandung der Pipette zu entfernen, saugt man einige Male Serum bis in die Erweiterung der Pipette hinein und bläst jedesmal wieder aus. Endlich zieht man die Pipette aus dem Serum heraus, legt deren Spitze an der Reagenzglaswand an, bläst wiederholt aus und läßt dabei etwa eine halbe Minute ablaufen. Hieran schließt sich sofort die Reinigung der Pipette an. Zu diesem Zwecke entfernt man die Pipette von dem Schlauche, steckt

sie an den Schlauch einer Wasserstrahlpumpe an, spült sie, während die Wasserstrahlpumpe läuft, außen mit fließendem Wasser ab und reinigt sie dann innen, indem man die Spitze der Pipette ruckweise in einen Wasserstrahl hineintaucht und wieder herauszieht. Jetzt trocknet man die Pipette außen mit einem Tuche ab und taucht sie mehrmals ruckweise in 96proz. Alkohol hinein, wodurch das Wasser entfernt wird. Läßt man jetzt nach äußerem Abtrocknen etwa eine Minute lang Luft durch die Pipette hindurchsaugen, so trocknet die Pipette innen vollkommen aus und ist wieder verwendungsbereit.

In analoger Weise gibt man zu sämtlichen anderen Reagenzgläsern je 25 cmm Alkohol.

Jetzt werden sämtliche Sera mit 1 ccm Säuregemisch angesäuert, worauf die Gläser nach jedesmaligem Zusatz sofort wieder verschlossen werden. Dieses Säuregemisch bereitet man sich für alle Gläser vorher, indem man in einem Reagenzglas n-Salzsäure und SO_2 -haltiges Wasser zu gleichen Teilen mischt.

Nunmehr werden sofort die ersten drei Reagenzgläser mit je 1 ccm fuchsinschwefliger Säure, das letzte Glas aber mit 1 ccm SO_2 -haltigen Wassers versetzt. Nach sorgfältiger Mischung bleiben alle Gläser 18 Stunden lang im Dunkeln stehen; es ist also zweckmäßig, die Lösungen am Abend anzusetzen und die Kolorimetrie am anderen Morgen auszuführen. Kurz vor dieser vermischt man den Inhalt der drei ersten Glieder mit je 1 ccm SO_2 -haltigen Wassers und dann unmittelbar vor dem Einfüllen den Inhalt des letzten Glases mit 1 ccm fuchsinschwefliger Säure. Da in dieser unteren Kompensierlösung die fuchsinschweflige Säure keinen Farbstoff bilden darf, so ist es zweckmäßig, zunächst die ersten drei Lösungen in die Gefäße des Kolorimeters einzufüllen und erst unmittelbar vor der Ablesung die fuchsinschweflige Säure dem letzten Glase hinzuzugeben. Sofort danach wird diese Lösung in den entsprechenden Becher eingefüllt und gleich kolorimetriert.

Die oberen Behälter des *Bürkerschen* Kolorimeters bestehen aus einem Hohlzylinder aus Glas, der durch zwei planparallele Glasplatten abgeschlossen ist. Die Dichtung erfolgt durch Zusammenpressen der eben geschliffenen drei Einzelteile in einer metallenen Kapsel, die zu diesem Zwecke oben eine Ringschraube besitzt. Da das *Bürkersche* Kolorimeter vor allem der Hämoglobinbestimmung dient, zu welchem Zwecke der eine obere Behälter ein für allemal eine haltbare Standardlösung von reduziertem Hämoglobin enthält, die nicht mehr gewechselt zu werden braucht, unsere Standardfarblösung aber nicht haltbar ist und daher nach jeder Bestimmung wieder entfernt werden muß, so haben wir uns für unsere Zwecke das Einfüllen der Flüssigkeiten dadurch erleichtert, daß wir die oberen Deckplatten am Rande (außer-

halb des Strahlenganges) durchbohren lassen. Zur Füllung wird dann die Kammer trocken zusammengesetzt und verschraubt, wobei die Löcher in den Deckplatten später im Kolorimeter temporalwärts stehen sollen, und dann mit Hilfe eines zur Kapillaren ausgezogenen Glasrohres gefüllt. Sollte dabei etwas von der Flüssigkeit auf die Deckplatte kommen, so kann dies mit der Ecke eines Filtrierpapierstreifens leicht entfernt werden. Die Füllung der Becher kann durch Eingießen geschehen.

Die Füllung der Behälter geschieht derart, daß man in die eine abgeschlossene Kammer die Standardlösung, in die andere die obere Kompensierlösung, in den einen Becher die zu untersuchende Lösung und in den anderen die untere Kompensierlösung hineinbringt. Die Anordnung der einzelnen Behälter wird so getroffen, daß die Kammer mit der *Standardlösung oben*, der Becher mit der zu *untersuchenden Lösung* aber *unten* auf der *anderen Seite* angebracht wird. Die Verteilung der Behälter mit den Kompensierlösungen ergibt sich dann von selbst. Nochmals sei darauf hingewiesen, daß die untere Kompensierlösung erst dann mit der fuchsinschwefligen Säure vermischt werden darf, wenn alle anderen Behälter bereits gefüllt an ihrem Platze stehen.

Die Kolorimetrie erfolgt in üblicher Weise, indem man schnell nacheinander zehn Einstellungen und Ablesungen macht und aus den gefundenen Werten das Mittel nimmt. Um aber jede Asymmetrie des Kolorimeters oder der Beleuchtung auszuschließen, werden nach der ersten Ablesungsreihe — ohne das Kolorimeter oder den Beleuchtungsspiegel zu verschieben — die Gefäße der linken Seite mit denen der rechten Seite vertauscht. Hierbei müssen erstens die Eintauchstäbe zwischendurch herausgenommen, mit der Spritzflasche abgespült und getrocknet werden, zweitens die mit den Einfülllöchern versehenen Deckplatten der oberen Kammern nach Lockerung der Ringschrauben um 180° gedreht werden, damit die Löcher im Kolorimeter wieder temporalwärts stehen. Dies geschieht am besten mit der ausgezogenen Spitze eines Glasstäbchens mit dem man in die Löcher hineinfäßt. Wenn alles wieder an seinem Platze ist, werden abermals zehn Ablesungen gemacht und aus diesen das Mittel genommen. Aus den so erhaltenen beiden Mittelwerten nimmt man jetzt abermals das Mittel und legt dieses der Berechnung zugrunde. Es ist zu beachten, daß alle Operationen von dem Augenblick an, in dem der unteren Kompensierlösung die fuchsinschweflige Säure zugesetzt worden ist, möglichst rasch ausgeführt werden. Eine Farbstoffbildung darf in dieser Zeit nicht eingetreten sein.

Nach der Ablesung müssen die Gefäße und Eintauchstäbe sofort gereinigt werden. Nach dem Herausnehmen der Gefäße werden die Eintauchstäbe abgenommen, mit der Spritzflasche abgespült und

mit einem Tuche getrocknet. Dann reinigt man die unteren Becher, indem man sie unter der Wasserleitung abspült und dabei aus ihren Fassungen herausschraubt. Die Glasteile werden dann mit einem Tuche getrocknet; die aus Metall bestehenden Teile aber zweckmäßig dadurch, daß man sie in einen Kasten mit gereinigtem Sägemehl¹⁾ hineinwirft und in dem Sägemehl herumwält. Anhaftende Sägespäne entfernt man mit einem kleinen Borstenpinsel. Zur Reinigung der oberen Kammern schraubt man die oberen Ringschrauben ab und setzt die Kammer vorsichtig und ohne den wasserdichten Kontakt der Glasteile zu stören auf das dem Instrument beigegebene „Stühlchen“. Mit Hilfe dieser Einrichtung gelingt es leicht, die aus drei Teilen bestehende gläserne Kammer aus der Kapsel ohne Verschüttung des Inhalts herauszunehmen. Den noch geschlossenen Glastrog bringt man unter die Wasserleitung und öffnet ihn erst dort unter Abspülen. Die Glasteile werden dann mit einem Tuche abgetrocknet. Bei einiger Übung werden beim Herausnehmen des Glastrogs die Metallteile nicht beschmutzt; sollte dies dennoch eingetreten sein, so spült man sie ab und trocknet sie mit Sägespänen. Nach der Reinigung erfolgt das Zusammensetzen der Gefäße, wobei genau darauf zu achten ist, daß an den Schlißflächen keine Fremdkörper haften, da sonst ein wasserdichter Verschuß nicht gewährleistet ist. Die Schlißflächen werden daher vor dem Zusammensetzen mit einem Pinsel abgestaubt²⁾.

Die Berechnung.

In allen Lösungen kommen die Sera in gleicher Konzentration vor. Die Verdünnung der Seren mit den Reagenzien ist an sich willkürlich und für die Berechnung gleichgültig, da es nur auf das *Verhältnis* der Schichthöhen ankommt; sie braucht also nicht berücksichtigt zu werden, wenn man in die Gleichung, welche der Kolorimetrie zugrunde liegt, die Standardplasmalkonzentration einführt, welche man dem Hilfsserum mit Hilfe der 25-cmm-Pipette erteilt hat.

Da wir, wie in der Einleitung ausgeführt worden ist, das Plasmal vorläufig als a-Plasmalthiosemicarbazon berechnen, d. h. so verfahren, als ob das Plasmalogen in dem zu untersuchenden Serum a-Plasmalthiosemicarbazon wäre, so gestaltet sich, da Plasmalthiosemicarbazon selbst als Standardsubstanz dient, die Berechnung sehr einfach.

Man ermittelt zunächst, wieviel Plasmalthiosemicarbazon man mit Hilfe der 25 cmm fassenden Pipette in die 2 cem Hilfsserum hineingebracht hat, woraus sich der Gehalt des Hilfsserums an Plasmalthiosemicarbazon

¹⁾ Sägemehl wird mit Sodalösung wiederholt ausgekocht, mit Wasser gewaschen und an einem warmen Orte getrocknet. Die hier beschriebene Trocknungsmethode ist die in der Technik übliche.

²⁾ Die Reinigung der Gefäße wird deswegen ausführlich besprochen, weil die Reagenzien eine (sogar flüchtige) Säure enthalten und weil bei unsachgemäßer Ausführung das Kolorimeter Schaden erleiden kann.

ergibt, den man in Milligramm pro Liter ausdrückt. Dieser Wert soll mit a bezeichnet werden. Nach dem der Kolorimetrie zugrunde liegenden Gesetze verhalten sich die Konzentrationen der Standard- und der zu untersuchenden Lösung nach Einstellung auf Farbgleichheit umgekehrt wie die Schichthöhen. Die Schichthöhe der Standardfarbstofflösung ist unveränderlich 10 mm, die der zu untersuchenden Lösung wird ebenfalls in Millimetern ausgedrückt und kann mit dem Nonius auf Zehntel-Millimeter abgelesen werden; sie ist in folgendem mit h bezeichnet. Die unbekannte Konzentration in dem zu untersuchenden Serum, in gleicher Weise ausgedrückt wie die des Hilfsserums an Standardplasmalthiosemicarbazon (Milligramm pro Liter) sei x . Dann ist

$$a : x = h : 10,$$

$$x = \frac{10a}{h}.$$

Die Werte für a brauchen nur einmal berechnet zu werden; sie gehen im übrigen aus untenstehender Tabelle hervor.

Konzentration der alkohol. Standardlösung an Plasmal- thiosemicarbazon Proz.	a	$10 a$
0,15	1,88	18,8
0,3	3,75	37,5
0,6	7,5	75
1,2	15	150
2,4	30	300

Wie des öfteren erwähnt, steht das Molekulargewicht für das a -Plasmal noch nicht ganz fest. Nach unseren bisherigen Untersuchungen beträgt es aber etwa 270, und das des Thiosemicarbazons etwa 343. Danach erhielt man aus den durch Kolorimetrie ermittelten Werten für den Gehalt an Plasmalthiosemicarbazon die für das freie Plasmal durch Multiplikation mit $\frac{270}{343} = 0,787$. Diese Zahlen geben wir nur unter Vorbehalt an; sie sollen bloß zeigen, in welchem Bereich sie etwa zu erwarten sind.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Gießener Hochschulgemeinschaft ausgeführt.

Zur stereochemischen Spezifität der Lipasen und Beiträge zur Giftwirkung an den fettsplaltenden Fermenten.

Von

P. Rona und R. Ammon.

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

(Eingegangen am 15. Oktober 1926.)

Mit 33 Abbildungen im Text.

Ziel der Arbeit.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Näheres über die stereochemische Spezifität der Lipasen zu erfahren. Im Anschluß an die *Dukinschen* und *Willstätterschen* Befunde sollten weitere Lipasen in bezug auf ihre optische Auswahl untersucht werden. Ferner sollten die untersuchten Lipasen auch auf die antipodischen Ester in ihrer Wirkung studiert werden. Es interessierte weiterhin die Frage, ob bei zunehmendem Reinheitsgrad des Ferments dieses noch dieselbe Auswahl an racemischen oder optisch aktiven Substraten zeigt. Im weiteren Verfolg früherer Vergiftungsversuche sollte dann die Wirkung der Hemmungskörper auf die betreffenden Lipasen in ihrer Abhängigkeit von der optischen Aktivität des Giftes und der optischen Orientierung des Ferments selbst betrachtet werden. Namentlich, wenn man alle drei optischen Modifikationen ein und desselben Giftes, die d-, l- und d-l-Form, anzuwenden in der Lage war, konnte man hoffen, genauere Einsicht in das optische Verhalten des Ferments zu gewinnen.

Benutzte Substrate, Fermente und Hemmungskörper.

a) *Substrate.*

Als Substrate wurden

Tributyryl,
Monobutyryl,
dl-, d- und l-Mandelsäuremethylester,
dl-Mandelsäureäthylester und
dl-Mandelsäureisoamylester

benutzt.

Tributyryn, Tributtersäureglycerinester, diente in der Warburgschen Apparatur am häufigsten als Substrat. Wegen seiner Schwerlöslichkeit in H_2O wurde eine 2proz. Emulsion des Esters in Ringerlösung angewandt. Die Eigenhydrolyse dieses Esters ohne Ferment ist zwar gering, aber doch nicht zu vernachlässigen.

Im Gegensatz zum Tribututyryn ist der Monobuttersäureglycerinester. Monobutyryn, bei dieser Konzentration bereits löslich, doch wurde es als Substrat nur wenig benutzt wegen seiner größeren Eigenhydrolyse.

Diese beiden Körper sind von *Kahlbaum* bezogen worden.

Die folgenden Substrate sind von uns dargestellt worden.

Die Darstellung von dl-Mandelsäure-methyl-, -äthyl- und isoamyl-Ester erfolgte in der gewöhnlichen Weise aus der dl-Mandelsäure und den entsprechenden Alkoholen unter dem katalysatorischen Einfluß von HCl ¹⁾. Die Mandelsäure (Schmelzp. 118,5°) wurde im Vakuumexsikkator einen Tag getrocknet.

Die Alkohole wurden zur Entfernung der letzten Wasserspuren mehrere Stunden mit groben Stücken gebrannten Kalkes gekocht und dann destilliert:

CH_3OH , Siedep. 64 bis 65°,

C_2H_5OH , Siedep. 78°,

$(CH_3)_2CHCH_2CH_2OH$, Siedep. 131°.

Dann wurde trockenes HCl -Gas in die Alkohole unter Kühlung bis zu etwa 10 Proz. eingeleitet.

Zur Bereitung der Ester wurden je 25 g Mandelsäure mit 80 g HCl -haltigem Methyl-, 110 g Äthyl- und 200 g Isoamylalkohol versetzt und 4 bis 5 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Der größte Teil des überschüssigen Alkohols wurde dann abdestilliert und der Rückstand in die dreifache Menge H_2O gegossen. Der gebildete Ester schied sich dabei als Öl ab, der Methylester erstarrte bald zu Kristallen. Die Flüssigkeit wurde mit Na_2CO_3 neutralisiert und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Äthers hinterblieben die Ester als gelbliche Öle, wovon der Methylester alsbald unter Bildung weißer Kristalle erstarrte. Letzterer wurde aus einem Gemisch von Ligroin und Benzol (wenig) umkristallisiert. Ausbeute 19,5 g, 71,5 Proz. der Theorie. Weiße Kristalle, Schmelzp. 52,5°, gemäß den Angaben von *Rupe*²⁾.

Der Äthylester wurde bei 253° destilliert, ein gelbliches Öl, das nur langsam zu weichen, wieder leicht schmelzenden Kristallen erstarrt. Ausbeute 20,3 g, 68,5 Proz. der Theorie. Schmelzp. 34°, gemäß den Angaben von *Michael* und *Jeanprêtre*³⁾.

Der Isoamylester wurde im Vakuum destilliert, ein farbloses Öl. Siedep. 172 bei 11 mm Hg. Ausbeute 28,5 g, 72 Proz. der Theorie.

Zur Darstellung der optisch aktiven Methylester mußten erst aus der racemischen Mandelsäure die optischen Antipoden bereitet werden.

1) *E. Fischer* und *Speier*, Ber. 28, 3252, 1895.

2) Ebendasselbst 28, 251, 1895, Schmelzp. 52°.

3) Ebendasselbst 25, 1678. 1892, S. 1684: Schmelzpunkt 34° und Siedepunkt 250°.

d-Mandelsäure.

Die Darstellung von d-Mandelsäure aus der Racemverbindung mit Hilfe von Cinchonin ist zuerst von *Lewkowitzsch*¹⁾ und später von *Rimbach*²⁾ und *A. McKenzie*³⁾ beschrieben worden.

Es wurden gemäß diesen Vorschriften⁴⁾ 40 g Mandelsäure und 80 g Cinchonin (kristallisiert) mit 2 Liter H_2O versetzt und mehrere Stunden bis zur fast vollständigen Lösung auf dem Wasserbad erhitzt und am nächsten Morgen filtriert. Die klare Flüssigkeit wurde mit einigen Kristallen d-mandelsauren Cinchonins geimpft — die für die erste Bereitung auf einem Umwege in Spuren erhalten wurden, und zwar durch Versetzen eines kleinen Teiles der Lösung mit konzentrierter NaCl-Lösung; der ausgefallene Niederschlag enthält eine Spur von rechtsmandelsaurem Cinchonin (*Marckwald*) — und in den Eisschrank bei 6 bis 8° gestellt. Nach mehreren Tagen war die Kristallisation des d-mandelsauren Cinchonins beendet, das auf der Nutsche abgesaugt und auf einem Tonteller abgepreßt wurde, 43 g. Die Kristalle wurden dann noch zweimal aus H_2O (1 g Salz auf 25 ccm H_2O) unkristallisiert. Es wurde so reines d-mandelsaures Cinchonin gewonnen, das gemäß der Angabe von *McKenzie* einen Schmelzpunkt von 79° hat — wovon *Lewkowitzsch* nichts berichtet — dann aber wieder fest wird, um gegen 150° unter Verflüssigung sich zu zersetzen, in Übereinstimmung mit der Beschreibung von *Lewkowitzsch*.

Aus dem d-mandelsauren Cinchonin wurde in quantitativer Ausbeute die d-Mandelsäure folgendermaßen bereitet. Nach dem Auflösen in heißem H_2O auf dem Wasserbad wurde die Flüssigkeit mit NH_3 bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt und dann bis zur Abkühlung stehengelassen. Die Cinchoninbase schied sich dabei in feinen, weißen Nadeln ab, die nach längerem Stehen der Flüssigkeit in Eiswasser abgesaugt wurden. Das Filtrat wurde eingeengt, mit etwas NH_3 und einigen Cinchoninkristallen versetzt und längere Zeit in einer Kältemischung gelassen zur Entfernung der letzten Spuren von Cinchonin. Besonders wichtig ist diese analoge Operation für die Bereitung der l-Mandelsäure aus dem l-mandelsauren Morphin, da die Morphinbase in H_2O etwas leichter ist als das schwerlösliche Cinchonin. Das Filtrat wurde nach dem Versetzen mit H_2SO_4 mehrere Stunden mit Äther kontinuierlich extrahiert. Nach dem Abdampfen des Äthers hinterblieb die d-Säure in weißen Kristallen, die noch einmal aus Benzol umkristallisiert wurden. Schmelz. 131,5°.

Eine 0,4615proz. Lösung (durch Titration bestimmt) gab im 1,894 dm-Rohr ein α von + 1,36°, daraus folgt $[\alpha]_D^{20} = + 155,59^\circ$ [*Dakin* 157°, *Lewkowitzsch* 156°, *McKenzie* 158,2° und 158,7 ($c = 3,5187$ bzw. 3,9525)].

l-Mandelsäure.

Größere Schwierigkeiten bereitete anfänglich die Darstellung von l-Mandelsäure. Aus dem Filtrat von d-mandelsaurem Cinchonin sollten nach *Rimbach* sich Kristalle von l-mandelsaurem Cinchonin abscheiden. Doch konnten wir nach längerem Warten keine Kristalle erhalten. Andere

1) Ber. 16, 1568, 1883.

2) Ebendasselbst 32, 2385, 1899.

3) Journ. of the Chem. Soc. 75, 2, 964, 1899.

4) S. auch *Gattermann*, Praxis d. org. Chemikers 1922, S. 288 bis 289.

Alkaloide führten auch nicht in befriedigender Ausbeute und Reinheit zu der l-Säure (Chinin und Chinidin nach einer Angabe von *McKenzie*). Es wurde dann unternommen, aus dem Glucosid Amygdalin die l-Mandelsäure zu bereiten¹⁾. Die nur in schlechter Ausbeute gewonnene Säure war trotz mehrmaliger Umkristallisation aus Benzol leicht bräunlich gefärbt, wohl Spuren von l-Mandelsäurenitril. Eine 0,4562proz. Lösung in H₂O gab $\alpha = -1,313^\circ$, daraus folgt bei $d = 1,894$ dm $[\alpha]_D^{20} = -151,96^\circ$. Schmelzpunkt $131,5^\circ$.

In guter Ausbeute ließ sich leicht gemäß einer kurzen Angabe *McKenzies*²⁾ die l-Mandelsäure mit Hilfe des Morphins bereiten. Die Löslichkeitsunterschiede sind in absolutem Alkohol zwischen dem l- und d-mandelsauren Morphin sehr groß, so daß sich eine gute Darstellungsmöglichkeit ergab.

30 g Mandelsäure wurden in etwa 400 ccm H₂O gelöst und allmählich mit der Morphinbase unter Umrühren versetzt, die sich unter zunehmender Dunkelfärbung der Flüssigkeit auflöste, bis nach Zusatz von etwa 62 g Morphin die Lösung neutral reagierte. Die tief braun gefärbte Flüssigkeit wurde filtriert und auf dem Wasserbad auf etwa 100 ccm eingedampft zu einer dunklen, sirupösen Masse. Diese wurde unter Umrühren in 1 Liter absoluten Alkohols eingetragen und bis zum nächsten Tage sich selbst überlassen. Eine reichliche Menge von bräunlich weißen Kristallen, 29 g, hatte sich abgeschieden, die schon aus ziemlich reinem l-mandelsauren Morphin bestand. Nach zweimaliger Umkristallisation aus einer reichlichen Menge Alkohols wurden fast weiße, in H₂O leicht lösliche Kristalle gewonnen, die somit reines l-mandelsaures Morphin darstellten. Aus diesen wurde in der beschriebenen Methode mit NH₃ die l-Säure dargestellt, die dann noch einmal aus Benzol umkristallisiert wurde.

Weißer Kristallblättchen, Schmelzp. $131,5^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = -153,6^\circ$ (0,7831proz. Lösung in H₂O, $\alpha = -2,26^\circ$, $d = 1,894$).

[*Marckwald*³⁾ $[\alpha]_D^{23} = -153,3^\circ$, *Walden*⁴⁾ $-153,06^\circ$, *McKenzie* $-156,3^\circ$, *Lewkowitsch* $-156,4^\circ$, *Willstätter* -157°].

Die optisch aktiven Ester.

Aus den so bereiteten optisch aktiven Mandelsäuren wurde in der schon beschriebenen Art und Weise l- und d-Mandelsäuremethylester dargestellt. *P. Walden* beschreibt die Bereitung des l-Esters⁵⁾. Es mußte natürlich nur mit wesentlich kleineren Mengen gearbeitet werden: 2,5 g l- bzw. d-Säure + 10 g HCl-haltiger Methylalkohol wurden 4 Stunden in einem 50-ccm-Kölbchen erhitzt. Aus dem noch warmen Reaktionsgemisch wurde im Vakuum der größte Teil des Methylalkohols entfernt. Nach zweimaliger Umkristallisation wurden leichte, weiße, ineinandergewachsene Kristallmassen erhalten, die somit l- bzw. d-Mandelsäuremethylester darstellten. Der Schmelzpunkt ist in Übereinstimmung mit *Walden* zu $55,5^\circ$ (*Walden* gab 55° an für die l-Form) für beide Ester bestimmt worden, dl-Ester $52,5^\circ$.

¹⁾ *F. Wöhler*, Ann. **66**, 238, 1848; *Lewkowitsch*, Ber. **16**, 1565, 1883.

²⁾ l. c., S. 968.

³⁾ l. c., Ber. **32**, 2135.

⁴⁾ l. c., S. 706.

⁵⁾ Zeitschr. f. physik. Chem. **17**, 705, 1895.

Das spezifische Drehungsvermögen wurde für beide Ester sowohl in H_2O als auch in CS_2 ermittelt.

l-Ester: $[\alpha]_D^{20} = -253,10^\circ$ ($c = 0,2508$ in CS_2 , 2 dm; $\alpha = -1,27^\circ$),

$[\alpha]_D^{20} = -131,45^\circ$ ($c = 0,4679$ in H_2O , 1,894 dm; $\alpha = -1,23^\circ$),

d-Ester: $[\alpha]_D^{20} = +252,19^\circ$ ($c = 0,2508$ in CS_2 , 2 dm; $\alpha = +1,265^\circ$),

$[\alpha]_D^{20} = +133,55^\circ$ ($c = 0,4679$ in H_2O , 1,894 dm; $\alpha = +1,25^\circ$).

Über diese spezifischen Drehungsvermögen liegen noch folgende Angaben vor:

Walden¹⁾ für l-Ester in CS_2 $[\alpha]_D = -214,1^\circ$ ($c = 3,33$), $-217,0^\circ$ ($c = 1,67$), in Aceton $[\alpha]_D = 110,2^\circ$ ($c = 3,33$).

Fischer²⁾ für d-Ester in 5proz. Aceton $[\alpha]_D^{17} = +130^\circ$, Schmelzp. 55 bis 58°.

Guye und Aston³⁾ für l-Ester $[\alpha]_D^{33} = -145,4^\circ$ ohne Bezeichnung des Lösungsmittels.

b) Fermente.

Folgende „Lipasen“ wurden in den Kreis der Untersuchungen gezogen:

Schweineleberlipase,
Schweinepankreaslipase,
Rinderleberlipase,
Menschenleberlipase,
Menschenpankreaslipase,
Meerschweinchen Serumlipase,
Takalipase.

Die Meerschweinchen Serumlipase — auch kurz Serumlipase genannt — stand im Serum des Blutes der Tiere zur Verfügung, das durch Herzpunktion gewonnen wurde. Es wurde für die Versuche meistens in einer Verdünnung von 1:100, seltener 1:50, in Ringerlösung⁴⁾ benutzt und sonst im Eisschrank aufbewahrt für höchstens 4 Tage. Die Verdünnungen, auch die der anderen Fermente, wurden für jeden Tag frisch bereitet. Die gereinigtere Serumlipase wurde aus dem Serum folgendermaßen dargestellt⁵⁾. Der Zusatz von 6 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung zu 4 ccm Serum ergab einen flockigen Niederschlag, der fast alles Ferment enthielt und nach dem Zentrifugieren und Abgießen der überstehenden Flüssigkeit in 37proz. Glycerin aufgelöst wurde.

1) l. c., S. 707 bis 708. Der Unterschied zwischen der Angabe Waldens und unserem $[\alpha]_D$ ist ziemlich groß: 252 und 214°. Es kann dies zunächst an der Konzentration liegen. Zwischen Willstätters und Waldens Angaben von $[\alpha]_D$ der Äthylmandelate ist auch ein Unterschied: $[\alpha]_D^{18} = +189$ ($c = 2,446$), $[\alpha]_D^{18} = -190$ ($c = 2,83$) zu Walden: $[\alpha]_D^{18} = -180^\circ$ ($c = 2,5$), wobei hier allerdings die Konzentrationen gleich sind. Was den Wert von Fischer anbelangt, so hat die Lösung in 5proz. Aceton nahezu den Wert von unserem $[\alpha]_D$ für H_2O .

2) l. c., Zeitschr. f. physiol. Chem. 107, 198, 1919.

3) C. r. de l'Acad. des Sc. 124, 194, 1897.

4) Die Zusammensetzung der Ringerlösung s. S. 60.

5) Rona und Petow, l. c., S. 145.

Die Takalipase ist in Gestalt der Takadiastase, einem aus dem *Aspergillus oryzae* bereiteten Pulver, das die verschiedensten Fermente enthält, benutzt worden¹⁾. Für die Versuche in der *Warburg*-Apparatur wurden Aufschwemmungen des gelblichen Pulvers in Ringer benutzt, die in 0,5 ccm 10 bis 15 mg enthielten. Es wurde auch der Versuch unternommen, aus Kulturen des *Aspergillus oryzae*, auf Bierwürzagar gezüchtet, ein Fermentpräparat zu gewinnen. Doch waren diese nur sehr schwach wirksam.

Die Menschenpankreas- und -leberlipase wurde aus den entsprechenden Organen gleich nach der erfolgten Sektion hergestellt. Die fettfreie Leber wurde durch die Fleischmaschine getrieben und die breiige Masse mit Kieselgur und Sand gemischt und ausgepreßt. Das erste Präparat aus 34 Jahre alter männlicher Leiche, konnte nur einmal für einen asymmetrischen Verseifungsversuch benutzt werden. Das zweite Leberpräparat, es stammte, wie auch die Pankreasdrüse, aus einer 39 Jahre alten männlichen Leiche, erwies sich als völlig lipasefrei. Die durchgedrehte Pankreasdrüse wurde mit 87proz. Glycerin versetzt und filtriert. Die gelbliche Flüssigkeit wurde im Eisschrank aufbewahrt.

Von der Schweineleber wurde zunächst auch, wie *Dakin* es tat, ein Preßsaft in der beschriebenen Weise bereitet, aus dem für die asymmetrischen Verseifungsversuche der Preßsaft 20- bis 100fach verdünnt und für die *Warburgs*che Apparatur Verdünnungen 1 : 50 oder 1 : 100 angesetzt wurden. Die Preßsäfte wurden unter Toluol im Eisschrank aufbewahrt. Reinere Fermentpräparate wurden nach *Willstätters* Angaben bereitet²⁾.

Die Rinderleberlipase wurde nur in dem Ammoniakauszug untersucht. Die Schweineleber- und Pankreaslipase wurde zunächst im Glycerinauszug benutzt. Dann wurden sie nach *Willstätter* weiter gereinigt.

c) Die Hemmungskörper.

Als Gifte wurden folgende benutzt:

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------|
| 1. Chinin als Chlorid ³⁾ , | 11. Coffein als Base, |
| 2. Chinidin als Chlorid, | 12. Pilocarpin als Chlorid, |
| 3. Cinchonin als Chlorid, | 13. Morphin als Base, |
| 4. Cinchonidin als Chlorid, | 14. Nicotin als Chlorid, |
| 5. Egonin, | 15. Physostigmin als Salicylat, |
| 6. Cocain als Chlorid, | 16. Ergotamin als Tartrat, |
| 7. d-ψ-Cocain als Base, | 17. l-, d-, dl-Adrenalin, |
| 8. Hyoscyamin als Base, | 18. Atoxyl, |
| 9. Atropin als Sulfat, | 19. Trypaflavin. |
| 10. Homatropin als Base, | |

¹⁾ Herr Prof. *C. Neuberg* stellte uns liebenswürdigerweise ein englisches Präparat (Parke und Davis, London) zur Verfügung.

²⁾ *S. Willstätters* Arbeiten, I. c. Zeitschr. f. physiol. Chemie **125**, 161 und *Willstätter* und *Kraut*, Ber. **56**, 149, 1923.

³⁾ Den vereinigten Chininfabriken vorm. *Zimmer*, Frankfurt a. M., danken wir auch an dieser Stelle für Überlassung von Chinin und Chinidin.

Diese verschiedenen Stoffe wurden, soweit sie in Wasser löslich sind, in wässriger Lösung benutzt, die aber immer erst mit Lackmus geprüft und eventuell neutralisiert wurde.

Die als Base vorliegenden Körper wurden unter schwacher Erwärmung in verdünnter HCl oder H_2SO_4 gelöst und dann vorsichtig neutralisiert.

Die Giftkonzentrationen betragen 0,15 mg bis 30 mg pro 1 ccm¹).

Was die eigentliche Vergiftungstechnik anbetrifft, so wurden das Ferment (0,5 ccm) mit der Giftlösung (1 ccm) in dem Warburgtrog mindestens $\frac{1}{2}$ Stunde bei dem betreffenden p_H (s. S. 62) zusammengelassen, und dann wurde nach Ablauf dieser Zeit der Ester (0,5 ccm) hinzugefügt. Das unvergiftete Ferment stand mit 1 ccm Wasser dieselbe Zeit zusammen.

Die Methodik.

Zur Untersuchung der Fragen, der Verfolgung der fermentativen Esterspaltung, dienten zwei Methoden.

1. Die elektrotitrimetrische Methode nach *Rona* und *Ammon* verbunden mit der chemischen Aufarbeitung der Reaktionsflüssigkeit und
2. Die gasanalytische Methode nach *Rona* und *Lasnitzki*.

1a. Die elektrotitrimetrische Methode.

Bei der Untersuchung der asymmetrischen Verseifung des dl-Mandelsäuremethylesters, bei der also auch die vom Ferment gebildeten Produkte isoliert werden müssen, mußte eine Methode ausgearbeitet werden, die es gestattet, den zunehmenden Grad der Esterspaltung zu kontrollieren, um sie dann in irgend einem Stadium unterbrechen zu können.

Dakin hat einfach die Fermentlösung mit dem Ester versetzt — ohne Pufferzusatz — und nach längerem Stehen die Lösung mit Alkali neutralisiert und dann verarbeitet.

Willstätter verfuhr ähnlich, nur mit dem Unterschiede, daß er einen starken Natriumbicarbonat-Kohlensäurepuffer anwandte.

*Knaffl-Lenz*²⁾ stellt die Säurebildung bei der Esterverseifung durch Lipase durch die Farbänderung eines der Versuchslösung zugesetzten Indikators fest und bringt die Lösung durch Laugenzusatz immer wieder auf den alten Farbton zurück.

In Anlehnung an diese Arbeit von *Knaffl-Lenz* wird hier die Wasserstoffionenkonzentration dauernd kontrolliert, und stets durch Zugabe von Alkali auf die Ausgangswasserstoffionenkonzentration (die der neutralen Reaktion) zurückgebracht.

¹⁾ Herrn Oberapotheker Dr. *R. Steinbrück* möchten wir auch an dieser Stelle unseren wärmsten Dank aussprechen für die Besorgung einzelner Präparate oder deren Überlassung aus den Beständen der Charité-apotheke.

²⁾ Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 97, 242, 1923.

Es wurde eine Reihe von Vorversuchen angestellt. Zunächst eine elektrotitrimetrische Bestimmung einer Mandelsäurelösung von bekannter Konzentration, 4,8 ccm n/10 Mandelsäure (s. Abb. 1)¹⁾. Es wurden dann Mandelsäurebestimmungen in dieser Art ausgeführt nur bei Gegenwart von wirksamer oder abgetöteter Lipase, bei Gegenwart von Mandelsäuremethyl-ester und von sekundärem Ammoniumphosphat. (S. Abb. 2; Ermittlung von 5 ccm n/10 Mandelsäure in einem vorher elektrometrisch neutralisierten Gemisch von 15 ccm 1/2proz. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 2 ccm Glycerinauszug von Pankreaspulver, 1/2 g Mandelsäuremethyl-ester, in 1 ccm Toluol gelöst.)

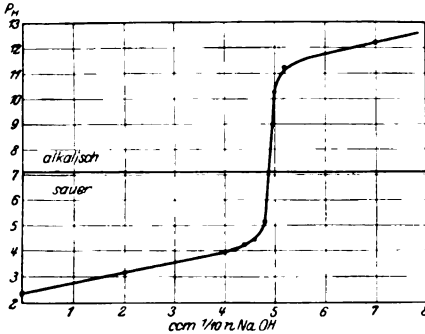


Abb. 1.

Bad etwa 10 cm tief eingesetzt ist, steht eine innen und außen paraffinierte, mit gesättigter Kaliumchloridlösung gefüllte, 11 cm hohe Glaswanne, in die das Abflußrohr der gesättigten Kalomelektrode (Anode) taucht, so daß die Elektrode selbst noch zu etwa ein Drittel im Wasserbad ist. Auf der Brücke steht ferner ein dickwandiges, etwa 120 ccm fassendes und 12 cm hohes Standglas, das mit der Versuchs-

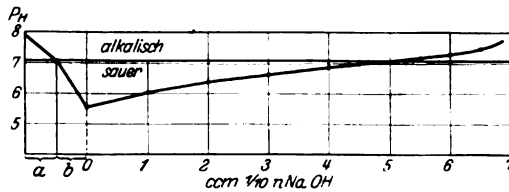


Abb. 2.

a Neutralisation mit n/10 CH_3COOH . b Zugabe von 5 ccm n/10 Mandelsäure.

lösung gefüllt ist. In diese Flüssigkeit taucht 1/2 cm tief eine Glockenelektrode (Kathode) ein. Durch einen Agarheber von dem Standglas in die KCl-Wanne sind beide Elektroden miteinander verbunden. Die Ab-

¹⁾ S. auch *Michaelis*, Praktikum der physik. Chem. 1922, S. 168 ff.; *E. Müller*, Elektrometrische Maßanalyse 1923, S. 146 ff.

²⁾ S. auch *P. Rona*, Fermentmethoden 1926, S. 103 bis 105.

leitungsdrähte der Elektroden gehen an die Gaskettenapparatur zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nach *L. Michaelis* und in späteren Versuchen, da es einfacher zu bedienen ist, an das Potentiometer nach *E. Mislowitz*¹⁾.

Um eine gute Durchmischung der Untersuchungsflüssigkeit zu gewährleisten, ist noch ein Rührer aus Glas angebracht, der durch eine besondere Konstruktion mit dem Rührwerk des Wasserbads in Verbindung gesetzt ist. Durch die Glockenelektrode geht während des Versuchs beständig Wasserstoffgas, das aus einem *Kipp*schen Apparat gewonnen wird.

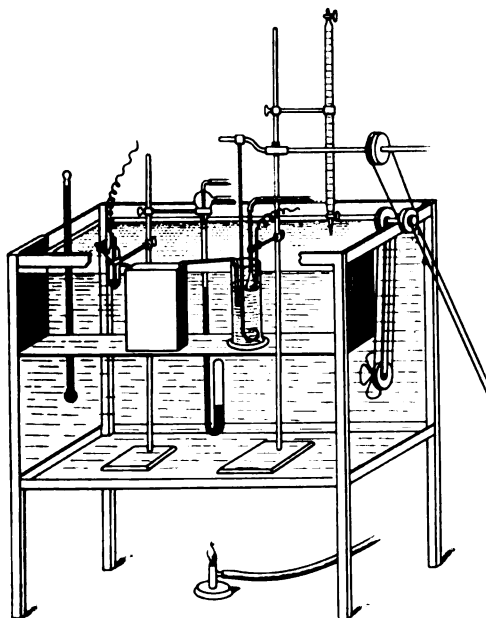


Abb. 3.

Da die fermenthaltigen Flüssigkeiten (z. B. Preßsaft) oft stark getrübt sind, so ist noch hinter dem Wasserbad eine kleine 2-Volt-Birne angebracht, die zum Leuchten gebracht wird, wenn es gilt, den Platindraht der Elektrode zu beobachten (wie tief und ob er bei einer Messung eintaucht).

Später ist noch ein Standgefäß mit einem zweiten Rührer, einer zweiten Glockenelektrode, einem anderen Agarheber in dasselbe KCl-Bad und einem Umschalter hinzugekommen, so daß zwei Versuche, der Haupt- und Kontrollversuch, gleichzeitig nebeneinander ausgeführt werden konnten.

Die Anfangswasserstoffionenkonzentration ist die der Neutralität (bei 37°, $p_{\text{H}} = 6,76$), auf die die Fermentlösung vor Zusatz des Esters gebracht wird und die auch im ganzen Versuch annähernd konstant bleiben muß

¹⁾ *E. Mislowitz*, diese Zeitschr. 159, 68, 1925.

(s. Abb. 4). Es ist durchaus nicht nötig, bei dem $p_H = 6,76$ (37°) zu arbeiten. Es sind auch Versuche bei $p_H = 7,07$ (37°) ausgeführt worden.

Die Versuche wurden immer in 100 ccm Gesamtflüssigkeit angesetzt, z. B. 4 ccm Fermentlösung + 96 ccm Wasser oder physiologisches NaCl, die in das Standglas eingefüllt werden. Der Glasrührer wird eingesetzt und mit dem Rührwerk verbunden. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde wird die Glockenelektrode angebracht und 10 Minuten Wasserstoffgas durchgeleitet. Jetzt hat der Inhalt des Standglases die Wasserbadtemperatur angenommen, und die platinierete Platinelektrode hat sich mit Wasserstoff beladen. Durch den Agarheber wird der Stromkreis geschlossen, der Wasserstoffstrom wird unterbrochen, so daß die Spitze des Platindrahts gerade noch eintaucht, und der Rührer auf Leerlauf gestellt. Es werden z. B. 595 Millivolt, folglich $p_H = 5,85$ gemessen. Durch tropfenweise Zugabe von $n/10$ NaOH unter Wasserstoffdurchleiten und Rühren wird die schwachsaure Lösung allmählich neutraler, bis schließlich bei einem Potentialunterschied von 651 Millivolt der Neutralitäts- p_H 6,76 erreicht ist. Zu der so neutralen Lösung wird der racemische Mandelsäuremethylester, in 1 ccm Toluol gelöst, gefügt unter Notierung des Zeitpunkts. Nachdem durch stärkeres Rühren und Durchleiten von Wasserstoffgas das Toluol entfernt ist (10 bis 20 Minuten), wird also der p_H des Inhalts des Standglases durch dauernde

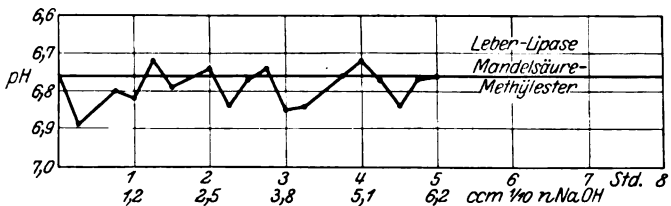


Abb. 4.

Messungen kontrolliert, und wenn nötig, durch Zusatz von $n/10$ NaOH auf etwa 6,76 gehalten. In Abb. 4 ist auf der Abszisse die Zeit abgetragen, mit der zu der bestimmten Zeit verbrauchten NaOH-Menge. Auf der Ordinate sind die p_H -Werte um 6,76 herum aufgetragen.

Die Menge zugegebener NaOH gibt ein Urteil über die Menge entstandener Mandelsäure (elektrometrische Mandelsäure). In einem Kontrollversuch muß dann noch die Eigenverseifung des Esters ermittelt werden, in dem man sonst genau so arbeitet, aber nur eine gekochte Fermentlösung benutzt.

1b. Die chemische Aufarbeitung der Lösung.

Die Isolierung der Mandelsäure erfolgte im wesentlichen gemäß den Angaben Dakins. Nach Herstellung der Neutralität wurde die Lösung in ein Becherglas übergespült und sofort aufgeköcht zwecks Abtötung des Ferments. Die mit Eiweißflocken durchsetzte Flüssigkeit wurde in einen größeren Scheidetrichter filtriert, zweimal mit Äther durchgeschüttelt und auf dem Wasserbad auf etwa 10 ccm eingeengt. Nun wurde sie in das Extraktionsgefäß eines Extraktionsapparats für Flüssigkeiten (nach Kempf), der für diese geringe Flüssigkeitsmenge entsprechend umgearbeitet worden war und sich sehr bewährt hat, 6 Stunden kontinuierlich mit Äther extrahiert.

Die esterhaltigen Äthermengen wurden vereinigt, und der Äther wurde abdestilliert.

Nachdem die Flüssigkeit so von den letzten Spuren unverseiften Esters befreit worden ist, wird sie in eine Porzellanschale übergespült und wieder auf dem Wasserbad auf wenige Kubikzentimeter eingengt, in das Extraktionsgefäß filtriert, mit etwa 4 ccm verdünnter H_2SO_4 versetzt, zur Freisetzung der Mandelsäure, und wieder der Ätherextraktion für 6 Stunden unterworfen. Aus dem mandelsäurehaltigen Äther, der noch mit wenigen Kubikzentimetern Wasser gewaschen wurde zur Entfernung von etwa mitgerissener H_2SO_4 , wurde der Äther abdestilliert.

Die Rückstände, der Esterrückstand und die isolierte Mandelsäure, wurden je in kleine 20-ccm-Erlenmeyerkölbchen mit Äther übergespült und auf einem elektrischen Heizbad vom überschüssigen Äther vorsichtig befreit. Nach eintägigem Stehen im Vakuumexsikkator hinterblieben der unverseifte Ester (zurückgewonnener Ester) als schwer kristallisierendes Öl und die Mandelsäure in weißen Kristallen.

Zur polarimetrischen Untersuchung wurden diese nach dem Wägen (gravimetrische Mandelsäure) in wenig Wasser gelöst und in ein Polarisationsrohr (13 ccm Inhalt, $l = 1,894$ dm) quantitativ einfiltriert. Doch erwies sich diese Lösung oft als ungeeignet für die polarimetrische Messung, da sie zu trübe war. Sehr gut hat sich dann ein Eindampfen der wässrigen Lösung auf dem Wasserbad bis zur Bildung der ersten Kristalle bewährt. Nach dem Wiederauflösen und Filtrieren war die Lösung vollkommen klar. Die Polarisierungen wurden bei 20° und mit D-Licht ausgeführt. Zur Bestimmung der Menge optisch aktiver Mandelsäure (aktive Mandelsäure) diente als spezifisches Drehungsvermögen für die beiden Modifikationen der Mandelsäure $[\alpha]_D^{20} = \pm 156,5^\circ$, der Mittelwert von $+156^\circ$ (*Lewkowitsch*) und $+157^\circ$ (*Dakin*). Nach der Polarisation wurde der Gesamtgehalt an Mandelsäure durch Titration mit $n/10$ NaOH in der Siedehitze mit Phenolphthalein als Indikator ermittelt (titrimetrische Mandelsäure).

2. Die gasanalytische Methode.

Für die exakten kinetischen Untersuchungen, bei denen eine Aufarbeitung der Reaktionsflüssigkeit nicht in Frage kam, war die zweite Methode¹⁾ der ersten bedeutend überlegen: 1. wegen der größeren Genauigkeit und Empfindlichkeit und 2. wegen der Möglichkeit, Reihenversuche anzusetzen zu können.

Der Nachweis der bei der Verseifung des Esters durch das Ferment gebildeten Säure erfolgt auf gasanalytischem Wege, und zwar durch manometrische Bestimmung der CO_2 -Menge, die aus der angewandten bicarbonathaltigen Ringerlösung von der entstandenen Fettsäure in Freiheit gesetzt wird. Diese Methode ist eine Anlehnung an die von *Warburg* zuerst für die Assimilation der Pflanzen- und für den Stoffwechsel der Carcinomzelle begründete Methodik²⁾.

¹⁾ *Rona* und *A. Lasnitzki*, diese Zeitschr. **152**, 504, 1924; **163**, 197, 1925; **173**, 207, 1926; *Rona*, Fermentmethoden 1926, S. 106.

²⁾ *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919; **142**, 317, 1923; **152**, 51, 1924.

Was die Füllung der Tröge anlangt¹⁾, so enthielten sie immer insgesamt 2 ccm Flüssigkeit, und zwar setzten sich diese 2 ccm aus

0,5 ccm Fermentlösung (*F*) bzw. Ringer (*R*₃₀),
1 „ H₂O bzw. Giftlösung und
0,5 „ Esterlösung bzw. -emulsion (*E*)

oder auch

0,5 ccm Ferment und
1,5 „ Ester

zusammen.

Die Ferment- und Esterlösungen bzw. Emulsionen wurden mit Ringerlösung von folgender Zusammensetzung (*R*₃₀): 100 ccm 0,9proz. NaCl + 2 ccm 1,2proz. KCl + 2 ccm 1,76proz. CaCl₂ (kristallisiert) + 30 ccm 1,26proz. NaHCO₃ hergestellt. Diese wurden dann nach jedesmaliger frischer Bereitung (2 bis 3 Tage) mit dem Gasgemisch gesättigt.

Zur Kontrolle wurde noch die Eigenhydrolyse des Esters ohne Fermentzugabe mit und ohne Giftzusatz beobachtet. Es wurden nur immer sehr kleine positive Ausschläge gemessen. Ein Schema für einen Vergiftungsversuch sieht folgendermaßen aus:

App. 7	2	3	4	1	10	9
0,5 F. 1,0 H ₂ O 0,5 E.	0,5 R ₃₀ 1,0 H ₂ O 0,5 E.	0,5 F. 1,0 Gift ₁ 0,5 E.	0,5 R ₃₀ 1,0 Gift ₁ 0,5 E.	0,5 F. 1,0 Gift ₂ 0,5 E.	0,5 R ₃₀ 1,0 Gift ₂ 0,5 E.	2 ccm H ₂ O (Therm.)

oder auch für einen anderen:

0,5 F. 0,5 R₃₀ 2 ccm H₂O
1,5 E. 1,5 E.

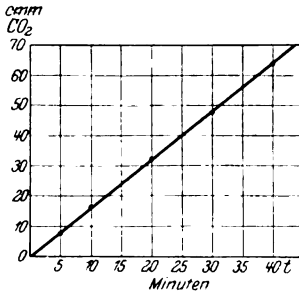


Abb. 5.

Die geringen positiven Ausschläge die das Ferment selbst nur in Ringerlösung ergab, konnten wir ganz vernachlässigen. Vor Benutzung eines neuen Ferments haben wir diesen Kontrollversuch immer angestellt.

Die Zahlen für die Fermentkonzentrationen, Gift- und Substratmenge, beziehen sich immer auf die eingefüllte Flüssigkeitsmenge.

Abb. 6, verbunden mit Tab. I, ist ein Beispiel für einen einfachen Spaltungsversuch:

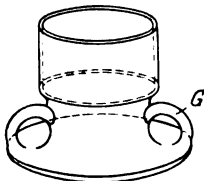


Abb. 5.

¹⁾ Die spezielle Beschreibung s. *Warburg*, l. c.; *Rona*, Fermentmethoden 1926, S. 107 bis 111; *Rona* und *Nicolai*, l. c. Der Trog, der für unsere Untersuchungen diente, war ein etwa 5 ccm fassendes, mit einem Fuße und zwei Griffen (*G*) versehenes Gefäß (Abb. 5), das mittels eines Schliffes an dem Hahn des Manometers befestigt werden kann.

Tabelle I.

VII $K = 0,475. M = 8,0$ 2 ccm H ₂ O Thermobarometer	II $K = 0,609. M = 5,5$ 0,5 F. Serum 13 1:100 1,0 H ₂ O 0,5 E. 2proz. Tributyrin	III $K = 0,565. M = 4,5$ 0,5 R ₃₀ 1,0 H ₂ O 0,5 E.	Zeit Min.
mm Brodie.			
8,05	6,55	1,40	0
8,05	7,90 1,35 13,5	1,50 0,10 1,0	5
8,15 (—) 0,10	9,60 3,05 29,5	1,80 0,40 3,0	10
7,80 (—) 0,25	12,35 5,80 60,5	2,00 0,60 8,5	20
8,20 (—) 0,15	15,15 8,60 84,5	2,30 0,90 7,5	30
8,20 (—) 0,15	18,20 11,65 115,0	2,65 1,25 11,0	40
cmm CO ₂ .			
	8,2 — 0,6 7,6	0,6	5
	17,9 — 1,7 16,2	1,7	10
	36,8 — 4,8 32,0	4,8	20
	51,5 — 4,2 47,3	4,2	30
	70,0 — 6,2 63,8	6,2	40

Es mußten noch die Apparate untereinander stimmen. Zu diesem Zwecke wurden die Tröge alle mit derselben Ferment- und Estermenge versetzt (0,5 ccm Meerschweinchenserum 1 : 100 und 1,5 ccm 2proz.

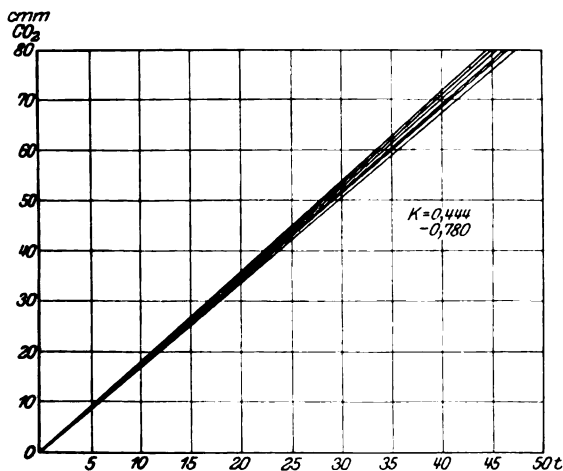


Abb. 7.

Tributyrinemulsion). Die berechneten CO₂-Mengen müssen für die Zeiteinheit dieselben sein (s. Abb. 7, Versuch mit sechs Apparaten, deren Gefäßkonstanten Werte von 0,444 bis 0,780 haben).

Die Wasserstoffionenkonzentration und Kinetik.

Die Wasserstoffionenkonzentration der Untersuchungsflüssigkeit ist bei der elektrotitrimetrischen Methode die der neutralen Reaktion, also $h = 1,77 \cdot 10^{-7}$, $p_H = 6,76$ bei 37° , die ohne eigentliche Zugabe eines Puffers konstant gehalten wird. Anfänglich wurden die Versuche bei einem p_H von 7,07 angestellt, da die optimale Wirkung der Pankreaslipase mehr auf der alkalischen Seite liegt. Im alkalischen Medium ist aber auch die Eigenverseifung des Esters eine größere und daher wurde später durchweg bei dem Neutralitäts- p_H gearbeitet.

Bei der gasanalytischen Methode ist das p_H festgelegt durch die Konzentration des Bicarbonats der Ringerlösung und der freien Kohlensäure, vorausgesetzt, daß sich dies Verhältnis im Versuch nicht sehr ändert, was sich auch einrichten läßt. Gelegentliche p_H -Bestimmungen des Inhalts der Tröge vor und nach dem Versuch und der angewandten Ringerlösung in der Doppelchinhydronelektrode nach *Mislowitzer* in Verbindung mit dem Potentiometer ergaben im Durchschnitt den Wert $p_H = 7,63$.

*Hasselbalch*¹⁾ hat für eine etwas weniger starke bicarbonathaltige Ringerlösung — R_{20} , 0,015 molar — unter sonst gleichen Bedingungen ein p_H von 7,46 berechnet²⁾. Eine durch die etwas größere Alkalität bedingte kleine CO_2 -Retention, hinzu käme noch eine ganz minimale Fermentlösungsretention, haben wir ganz vernachlässigen können.

Für den Verlauf der fermentativen Esterspaltung ist bei allen untersuchten Lipasen und den angeführten Substraten unter den von uns gewählten Bedingungen die Reaktion nullter Ordnung, der lineare Spaltungsverlauf, festgestellt worden. Diese Befunde stehen zunächst in einem gewissen Widerspruch zu den Angaben von *Rona* und Mitarbeitern³⁾, die bei den Untersuchungen mittels der stalagmometrischen Methode nach *Rona* und *Michaelis* den monomolekularen Reaktionsverlauf behaupten. Bei dieser Methode sind die Substratkonzentrationen wesentlich geringer wegen der Schwerlöslichkeit des Tributyrins. Der in jedem Augenblick verschwindende Bruchteil der Substratmenge ist dann nur noch ein ganz bestimmter Teil der unangegriffenen Substratmenge. Dasselbe ist der Fall, wenn Hydrolysen bis zu 90 Proz. angestellt wurden; dann bogen die Geraden um. Hier

1) Diese Zeitschr. 78, 121, 1917.

2) S. auch *Warburg*, l. c.

3) l. c.

ist dann also die Estermenge auch nicht mehr unendlich groß gegenüber der Fermentmenge. Hinzu kommt noch die hemmende Wirkung der Spaltprodukte.

In Übereinstimmung mit *Rona* und *Lasnitzki*¹⁾ und *Knaffl-Lenz*¹⁾ ist der lineare Verlauf festgestellt [s. Abb. 8 und 9²⁾].

Ebenfalls in Übereinstimmung mit *Rona* und *Lasnitzki*¹⁾ wurde gefunden, daß bei höherer Fermentkonzentration die Geraden umbiegen.

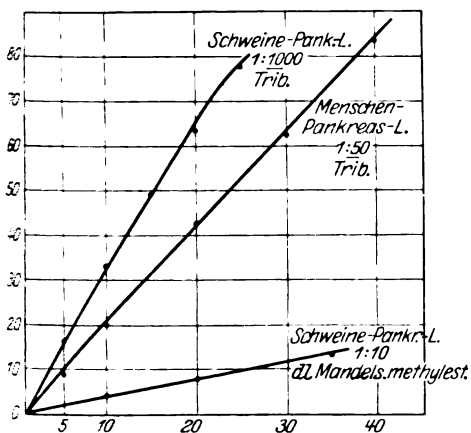


Abb. 8.

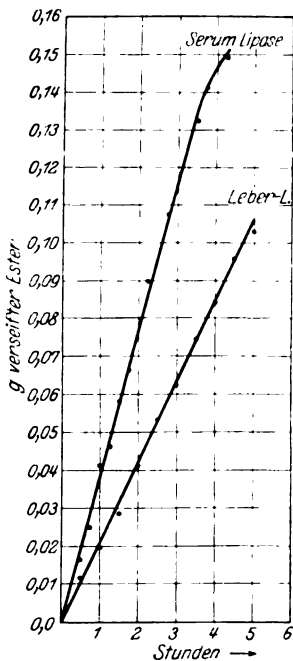


Abb. 9.

Der lineare Verlauf erlaubte die Anwendung des offenen Troges, so daß der erste Teil der Spaltung fortfiel und wir aus der Linie gewissermaßen ein Stück herausgriffen.

Die lineare Spaltung gibt in einfacher Weise eine Formel für die Berechnung der Hemmung:

$$H = \frac{K_0 - K}{K_0} \cdot 100,$$

wo K_0 die Geschwindigkeitskonstanten für das unvergiftete, x_0/t , und K , x/t , die für das vergiftete Ferment bedeuten.

¹⁾ l. c.

²⁾ Die Versuche nach Abb. 8 sind in der gasanalytischen und die nach Abb. 9 in der elektrotitrimetrischen Apparatur ausgeführt.

Die stereochemische Spezifität.

Meerschweinchenserumlipase¹⁾.

Die Meerschweinchenserumlipase bevorzugt in dem racemischen Mandelsäuremethylester den l-Anteil, sie ist also linksorientiert²⁾ (siehe Tabelle II und Abb. 10 und 13).

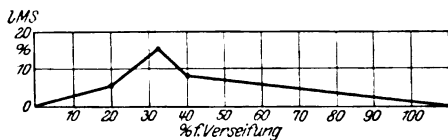


Abb. 10.

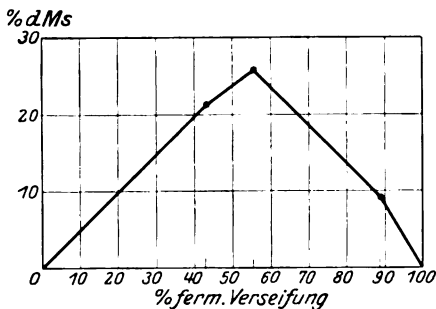


Abb. 12.

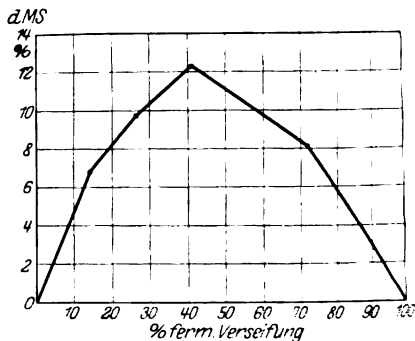


Abb. 11.

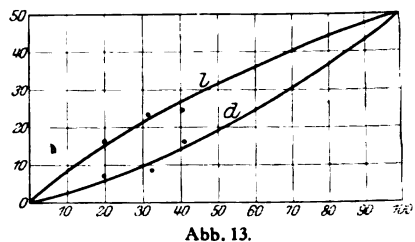


Abb. 13.

In Abb. 10, 11 und 12 sind auf der Abszisse die Werte für die prozentuale fermentative Verseifung des Esters und auf der Ordinate die zu jeder Verseifung gefundenen Prozentzahlen an optisch aktiver Säure aufgetragen. Es muß bei zunehmender Verseifung des Esters der Überschuß an optisch aktiver Säure in der vom Ferment in Freiheit gesetzten Säure abnehmen, um bei einer Verseifung von 100 Proz. ganz fortzufallen.

¹⁾ Vgl. S. 53.

²⁾ Unter dem Worte „orientiert“ verstehen wir die Bevorzugung der einen Komponente in der Racemverbindung des Esters; ein Ferment ist linksorientiert, wenn die von dem Ferment aus dem racemischen Ester in Freiheit gesetzte Säure einen mehr oder weniger großen Gehalt an l-Säure aufweist, rechtsorientiert, wenn die isolierte Mandelsäure eine Beimengung von der d-Form enthält.

Eine andere Darstellung dieser so charakteristischen Eigenschaft der Lipasen folgt aus den Abb. 13 bis 15. Hier sind auf der Abszisse der Totalumsatz und auf der Ordinate der zugehörige Partialumsatz für die d- und l-Formen aufgetragen; z. B. bei einer Verseifung von 40 Proz. sind 8 Proz. aktive Säure (Überschuß) gefunden, mithin an racemischer Säure $40 - 8 = 32$ Proz., davon sind aber wieder $32:2 = 16$ Proz. d- und l-Säure, im ganzen sind also bei 40 Proz. Totalverseifung 16 Proz. d- und 24 Proz. l-Säure erhalten worden.

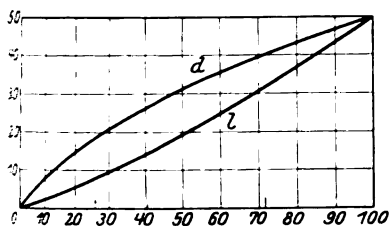


Abb. 14.

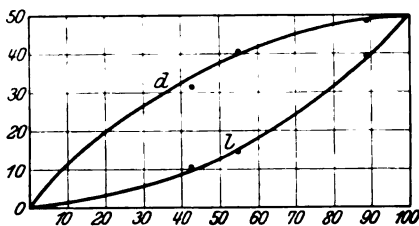


Abb. 15.

Der unverseift zurückgebliebene Ester muß auch optisch aktiv sein infolge seines Gehalts an dem weniger schnell von dem Ferment angegriffenen aktiven Bestandteil des racemischen Esters.

Zur Feststellung der optischen Aktivität des Esterrückstandes wurde der von Versuch 1 (0,0725 g) in eine Porzellanschale übergespült und mit verdünnter NaOH unter Wasserzugabe längere Zeit auf dem Wasserbad erwärmt. Die Flüssigkeit wurde dann mit Schwefelsäure versetzt und mehrere Stunden mit Äther kontinuierlich extrahiert.

0,0672 g gravimetrische Ms.¹⁾, 0,0593 g titrimetrische Ms., $\alpha = -0,05^\circ$, d. f. 0,0022 g aktive Ms., 3,71 Proz. d-Mandelsäure.

Menschenleberlipase²⁾.

12 ccm Leberpreßsaft und 88 ccm physiologisches NaCl wurden nach der Neutralisation mit 0,2076 g dl-Methylester versetzt. Nach $3\frac{1}{2}$ Stunden sind insgesamt 5 ccm n/10 NaOH hinzugefügt, d. h. 40 Proz. des Esters verseift worden. Ein Kontrollversuch wurde nicht angesetzt.

0,0760 g elektrometrische Mandelsäure,

0,0701 g gravimetrische Mandelsäure,

0,0684 g titrimetrische Mandelsäure,

0,0149 g aktive Mandelsäure,

$\alpha = -0,34^\circ$.

21,8 Proz. l-Mandelsäure.

¹⁾ Ms. = Mandelsäure.

²⁾ Vgl. S. 54.

Tabelle II.

Ver- such	Fermentmenge und Reinheitsgrad	Ester *) g	t	$\frac{1}{10}$ NaOH ccm	Verseifung Kontrollabzug		Ms. elektrometr.	Ms. gravimetr.	Ms. titrimetr.	Ms. aktiv	α	Aktive Ms. Proz.
					ohne	mit						
1	3 ccm Serum in physiol. NaCl	0,2839	4h15'	9	52,62	40,8	0,1368	0,1563	0,0760	0,0063	-0,143 ^o	8,30
2		0,2772	3 5	4,5	26,94	19,7	0,0684	0,0808	0,0638	0,0033	-0,075	5,17
3		0,2750	4 30	7,4	44,66	32,5	0,1125	0,1185	0,1034	0,0157	-0,358	15,12

*) Inner dl-Mandelsäuremethylester.

Tabelle III.

Ver- such	Fermentmenge und Reinheitsgrad	Ester g	t	$\frac{1}{10}$ NaOH ccm	Verseifung Kontrollabzug		Ms. elektrometr.	Ms. gravimetr.	Ms. titrimetr.	Ms. aktiv	α	Aktive Ms. Proz.
					ohne	mit						
1	10	0,2714	4h10'	3,2	19,15	14,10	0,0486	0,0550	0,0456	0,0031	+0,070 ^o	6,80
2	20	0,2994	1 30	5,0	27,80	26,18	0,0760	0,0744	0,0737	0,0074	+0,168	9,73
3	20	0,3046	3 00	8,0	44,02	40,53	0,1216	0,1126	0,1094	0,0135	+0,306	12,34
4	20	0,1509	4 00	7,0	77,00	71,86	0,1064	0,0945	0,0927	0,0075	+0,170	8,09

Tabelle IV.

Ver- such	Fermentmenge und Reinheitsgrad	Ester g	t	$\frac{1}{10}$ NaOH ccm	Verseifung Kontrollabzug		Ms. elektrometr.	Ms. gravimetr.	Ms. titrimetr.	Ms. aktiv	α	Aktive Ms. Proz.
					ohne	mit						
1	0,5 g	0,2791	5h00'	7,6	45,21	42,80	0,1155	0,1021	0,1018	0,0216	+0,490 ^o	21,21
2	0,75 g	0,2745	5 00	9,5	57,45	55,04	0,1444	0,1438	0,1414	0,0365	+0,830	25,86
3	1 g	0,1911	5 15	10,5	91,21	88,70	0,1596	0,1244	0,1214	0,0109	+0,249	9,04

Die hier benutzte Menschenleberlipase ist also linksorientiert. Aus Mangel an Material konnte leider mit diesem Preßsaft nur ein Versuch ausgeführt werden. An und für sich sind sicherlich die Lipasen und im allgemeinen die Fermente, die aus den menschlichen Organen erst eventuell nach längerer Krankheit zur Untersuchung gelangen, wenig günstig. Ein zweites Leberpräparat erwies sich, wie auch oben erwähnt, als unwirksam.

*Rinderleberlipase*¹⁾.

Die Rinderleberlipase ist rechtsorientiert (s. Abb. 11 und 14 und Tabelle III).

*Takalipase*²⁾.

Die Takalipase ist auch rechtsorientiert, wie *Willstätter* es bereits zeigte (s. Tabelle IV und Abb. 12 und 15).

Für die nachfolgend beschriebenen Versuche mit Schweineleber- und Schweinepankreaslipase gelten folgende Abkürzungen für die Anwendungsform (Reinheitsgrad) des Ferments: *P* = Preßsaft, *A* = Glycerinauszug, *B* = erste Elution, NH_3 = Ammoniakauszug.

*Schweineleberlipase*³⁾.

Die Schweineleberlipase ist gemäß *Dakin* und *Willstätter* wie die Takalipase und Rinderleberlipase rechtsorientiert (s. Tabelle V).

Zu beachten ist das Resultat, daß die optische Auswahl im Glycerinauszug eine bedeutend kleinere ist. Leider konnte hier zum Vergleich nicht ein und dasselbe Fermentpräparat angewandt werden.

Die mit * versehenen Versuche sind Vergiftungsversuche, und zwar Versuch 9 und 12 mit Chinin und Versuch 13 mit Chinidin⁴⁾. Wie zu ersehen ist, hat die Alkaloidzugabe das Ferment zwar gehemmt, aber auf ihr auswählendes Verhalten keinen Einfluß ausgeübt, wenn man diese Versuche mit den Versuchen mit unvergiftetem Ferment vergleicht, und zwar Versuch 9 mit 8, Versuche 12 und 13 mit Versuch 11⁵⁾.

In Versuch 14 ist der unverseift zurückgebliebene Ester, 0,057 g, in absolutem Alkohol aufgelöst und polarisiert worden. Er erwies sich als linksdrehend, $\alpha = -0,46^\circ$.

¹⁾ Vgl. S. 54.

²⁾ Vgl. S. 54.

³⁾ Vgl. S. 54.

⁴⁾ Vgl. S. 75.

⁵⁾ Siehe auch *Willstätter*, *Naturw.* 14, 941, 1926.

Tabelle V.

Versuch	Fermentmenge und Reinheitsgrad	Ferment Präparat	Ester g	t	1% NaOH cem	Versäufung Kontrollabzug		Ms. elektrometr.	Ms. gravimetr.	Ms. titimetr.	Ms. aktiv	α	Aktive Ms. Proz.
						ohne	mit						
1	15 cem A	I	0,3415	15h30'	10,5	51,04	43,27	0,1596	0,2983	0,1155	0,0057	+ 0,13 ^o	4,90
2	10 " A	I	0,3604	4 15	8,3	38,22	32,46	0,1261	0,2629	0,1033	0,0057	+ 0,13	5,50
3	15 " A	I	0,3899	6 40	14,1	62,60	56,20	0,2143	0,2972	0,1739	0,0105	+ 0,24	6,00
4	10 " A	I	0,4754	3 30	9,0	31,41	27,57	0,1368	0,2329	0,1262	0,0044	+ 0,10	3,49
5	2,5 " P	II	0,2923	1 30	4,4	24,85	21,68	0,0669	0,0506	0,0349	0,0057	+ 0,13	16,30
6	5 " P	II	0,2907	4 15	17,2	98,21	93,35	0,2620	0,2653	0,2341	0,0666	+ 0,15	2,87
7	5 " P	II	0,3360	3 45	14,0	69,46	64,28	0,2130	0,2271	0,1824	0,0392	+ 0,89	21,48
8	4 " P	III	0,2969	3 5	8,0	44,72	—	0,1216	0,1105	0,0958	0,0185	+ 0,42	19,31
9*	4 " P	III	0,2857	4 35	8,0	46,47	—	0,1216	0,1168	0,1064	0,0220	+ 0,50	20,67
10	4 " P	III	0,2974	3 15	8,0	44,65	—	0,1216	0,1297	0,1124	0,0202	+ 0,46	18,00
11	4 " P	III	0,2986	2 30	6,0	33,35	—	0,0912	0,1312	0,0669	0,0172	+ 0,39	25,71
12*	4 " P	III	0,2946	3 00	6,0	33,81	—	0,0912	0,0832	0,0350	0,0075	+ 0,17	21,43
13*	4 " P	III	0,2967	3 20	7,0	39,50	—	0,1064	0,0971	0,0851	0,0207	+ 0,47	24,32
14	2,5 " P	IV	0,1629	3 30	5,6	57,09	—	0,0851	0,0755	0,0631	0,0224	+ 0,51	41,30

Tabelle VI.

1	10 cem B	I	0,8312	5h15'	11,0	21,90	19,20	0,1672	0,1946	0,1641	0,0268	— 0,61 ^o	16,34
2	10 " B	I	0,9145	7 00	12,3	22,32	17,97	0,1869	0,3936	0,1717	0,0184	— 0,42	10,71
3	15 " B	I	0,5676	6 15	11,0	32,17	24,38	0,1672	0,1520	0,1345	0,0193	— 0,44	14,35
4	15 " B	I	0,5724	7 15	12,0	34,78	27,57	0,1824	0,1925	0,1535	0,0127	— 0,29	8,27
5	20 " B	I	0,4609	7 00	11,0	39,61	31,52	0,1672	0,4072	0,0988	0,0141	— 0,32	14,17
6	10 " A	II	0,4672	5 00	17,0	60,40	56,50	0,2584	0,3717	0,1867	0,0268	— 0,61	14,35
7	10 " A	II	0,4799	5 30	19,5	59,49	53,78	0,2629	0,3139	0,1998	0,0228	— 0,52	10,31
8	20 " A	II	0,4498	25 00	25,5	94,10	85,58	0,3876	0,5646	0,2903	0,0035	— 0,08	1,20
9	10 " A	III	0,2830	2 15	7,0	41,06	—	0,1520	0,1329	0,0775	0,0172	— 0,39	22,33
10	10 " A	III	0,2815	2 15	7,0	41,06	—	0,1520	0,1438	0,0714	0,0132	— 0,30	18,48
11	4 " P	III	0,2938	4 10	6,0	33,90	—	0,0912	0,1042	0,0654	0,0016	— 0,03	2,44
12	4 " P	III	0,2098	5 35	6,0	33,41	—	0,0912	0,0932	0,0737	0,0018	— 0,04	2,44
13	20 " H ₂ N	IV	0,2848	4 15	5,5	32,09	—	0,0836	0,0893	0,0578	0,0066	— 0,15	11,42

*Schweinepankreaslipase*¹⁾.

Die Schweinepankreaslipase ist linksorientiert wie die Meer-schweinchenserum- und Menschenleberlipase gemäß den *Willstätterschen* Befunden (s. Tabelle VI). Die optisch auswählende Spaltung ist beim Preßsaft bedeutend weniger ausgeprägt (vgl. Versuche 9 bis 12) als beim Glycerinauszug.

Zusammengefaßt zeigt die folgende Tabelle die optische Orientierung der von uns untersuchten Fermente:

Art der Lipase	Drehung der schneller gespaltenen Komponente des Mandelsäuremethylesters
Schweineleberlipase	+
Schweinepankreaslipase	—
Menschenleberlipase	—
Rinderleberlipase	+
Meerschweinchenserumlipase	—
Takalipase	+

Den weiteren Ausbau der stereochemischen Spezifität in bezug auf die Anwendung der reinen optisch aktiven Ester glaubten wir in der *Warburgschen* Apparatur untersuchen zu können. Nach den bisherigen Erfahrungen ist zu erwarten, daß ein linksorientiertes Ferment mit größerer Geschwindigkeit den reinen l-Ester spaltet als die d- und dl-Form und ein rechtsorientiertes Ferment umgekehrt, so daß eventuell ganz auf die polarimetrische Untersuchung, auf das Isolieren der gebildeten Säure aus dem racemischen Ester verzichtet werden kann. Das ist aber nach unseren Ergebnissen nicht der Fall. Die Lipasen können, wenn sie auf reine optisch aktive Substrate einwirken, Eigenschaften zeigen, die von dem Verhalten des Ferments gegenüber der Racemverbindung abweichen.

*Willstätter*²⁾ weist auf eigene Untersuchungen hin bei der auswählenden Vergärung von α - und β -Glucose. In einem Gemisch beider Glucosen wird die α -Glucose vorgezogen, liegen aber die einzelnen Formen vor, so werden beide mit gleicher Geschwindigkeit zersetzt.

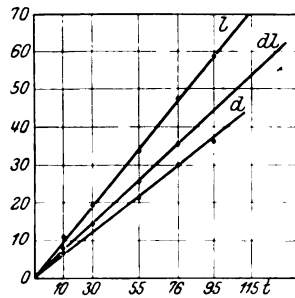


Abb. 16.

Was zuerst die Schweinepankreaslipase anlangt, so konnte das *Willstättersche* Ergebnis (vgl. S. 49) bestätigt werden. Abb. 16

¹⁾ Vgl. S. 54.

²⁾ *Willstätter* und *Sobotka*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **123**, 164, 1922; **123**, 170, 1922; **123**, 176, 1922.

zeigt die Spaltung von d-, l- und dl-Mandelsäuremethylester (genau 2proz. Lösung) durch Schweinepankreaslipase (Glycerinauszug). Wie zu sehen ist, wird der l-Ester am stärksten hydrolysiert, dann folgt der dl-Ester und schließlich der d-Ester. Die Spaltung des dl-Esters ist in bezug auf die des l-Esters um 23,9 Proz., die des d-Esters in bezug auf die des l-Esters um 36,2 Proz., die des d-Esters in bezug auf die des dl-Esters um 16,2 Proz. geringer. Oder auch: in 100 Minuten sind vom l-Ester 2,72 Mikromol, vom dl-Ester 2,12 Mikromol, vom d-Ester 1,74 Mikromol gespalten worden.

Ein überraschendes Ergebnis wurde aber bei Anwendung der Schweineleberlipase erhalten (s. Abb. 17 und 18). Diese sonst rechts-

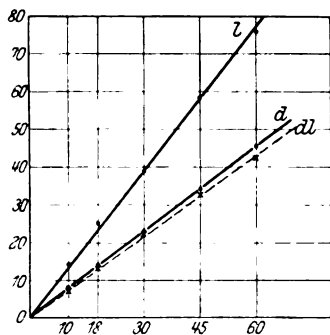


Abb. 17.

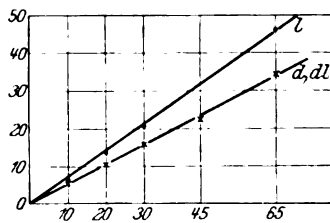


Abb. 18.

orientierte Lipase greift trotzdem den l-Ester mit viel größerer Geschwindigkeit an als die beiden anderen Modifikationen, deren Zerfallsgeschwindigkeiten überdies zusammenfallen. Es ist die Spaltung des d- und dl-Esters, zur Berechnung wurde ein Mittelwert zwischen beiden, $K = 0,734$, genommen, um 42,7 Proz. weniger gegenüber dem l-Ester. Zur Kontrolle dieses Ergebnisses wurde dieselbe Lipase (auch im Preßsaft) noch einmal in bezug auf ihr Verhalten gegenüber racemischem Mandelsäuremethylester geprüft. In Tabelle V ist dieser Versuch unter Nr. 14 aufgeführt. Es ist demnach diese Schweineleberlipase rechtsorientiert wie sonst.

Diese merkwürdige Tatsache liegt vielleicht in dem eigentümlichen Wesen des Racemats begründet. Es könnte aber auch die Affinität des Ferments zu den beiden optisch aktiven Formen des Substrats verschieden sein und ferner nicht parallel gehen mit den Zerfallsgeschwindigkeiten der d- bzw. l-Substratfermentverbindung¹⁾. Die Versuche in dieser Richtung werden noch fortgesetzt werden. Ein Versuch, bei dem die Menge des dl-Esters doppelt so groß war wie die der antipodischen Ester, zeigte, daß der Unterschied

¹⁾ Auf diese Möglichkeit hat uns Herr *H. H. Weber* aufmerksam gemacht.

zwischen der l- und (dl- und d-)Form wieder 42,2 Proz. beträgt. Es fielen die d- und dl-Geraden zusammen, da es sich um einen linearen Spaltungsprozeß handelt, bei dem bei unendlich großer Substratmenge eine Erhöhung der Konzentration des Substrats ohne Einfluß ist.

Abb. 18 zeigt eine sonst gleiche Versuchsanordnung, nur mit dem Unterschied, daß ein wesentlich reineres Ferment angewandt wurde. Während die Versuche mit Leberpreßsaft (1:20) ausgeführt wurden, wurde hier der in $n/40$ NH_3 wieder aufgelöste Niederschlag durch Essigsäure aus dem NH_3 -Auszug benutzt. Die Auflösung wurde neutralisiert und auch in einer Verdünnung von 1:20 angewandt. Beide Fermentpräparate stammten aus ein und demselben Tiere. Aus der Abbildung ist deutlich ersichtlich, daß die reinere Lipase sich nicht mehr so auswählend verhält; der Unterschied beträgt nämlich nur noch 25,9 Proz., und es wäre anzustreben, diese Versuche mit hochgereinigtem Ferment fortzuführen.

Die Takalipase zeigt ein noch ganz anderes Verhalten. Hier werden die drei Ester gleich schnell gespalten, obwohl das Ferment sonst rechtsorientiert ist (s. Abb. 19).

Der *Abderhaldensche* Befund, der gleiche zeitliche Zerfall des d- und l-Monoacetins und der des d- und l-Monocaproins durch Rinderpankreaslipase darf daher noch nicht in der Hinsicht gedeutet werden, daß das Ferment unspezifisch sei. Hier müßten die Ergebnisse *Willstätters* bei der Vergärung der α - und β -Glucose und unsere bei der Takalipase berücksichtigt werden.

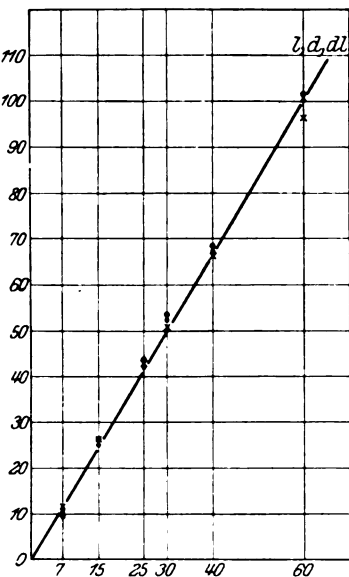


Abb. 19.

Die Substratspezifität.

Für unsere Versuche ergab sich eine deutliche Substratspezifität zwischen dem Tributyrin (als Vertreter der natürlichen Fette) und den Mandelsäureestern.

Abb. 20 zeigt so z. B. Schweineleberlipase 1:25 und 1:50 auf eine 2proz. Tributyrinemulsion und Mandelsäuremethylesterlösung. Wir sehen außerdem noch, daß die Herabminderung der absoluten Fermentmenge bei Tributyrin als Substrat fast nichts auf sich hat, während sie bei der Mandelsäureesterspaltung ganz erheblich ins Gewicht fällt.

In Abb. 21 ist ein Spaltungsversuch der drei Mandelsäureester – Methyl-, Äthyl- und Isoamyl- – in isomolaren Konzentrationen durch Takalipase ausgeführt. Wie ersichtlich, wird der Methyl ester am schnellsten und der Isoamylester fast gar nicht angegriffen.

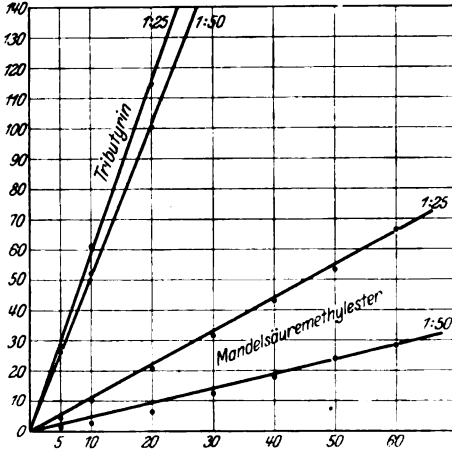


Abb. 20.

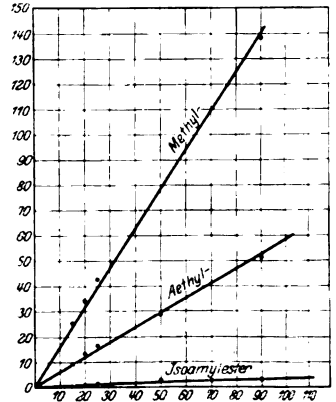


Abb. 21.

Die Takalipase, die nach *Willstätter* nur eine geringe Affinität zum Tributyrin hat, spaltet sehr schnell Mandelsäuremethylester.

Die Pankreasalipase (Schwein), die anfänglich Tributyrin so stark spaltete, daß wir Verdünnungen 1: 1000 herstellten, mußten wir für die Versuche mit den optisch aktiven Mandelsäuremethylestern (siehe Abb. 16) in einer Verdünnung von 1: 5 benutzen (Glycerinauszug des Pulvers).

Die Vergiftungsversuche an Meerschweinchenserumlipase¹⁾.

Die Chinaalkaloide.

Abb. 22 und 23 geben einige Versuche mit den vier Alkaloiden der Chinagruppe wieder. Es sollten diese vier Körper untereinander verglichen werden in bezug auf ihr Hemmungsvermögen (bei dem angegebenen p_H ; vgl. S. 62) nach folgendem Ansatz:

l-Chinin	mit d-Chinin,	s. Abb. 22,
„	„ d-Cinchonin	„ „ 23.
„	„ l-Cinchonidin,	
d-Chininid	„	
„	„ d-Cinchonin,	
d-Cinchonin	„ l-Cinchonidin.	

¹⁾ Diese Versuche wurden, wenn nicht anderes vermerkt, an Tributyrin im *Warburg*'schen Apparat ausgeführt.

Das Cinchonin und das Cinchonidin gaben die gleiche Giftwirkung. Für die anderen Gifte ist ersichtlich, daß das Chinin der stärkste Hem-

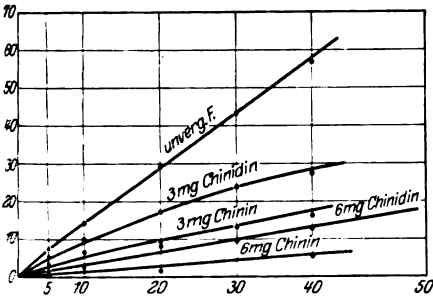


Abb. 22.

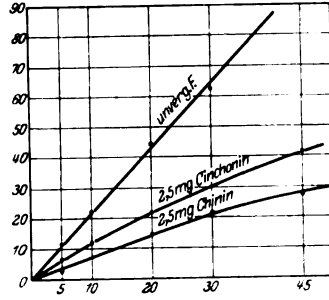


Abb. 23.

mungskörper ist und daß dann das Chinidin folgt. Es scheint also die Anwesenheit der Methoxygruppe die stärkere Giftwirkung hervorzurufen; daß aber auch die Konfiguration einen Einfluß hat, ist aus dem unterschiedlichen Verhalten zwischen Chinin und Chinidin ersichtlich.

Die Cocaine.

Es unterscheiden sich l- und d-ψ-Cocain sehr stark. Das d-ψ-Cocain hemmt um fast 100 Proz. stärker, und zwar hemmen je 5 mg um 32,2 bzw. 61,3 Proz. Ein Versuch mit drei verschiedenen d-ψ-Cocainkonzentrationen zeigt, daß bei zunehmender Giftkonzentration die Esterspaltung abnimmt. Die Abhängigkeit zwischen Gift und Fermentmenge zeigt das Bild der Freundlichschen Adsorptions-

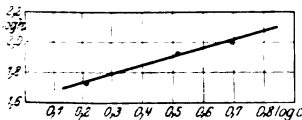


Abb. 24.

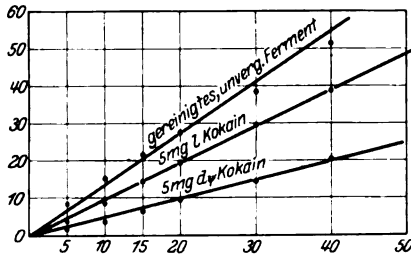


Abb. 25.

isotherme (s. Abb. 24). Abb. 25 zeigt einen Versuch mit l- und d-ψ-Cocain als Gifte für die gereinigtere Serumlipase. Es ist kein Unterschied zwischen der ungereinigten und gereinigten Serumlipase festzustellen: l-Cocain hemmte um 29,6 und d-ψ-Cocain um 64,8 Proz.

Die Tropanderivate.

Ecgonin, sogar in einer Menge von 30 mg, erwies sich als völlig wirkungslos. Im allgemeinen hat diese Gruppe von Verbindungen durchaus ähnliche Eigenschaften in bezug auf geringes Hemmungsvermögen gezeigt. Abb. 26 zeigt, daß die Tropeine Atropin, Hyoscyamin — 20 mg — völlig unwirksam sind. Beim Homatropin war sogar noch eher eine geringe Aktivierung (6 Proz.) zu bemerken.

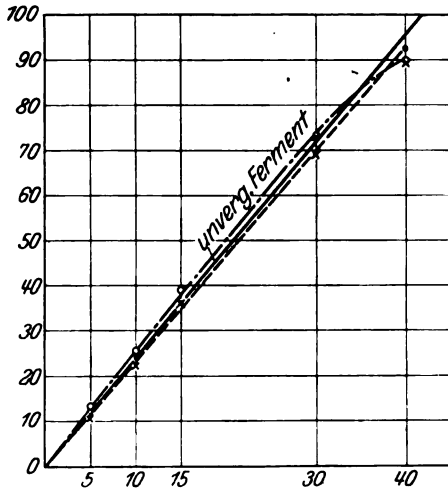


Abb. 26. × = 20 mg Hyoscyamin. ○ = 20 mg Atropin.

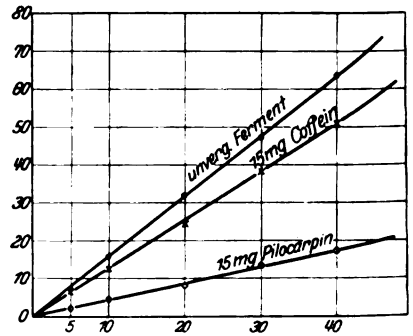


Abb. 27.

Pilocarpin und Coffein.

Pilocarpin und Coffein üben eine hemmende Wirkung auf die Serumlipase aus, und zwar Pilocarpin stärker als Coffein (s. Abb. 27). Es hemmten je 10 mg Coffein und Pilocarpin um 7,58 bzw. 66,7 Proz., je 15 mg Coffein und Pilocarpin um 19 bzw. 74 Proz.

Morphin, Nicotin und Strychnin.

Morphin, Nicotin und Strychnin vergiften die Serumlipase, und zwar hemmten 15 mg Nicotin um 33,8 Proz., 15 mg Morphin um 36,7 Proz. und 10 mg Strychnin um 59,96 Proz.

Physostigmin und Ergotamin.

Loewi und Navratil¹⁾ haben kürzlich ein esterspaltendes Ferment im Herzen nachgewiesen und diese Esterase mit Physostigmin und Ergotamin vergiften können. Wir haben daher diese beiden Alkaloide kurz auf die eventuelle Wirkung auf Serumlipase untersucht und gefunden, daß beide Alkaloide starke Hemmungskörper für diese Lipase sind. 0,5 mg „Gynergen“ hemmten um 50 Proz. und 10 mg Physostigminsalicylat um 91 Proz. Es wäre allerdings noch zu prüfen, inwieweit die anwesende Säure, Weinsäure und besonders Salicylsäure an der Vergiftung beteiligt sind.

¹⁾ Klin. Wochenschr. 1926, Nr. 20, S. 894.

Die Adrenaline.

Die Adrenaline haben eine schwache Einwirkung auf die Serumlipase, so daß mit verhältnismäßig großen Konzentrationen, etwa 20 mg, gearbeitet werden mußte. Die Versuche sind nicht als ganz gut gelungen zu bezeichnen, weil die Vergiftungskurven nachher umbiegen (s. Abb. 28). Vielleicht kommt dies von noch stärker wirkenden Zersetzungsprodukten, da das Adrenalin in Alkalien nicht beständig ist. Immerhin ist aber folgendes Resultat erhalten worden: Das l-Adrenalin vergiftet am stärksten und die dl-Form am schwächsten, während die Vergiftungslinie mit d-Adrenalin etwa in der Mitte zwischen den beiden anderen Modifikationen liegt.

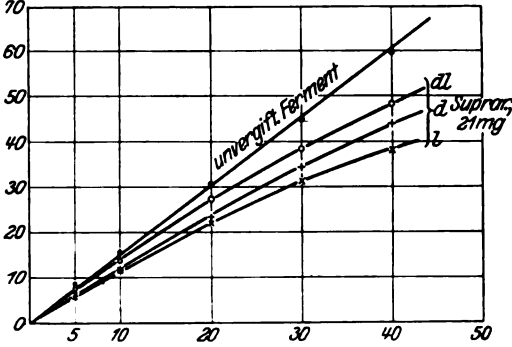


Abb. 28.

Die Vergiftungsversuche an Schweineleberlipase.

Abgesehen von der Giftempfindlichkeit, die auch noch sicherlich stark von den nicht zum Fermentkomplex gehörenden Beimengungen beeinflusst wird, verhält sich die Schweineleberlipase fast genau so wie die Serumlipase.

Chinin und Chinidin.

Vergiftungsversuche mit Chinin und Chinidin sind in der elektrotitrimetrischen Apparatur angesetzt worden. Das Chinin vergiftet stärker als Chinidin, und zwar das Chinin etwa doppelt so stark: je 15 mg Gift hemmten um 32,6 bzw. 16,2 Proz. Hier diente Mandelsäuremethylester als Substrat.

l-, d- ψ -Cocain und Ecgonin.

Abb. 29 zeigt, daß das d- ψ -Cocain wieder eine bedeutend stärkere Wirkung auf die Leberlipase hat als die l-Modifikation. Es hemmten je

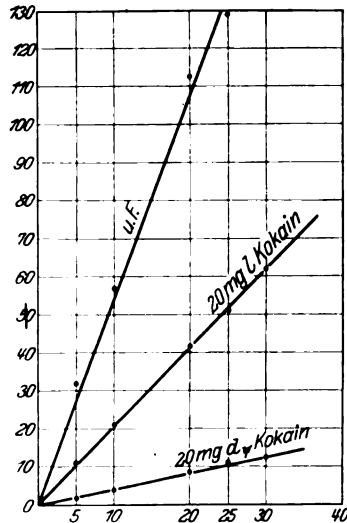


Abb. 29.

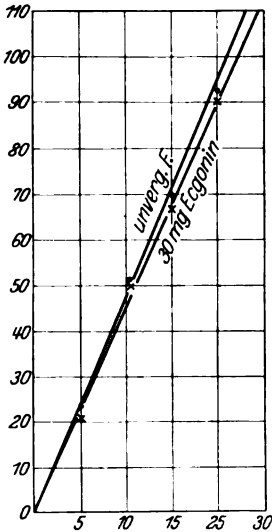


Abb. 30.

20 mg um 61,5 bzw. 92,5 Proz. Abb. 30 zeigt das wirkungslose Verhalten von 30 mg Ecgonin.

Die Tropeine.

Homatropin zeigt eine geringe, aber immerhin deutliche Wirkung, ebenso die beiden anderen Tropinester, allerdings erst in größeren Dosen; je 20 mg Atropin und Hyoscyamin hemmten um 21,1 Proz., 30 mg Homatropin hemmen um 38,2 Proz. Dieser Versuch wurde im Anschluß daran mit gereinigtem Ferment wiederholt. (Neutralisierte Auflösung in $n/40$ NH_3 des Essigsäure-Niederschlags aus dem NH_3 -Auszug des Fermentpulvers, Verdünnung 1:50, Preßsaft 1:100.) Dieselbe Giftmenge (30 mg Homatropin) hemmt zu einem geringeren Betrag, nämlich 25,1 Proz., das sind immerhin 13 Proz. Unterschied gegenüber dem ungereinigten Ferment¹⁾.

Nicotin.

Mit Mandelsäuremethylester als Substrat wurde ein Vergiftungsversuch mit Nicotin angesetzt. 30 mg Nicotin hemmen zu 70,5 Proz.

Pilocarpin und Coffein.

Das Pilocarpin erwies sich wieder stärker vergiftend als das Coffein. Hier wurden je 9 mg beider Körper benutzt; während das Coffein gar nicht wirkte, hemmte das Pilocarpin zu 55,5 Proz. Der Versuch, der mit gereinigterem Ferment und auch mit je 9 mg angesetzt wurde, zeigt, daß das Ferment gegen beide Gifte empfindlicher geworden ist. Das Coffein vergiftete zu 22,1 Proz. und das Pilocarpin zu 81 Proz. (s. Abb. 31).

Atoxyl.

Das Atoxyl ist von allen benutzten Stoffen der am stärksten vergiftende. Während beim ungereinigten Ferment 0,2 mg Atoxyl den Spaltungsverlauf um 85,8 Proz. hemmen, hemmt dieselbe Giftmenge das gereinigte Ferment um 79,6 Proz. Das ist kein großer Unterschied (6 Proz.).

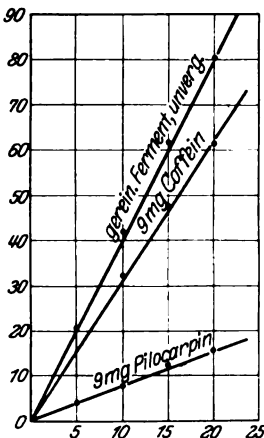


Abb. 31.

¹⁾ S. Rona und Gytoku, l. c., S. 176.

Trypaflavin.

Das Trypaflavin ist auch ein sehr starkes Gift. Es wurde ebenfalls in seiner Wirkung auf die ungereinigte und gereinigte Lipase untersucht. Es zeigte sich auch hier der nur unwesentliche Unterschied, daß es das gereinigte Ferment um 6 Proz. mehr hemmt als das ungereinigte: 3 mg Trypaflavin hemmten um 55,6 bzw. 61,6 Proz. (s. Abb. 32).

Die Adrenaline.

Die Versuche, die mit den Adrenalinen angestellt wurden, sind in ihren Ergebnissen sehr widersprechend ausgefallen. Sie hemmten zwar auch die Esterspaltung, aber wir können nichts aussagen über die unterschiedlichen Wirkungen der einzelnen, isomeren Formen untereinander. Dies soll auch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

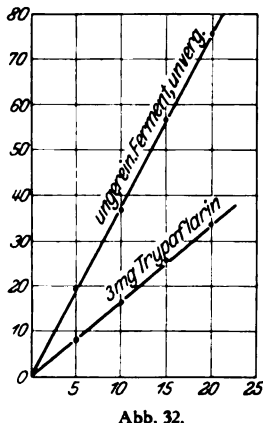


Abb. 32.

Vergiftungsversuche an Takalipase.

An der Takalipase haben wir noch kurz einige Vergiftungsversuche ausgeführt (mit dl-Mandelsäuremethylester als Substrat). Sie ist aber wohl in der Form, in der sie benutzt wird, ungeeignet für Vergiftungsversuche wegen der sicherlich großen Beimengungen. Abb. 33 zeigt einen Versuch mit 5 mg Atoxyl und 10 mg Chinin. In allen diesen Versuchen diente 2 Proz. Mandelsäuremethylesterlösung als Substrat, und 20 bzw. 15 mg Fermentpulver wurden benutzt. Das Ferment ist sowohl gegen Atoxyl und Chinin, als auch gegen die Cocaine weniger empfindlich, denn mit diesen Konzentrationen hätten wir bei den anderen beiden Lipasen totale Hemmungen erhalten. Beobachtet ist also hier, daß das Atoxyl um 7,7 Proz., das Chinin um 22 Proz. hemmt. Geblieben ist der Unterschied zwischen l- und d- ψ -Cocain. l-Cocain hemmt gar nicht, während dieselbe Menge (20 mg) d- ψ -Cocain zu 69 Proz. vergiftet.

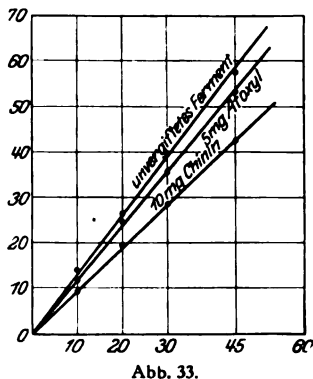


Abb. 33.

Zusammenfassung.

Für die Verfolgung der fermentativen Tätigkeit, der Esterspaltung durch Lipase, wurde eine neue Methode ausgearbeitet, die elektrotitrimetrische. Das Entstehen der fermentativ entstandenen Säure

wird durch die Änderung des p_H der Untersuchungsflüssigkeit festgestellt und durch NaOH konstant gehalten.

Unter den von uns gewählten Bedingungen wurde ausnahmslos für alle untersuchten Lipasen und gegen alle angewandten Substrate der nullmolekulare Reaktionsverlauf festgestellt.

Eine Reihe von Körpern wurde in bezug auf ihr eventuelles Hemmungsvermögen auf die Lipasen untersucht.

Alle Körper haben eine mehr oder weniger ausgesprochene hemmende Wirkung auf die Lipasen; für die Alkaloide der Tropanreihe läßt sich sagen, daß ihre Einwirkung die geringste ist. (l)-Ecgonin vergiftet überhaupt nicht.

Bei den isomeren Giften zeigte sich, daß das (l)-Chinin stärker die Lipasespaltung hemmt als das (d)-Chinidin, das d- ψ -Cocain stärker als das l-Cocain, das l-Adrenalin stärker als die d- und dl-Modifikation, wobei wieder das d-Suprarenin stärker wirkte als die dl-Form (bei Serumlipase). Zwischen (dl)-Atropin und (l)-Hyoscyamin hat sich kein Unterschied finden lassen.

An der Serumlipase und mit d- ψ -Cocain konnte gezeigt werden, daß die Vergiftung gemäß der *Freundlich*schen Adsorptionsisotherme erfolgt. Trypaflavin hemmt stark.

Was die Vergleiche der hemmenden Wirkung einiger Gifte auf das ungereinigte und dasselbe gereinigte Ferment anlangt, so konnte bei der Serumlipase und bei Anwendung von l- und d- ψ -Cocain kein Unterschied gefunden werden. Bei der Leberlipase wurden nicht wesentliche Unterschiede in dieser Richtung festgestellt: Atoxyll hemmte das gereinigte Ferment um 6 Proz. weniger, Trypaflavin um denselben Betrag mehr, Homatropin um 13 Proz. weniger. Gegen Coffein und Pilocarpin ist aber doch die gereinigtere Lipase empfindlicher geworden, bei Coffein um 22 Proz., bei Pilocarpin um 25 Proz.

Ferner wurden Vergiftungsversuche an der Takalipase angestellt.

Racemischer Mandelsäuremethylester wird von Rinderleber-, Schweineleber-, Schweinepankreas-, Menschenleber-, Meerschweinchen-serum- und Takalipase asymmetrisch verseift.

Es greifen in dem racemischen Ester Schweineleber-, Rinderleber- und Takalipase den d Ester mit größerer Geschwindigkeit an und erweisen sich so als rechtsorientiert.

Menschenleber-, Meerschweinchen-serum- und Schweinepankreaslipase zersetzten mit größerer Geschwindigkeit zuerst den l-Ester und sind linksorientiert. Hierbei sind die Ergebnisse von *Dakin* an der Schweineleberlipase und die von *Willstätter* an dieser, der Schweinepankreas- und an der Takalipase bestätigt.

Das auswählende Verhalten der Schweineleberlipase an dl-Mandelsäuremethylester ließ sich durch Gifte, wie Chinin und Chinidin, nicht beeinflussen, obwohl das Ferment selbst gehemmt wurde.

Es wurden Versuche mit den reinen antipodischen Mandelsäuremethylestern angestellt.

Hierbei zeigte die Schweinepankreaslipase ein „normales“ Verhalten: Als linksorientiertes Ferment zersetzte sie den l-Ester schneller als den d- und dl-Ester und letzteren wieder schneller als den d-Ester, was auch *Willstätter* zeigte.

Die Schweineleberlipase, die im Racemat die d-Form vorzieht, zersetzt, wenn sie die reinen optisch aktiven Modifikationen vor sich hat, die l-Form am schnellsten und die d- und dl-Ester gleich schnell, aber langsamer (um 40 Proz.) als die l-Form.

Gereinigte Schweineleberlipase scheint sich weniger auswählend zu verhalten. Hier beträgt der Unterschied zwischen dem l- und (dl- und d-)Ester nur noch etwa 20 Proz.

Auch die rechtsorientierte Takalipase zeigt bei Anwendung der reinen optisch aktiven Ester ein anderes als das zu erwartende Ergebnis, das aber nicht mit dem der gleich orientierten Schweineleberlipase zusammenfällt: sie verseift alle drei Formen mit gleicher Geschwindigkeit.

Fräulein *Glaser* hat bei der Untersuchung wertvolle Hilfe geleistet.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sprechen wir unseren aufrichtigen Dank aus für die der Untersuchung gewährte Unterstützung.

Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute.

VII. Mitteilung:

Über die Ammoniakbildung im physiologisch stagnierendem Blute.

Von

A. Klisiecki, W. Mozołowski und M. Taubenhaus.

(Aus dem medizinisch-chemischen und dem physiologischen Institut der Universität Lwów.)

(Eingegangen am 19. November 1926.)

Die Frage, ob die im isolierten Blute stattfindende Ammoniakbildung einen postmortalen Vorgang darstellt, oder ob sie auch dauernd im kreisenden Blute stattfindet, haben *Parnas* und *Klisiecki*¹⁾ auf experimenteller Grundlage zu beantworten versucht. Sie konnten feststellen, daß Blut, welches in großen Gefäßen, wie *V. cava inferior*, oder in den Vorhöfen und Kammern bei schlagendem Herzen plötzlich eingeschlossen worden ist, sich ebenso an Ammoniak anreichert wie isolierte Blutproben bei gleicher Temperatur. Wenn in diesen Versuchen der Einfluß der Berührung mit Luft und Glas ausgeschlossen, aber auch der Kontakt des Blutes mit Geweben minimal ist, so können Stauungen des Blutes doch nicht als physiologische Vorgänge angenähert betrachtet werden. Es sei nur darauf hingewiesen, daß in größeren Gefäßen oder im Herzen gestautes Blut doch nach kurzer Zeit gerinnt.

Im Zusammenhang mit der Aufklärung der Milzfunktion durch die Arbeiten von *J. Barcroft*²⁾ und seiner Schule ergab sich die Möglichkeit einer Prüfung, ob in den Erythrocyten innerhalb des Organismus eine Ammoniakbildung vor sich geht, wie wir sie im isolierten Blute beobachten. Nach *Barcroft* stellt die Milz ein Erythrocytenreservoir dar, in welchem rote Blutkörperchen außerhalb der Zirkulation gehalten werden. Man kann, wie *Barcroft* nachgewiesen hat, bei einem 120 Minuten lang mit Kohlenoxyd vergifteten Tiere aus der Milz ein CO-freies Blut gewinnen. Wenn also die Milz stagnierendes Blut enthält

¹⁾ Diese Zeitschr. 173, 224, 1926.

²⁾ Zusammenfassung: *Lancet*, 1926, S. 544; *Naturwissensch.* 14, 797, 1926.

und in jedem Erythrocyt eine Ammoniakbildung physiologisch vor sich geht, so kann man erwarten, daß im Milzblut mehr Ammoniak enthalten sein wird als im Blute der Arterien und Venen.

Die Anordnung der Versuche ergab sich folgendermaßen: Bei geschlossener Milzarterie wurde durch Reizung des N. splanchnicus oder durch Streichen eine Kontraktion der Milz herbeigeführt und aus der abgeklemmten Milzvene mit der Spritze das Blut entnommen. Fast gleichzeitig wurde die V. jugularis punktiert. Dann ließ man die Milz sich wieder mit Blut anfüllen und erhielt durch wiederholte Reizung eine zweite Blutprobe, welche zwar aus der Milz kam, aber nur kurze Zeit darin verweilt hatte. Manchmal wurde auch vor der Splanchnicusreizung eine Probe des durch die Milz frei fließenden Blutes entnommen.

Leider konnten zu diesen Versuchen nicht Kaninchen verwendet werden, bei welchen die NH_3 -Bildung am lebhaftesten vor sich geht; wir konnten aus Kaninchenmilzen nicht genügend Blut bekommen und mußten an Hunden und Katzen mit ihrer viel trägeren Ammoniakbildung arbeiten. Die Resultate waren aber auch so deutlich genug. Die Technik der Ammoniakbestimmungen war die gleiche, wie in früheren Arbeiten mitgeteilt, selbstverständlich wurde auf Ammoniakfreiheit und Kontrollen der größte Wert gelegt¹⁾.

Wir möchten bemerken, daß bei Bestimmungen des Blutammoniaks nach *Parnas* und *Heller*¹⁾ ein einziger Punkt vorhanden ist, in welchem Ammoniak leicht in das zu analysierende Blut eingeschleppt werden kann. Es ist dies der Zusatz der gerinnungshemmenden Substanzen. *Parnas* und *Heller* haben seinerzeit gefunden, daß ein von *Kahlbaum* bezogenes Lithiumoxalat ammoniakfrei war. Dasselbe Präparat stand in unserem Laboratorium 2 Jahre lang in Verwendung. Wir waren unvorsichtig genug, eine neue Sendung von Lithiumoxalat derselben Firma ohne besondere Prüfung in Verwendung zu nehmen. Als dann in einer Reihe von Versuchen am Hundeblood die Normalwerte fast immer ein wenig über 0,1 mg-Proz. NH_3 -N lagen, suchten wir systematisch nach den Fehlerquellen und fanden das verwendete Lithiumoxalat ammoniakhaltig. Von da an wurde zur Gerinnungshemmung ein Natriumoxalat von *Kahlbaum* verwendet, welches einzig unter mehreren reinsten Oxalaten dieses Laboratoriums ammoniakfrei befunden wurde, und daraufhin werden korrekte Normalwerte erhalten. Wir möchten also in diesem Punkt, wie dies schon *O. Folin* getan hat²⁾, zur größten Vorsicht raten.

Um einen eventuellen Einfluß der Splanchnicusreizung auf den Ammoniakgehalt des Blutes auszuschließen, wurde bei einer Katze das Ammoniak im Jugularisblut vor und nach dreiminütiger Splanchnicusreizung bestimmt.

Es ergeben sich Werte, die nur innerhalb der Fehlergrenze differieren:

vor Splanchnicusreizung	0,06 mg-Proz.
nach Splanchnicusreizung	0,066 „

¹⁾ Diese Zeitschr. 152, 1, 1924; 173, 224, 1926.

²⁾ Physiol. Rev. 2, 467, 1922.

Die Resultate der Versuche am Hunde- und Katzenblut¹⁾ sind in Tabelle I dargestellt.

Tabelle I.

Die eingeklammerten Ziffern stellen die Werte nach 24stündigem Aufenthalt in 22° C dar.

Datum	Tierart	NH ₂ -N-Gehalt in mg-Proz.				Bemerkungen
		Jugularisblut	Lienalisblut vor der Splanchnicusreizung	Lienalisblut nach der Splanchnicusreizung	Lienalisblut nach neuerlicher Anfüllung der Milz	
26. X.	Hund	0,07 (0,52)	0,10 (0,55)	0,12 (0,60)	0,06 (0,56)	5 Min. Reizung
26. X.	"	0,07 (0,61)	0,08 (0,66)	0,12	0,07 (1,02)	3 - -
27. X.	"	0,04 (0,44)	0,05	0,08 (0,49)	0,04 (0,50)	2 - -
28. X.	"	0,07 (0,67)	0,10 (0,86)	0,12 (0,60)	0,06 (0,51)	5 - -
29. X.	"	0,06	0,14	0,19	0,07	3 Min. Reizung und Streichen der Milz
1. X.	"	0,06 (0,62)	—	0,16 (0,75)	—	3 Min. Reizung
29. X.	Katze	0,07	—	0,14	0,09	5 - -
30. X.	"	0,07	—	0,25	0,16	6 Min. Reizung und Streichen der Milz

Aus den mitgeteilten Versuchen ist zu ersehen, daß im Milzblut, welches durch eine Kontraktion des Organs entleert wird, stets mehr Ammoniak enthalten ist als im Blute der Halsvene. Dieser höhere Wert ist aber durchaus nicht mit dem Eintritt des Blutes in die Milz verknüpft. Blut, welches aus der frisch angeschopten Milz entleert wird, zeigt einen ähnlichen Ammoniakgehalt wie das Jugularisblut oder sogar einen noch niedrigeren, dem arteriellen Blute noch näheren. Wir finden hier also ganz andere Beziehungen als diejenigen, welche *Orahovats*²⁾ in *Barcrofts* Laboratorium bei der Untersuchung der Resistenz der Blutkörperchen beobachtet hatte, die von der Milz entleert werden. Die gegenüber dem Blute des allgemeinen Kreislaufs verschobene Resistenz dieser Blutkörperchen wird von *Orahovats* auch im Blute gefunden, welches eine vorher kontrahierte Milz frisch auf-

¹⁾ Die Ammoniakbildung im Katzenblut ist dem Vorgang im Hundeblut sehr ähnlich, wie aus den folgenden Zahlen ersichtlich ist:

Zeit nach Blutentnahme, Temperatur 22° C	NH ₂ -N in mg-Proz.
3'	0,05
1h 25	0,12
15 51	0,43
24 00	0,72
70 00	0,84

²⁾ Journ. of Physiol. 61, 436, 1926.

gefüllt hat. Der Ammoniakgehalt dagegen scheint von der Aufenthaltsdauer des Blutes in der Milz abzuhängen¹⁾.

Es wäre interessant gewesen, die Frage zu lösen, ob das im Milzblut vorgefundene Ammoniak aus der Ammoniakmuttersubstanz herrührt. Die in bezug auf das Blut endogene oder exogene Herkunft des Ammoniaks läßt sich in anderen Fällen, z. B. der *agonalen Ammoniak-anreicherung* des Blutes oder in der *hypoxämischen Hyperammonämie* ganz klar nachweisen. Wenn sich z. B. das Blut eines Kaninchens während der Agonie auf 0,5 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$ angereichert hat, so entstehen in diesem Blute bei 24stündiger Bebrütung außerdem noch 2 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$. Wenn sich das Blut dagegen in einem abgeklemmten Herzen auf 1 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$ angereichert hat, so entsteht bei der Bebrütung nur noch 1 mg-Proz. Im ersten Falle war das Ammoniak enterogen, im zweiten Falle war es aus der ammoniakbildenden Substanz abgespalten. Eine ähnliche Entscheidung ist beim Milzblut aus dem Grunde nicht zu treffen, weil das Verhältnis der Blutkörperchen zum Plasma im Milzblut variabel und anders als im Blute des allgemeinen Kreislaufs ist, und weil die Differenz zwischen Jugularis- und Milzblut bei Hund und Katze zu gering ist, um sichere Rechnungen auf Grund des verschiedenen Hämoglobingehalts durchführen zu können.

Es läßt sich auch schwer sagen, einem wie langen Aufenthalt der Erythrocyten in der Milz die gefundenen Ammoniakwerte entsprechen; unter Voraussetzung, daß die Erythrocyten in der Milz in keinem Stoffaustausch mit dem übrigen Organismus stehen, könnte man nach den Bestimmungen am isolierten Hundeblut (*Parnas* und *Kłisięcki*) den

¹⁾ Bestimmungen des Ammoniakgehalts des Milzbluts sind von *Sidney Bliss* (Journ. of biol. Chem. **67**, 117, 1926) mitgeteilt worden. Seine Zahlen zeigen fast immer einen höheren Ammoniakgehalt im Milzvenenblut als im Carotisblut. So z. B. beim Hund:

Carotisblut	0,06	0,10	0,07	0,08	0,14	0,11	0,29
Milzvenenblut	0,10	0,15	0,09	0,09	0,14	0,12	0,25

Die *Bliss*schen Zahlen beziehen sich auf durch die Milz fließendes Blut, nicht auf Blutproben, die durch die kontrahierte Milz entladen werden. *S. R. Benedict* und *P. T. Nash jun.* haben die Angaben von *Bliss* einer kritischen Diskussion unterzogen (Journ. of biol. Chem. **69**, 381, 1926). Sie glauben, daß die Blutproben, welche *Bliss* als Milzvenenblut analysierte, durch Portalblut aus dem oberen Dünndarm verunreinigt sein könnten. *Benedict* und *Nash* bemerken allgemein, daß man in bezug auf den Ursprung des Ammoniaks in Blutproben, die aus der unmittelbaren Nachbarschaft des Verdauungstraktes zurückfließen, skeptisch sein müßte. Wir möchten bemerken, daß in unserer Versuchsanordnung der Möglichkeit solcher Fehlerquellen dadurch Rechnung getragen wurde, daß die Blutentnahmen während der Kontraktion der Milz und aus der dicht unter dem Organ abgeklemmten und in dem Moment prall aufgestauten Milzvene erfolgten.

Aufenthalt der Erythrocyten bei 38° auf $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde schätzen. Wir können aber nicht wissen, ob keine Ausschüttung und Neuauffüllung der Milz während der Vorbereitungen zum Versuch stattgefunden hat. Da die Milz auf Splanchnicusreizung und auf mechanische Berührung durch Kontraktion reagiert, so ist mit solchen Störungen des Versuchs zu rechnen.

Wir können übrigens die Angabe von *Bliss* bestätigen, daß man in Proben des frei fließenden Milzvenenbluts oft mehr Ammoniak findet als im Jugularisblut. Ob dies von Beimischungen des eigentlichen Milzbluts herrührt oder von Portalanastomosen, wie dies *Benedict* und *Nash* vermuten, können wir nicht entscheiden. Die Reinheit unserer Versuchsbedingungen bei Milzreizung wird jedenfalls durch die Tatsache bewiesen, daß im Blute, welches kurze Zeit in der Milz verweilt hatte, nur geringe Ammoniakmengen enthalten sind.

Wir können die eingangs gestellte Frage in dem Sinne beantworten, daß im physiologisch stagnierenden Blute Ammoniak abgespalten wird. Es bleibt nichtsdestoweniger die Frage offen, ob das durch die Kapillaren der Gewebe fließende Blut das Ammoniak als solches اسپaltet, oder durch die ammoniakbildende Substanz mit ihren labilen Amino- oder Iminogruppen direkt in Wechselwirkung mit dem Gewebestoffwechsel tritt.

Die Kosten dieser Arbeit sind aus einer Spende der *Ella Plotz-Sachs Foundation* bestritten worden, die Prof. *Parnas* für Untersuchungen über das Blutammoniak zur Verfügung gestellt worden ist.

Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute.

VIII. Mitteilung:

Hängt die Ammoniakbildung im Blute mit der Anwesenheit von Cyanaten zusammen?

Von

W. Mozolowski und M. Taubenhaus (Wien).

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lwów.)

(Eingegangen am 19. November 1926.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

I.

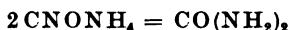
In dieser Arbeit soll die Frage untersucht werden, ob das Cyanation als diejenige Substanz angesehen werden kann, aus welcher im isolierten Blute Ammoniak gebildet wird. Durch die Untersuchungen dieses Laboratoriums [*Parnas und Heller, Klisiecki, Taubenhaus*¹⁾] wurde festgestellt, daß in jeder Blutart eine Substanz vorhanden ist, aus welcher durch einen im isolierten Blute spontan verlaufenden Vorgang Ammoniak gebildet wird. Diese Substanz vermag in 100 ccm Kaninchenblut 2 mg, im Menschenblut 1,8 bis 2 mg Ammoniakstickstoff abzuspalten, im Blute vom Hund, Pferd, Rind, Katze geringere Mengen; die Ammoniakbildung vollzieht sich dabei in einem anaeroben Vorgang, hauptsächlich innerhalb der roten Blutkörperchen, und zwar durch Spaltung einer Substanz, die zu den nichtkolloiden Stickstoffverbindungen des Blutes gehört; indessen hängt dieser Prozeß mit den kolloidalen Bestandteilen des Blutes zusammen, wahrscheinlich mit spezifisch wirkenden Fermenten, denn er hört nach Enteiweißung des Blutes auf. Weder Harnstoff noch Aminosäuren kommen als Muttersubstanz des Ammoniaks in Betracht, denn weder steigert deren Zusatz zum Blute die Ammoniakbildung, noch verringert die spontane Ammoniakbildung den Gehalt dieser Stoffe im genuinen Blute. Die Schwankungen der Ammoniak-Muttersubstanz unter pathologischen Be-

¹⁾ Diese Zeitschr. 152, 1, 1924; 155, 247, 1925; 159, 298, 1926; 169, 255, 1926; 172, 442, 1926; 178, 229, 1926; C. r. Soc. Biol. 91, 701, 1924.

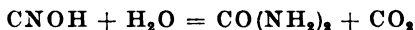
dingungen wurden von *Taubenhaus* und *Sternberg*¹⁾, sowie *Adlersberg* und *Taubenhaus*²⁾ am Menschen ausführlich studiert.

Der absolut genommen sehr geringe Gehalt der ammoniakbildenden Substanz im Blute — in 1 Liter Kaninchenblut ist davon weniger als 1,5 Millimol enthalten — macht ihre direkte Isolierung und Identifizierung zu einer recht schwierigen Aufgabe; es ist vielleicht nicht aussichtslos, zunächst durch Prüfung des Verhaltens einzelner einfacher Substanzen im Blute nach der Ammoniak-Muttersubstanz zu fahnden. Wenn wir in dieser Arbeit gerade das Verhalten des *Cyanations* untersucht haben, so hängt das mit der mehr theoretischen Behandlung zusammen, die dieser Frage jetzt zuteil wird und die sich auf Verlegung von in vitro leicht verlaufenden Zersetzungen der Cyanate in die Organismen gründet. So z. B. will *W. R. Fearon* in jüngster Zeit alle Rätsel der Harnstoff- und Ammoniakbildung durch die Annahme lösen, daß beide Stoffe aus Cyanaten entstehen³⁾.

Seit der Entdeckung der Beziehungen des Ammoniumcyanats zum Harnstoff ist die Frage, ob das Ammoniumcyanat als Vorstufe des Harnstoffs bei physiologischen Vorgängen in Betracht kommt, wiederholt diskutiert worden. [*Hoppe-Seyler* (1874)⁴⁾ und *Salkowski* (1877)⁵⁾.] *Hoppe-Seyler* hielt die Harnstoffbildung aus Ammoniumcyanat der Cyansäure:



oder



im Organismus für eine sehr wahrscheinliche Hypothese, er bemerkt aber, daß bis dahin der entscheidende Nachweis der Cyansäure als Oxydationsprodukt stickstoffhaltiger Substanzen fehlt.

Nun scheint durch die Arbeiten von *Fosse*⁶⁾ erwiesen zu sein, daß die bei Permanganatoxydation von allerlei stickstoffhaltigen Stoffen (Eiweiß, Aminosäuren) sowie von stickstofffreien Substanzen (Glycerin, Kohlehydrate) in Gegenwart von Ammoniak entstehenden erheblichen Mengen von Harnstoff unter intermediärer Bildung von Cyanaten entstehen. Die intermediäre Bildung von Cyanaten ist durch folgende Versuche sehr wahrscheinlich gemacht worden: wenn die Lösung der alkalischen Oxydationsprodukte mit Ammoniumsalzen stehengelassen wird, so wird dadurch die Ausbeute an Harnstoff bedeutend gesteigert, was nur durch die Anwesenheit von Cyanaten erklärt werden kann. Außerdem ist es *Fosse* gelungen, aus den oxydierten Lösungen unlösliche Cyanate zu isolieren. Durch diese Beobachtungen gewinnt die Auffassung der Cyanate als Vorstufe der physiologischen Ammoniakbildung an Wahrscheinlichkeit.

Nicloux und *Welter*⁷⁾ haben im Anschluß an die Beobachtungen von *Fosse* unternommen, die Anwesenheit von cyansauren Salzen im Blute

1) Wiener Arch. f. inn. Med. 13, 89, 1926.

2) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 113, 1, 1926.

3) Physiol. Rev. 6, 399, 1926.

4) Physiol. Chem. 3, 374, 1877.

5) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1874, S. 34.

6) Bull. de la Soc. de chim. biol. 2, 4, 1920.

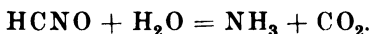
7) C. r. Acad. Sc. 174, 1733, 1922.

direkt zu prüfen. Ihre überaus klaren Versuche zeigten, daß Zusatz von Cyanat und Chlorammonium zum Blute seinen Harnstoffgehalt nach Bebrütung erhöht, daß dagegen ein Zusatz von Ammoniumsalzen allein keine Änderung des Harnstoffgehalts bewirkt, die außerhalb der Fehlergrenzen der analytischen Methoden läge. Durch die Arbeit von *Nicloux* und *Welter* wird klar bewiesen, daß im Hundeblut keine Cyanatmengen von der Größenordnung von 1 mg-Proz. vorhanden sind.

Bald nach Erscheinen der Arbeit von *Nicloux* und *Welter* wurde die Frage nach dem Vorkommen von Cyanaten im Blute von den irischen Forschern *W. R. Fearon*¹⁾ und *E. G. Montgomery*²⁾ aufgenommen und in ganz anderem Sinne beantwortet.

Während *Nicloux* und *Welter* keine außerhalb der Fehlergrenzen liegende Bildung von Harnstoff in mit viel Chlorammonium versetztem Blute beobachten konnten, stellte *Montgomery* ganz ähnliche Versuche am Kaninchenblut an und fand, daß nach 24stündiger Bebrütung bei 43°, in einer Blutprobe, die auf 15 bis 20 ccm Blut 0,2 g Ammoniumsulfat enthielt, der Harnstoffgehalt von 55,3 auf 56,4 mg-Proz. stieg. Außer diesem Versuch führte *Montgomery* noch zwei Versuche am Katzenblut aus und fand Anstiege, welche 1,4 bzw. 1,8 mg Zuwachs bei einem Gesamtgehalt von 60 mg Harnstoff in 100 ccm Blut entsprechen. Der Autor sieht in diesen Ergebnissen eine Bestimmung der Cyanate im Blute und berechnet den Gehalt von 0,78 mg HCNO in 100 ccm Kaninchenblut und 1,04 bzw. 1,05 mg HCNO in 100 ccm Katzenblut. Es werden also viel kleinere Schwankungen als diejenigen, die *M. Nicloux* und *Welter* als ihre Fehlergrenzen ansehen, von *Montgomery* einer Bestimmung von Cyansäure im Blute zugrunde gelegt. Diese Resultate, denen man bei kritischer Betrachtung keine reelle Bedeutung beimessen kann, werden später von *Fearon* in der Weise gedeutet, daß auf Grund der Versuche von *Nicloux* im Hundeblut kein Cyanat, im Kaninchenblut dagegen auf Grund der Versuche von *Montgomery* Cyanat vorhanden sein soll.

Bekanntlich zersetzt sich die Cyansäure in verdünnten, wässrigen Lösungen nach der Gleichung



Diese Zersetzung konkurriert mit der Harnstoffbildung in ammoniumhaltigen Lösungen, und es hängt von der Wasserstoffionenkonzentration ab, ob die Ammoniakbildung oder die Harnstoffbildung überwiegt. Während Cyanate in alkalischer Lösung nur sehr langsam Ammoniak abspalten, zersetzen sie sich in saurer Lösung sehr schnell unter Ammoniakbildung. Aber auch in einer sauren Lösung (die z. B. 50 Proz. Essigsäure enthält) wird aus dem abgespaltenen Ammoniak und dem unzersetzten Cyanation Harnstoff gebildet, so daß in cyanathaltigen essigsäuren Lösungen die Harnstoffbildung durch Xanthidrol nachweisbar ist. 2 Moleküle HCNO können also entweder 2 Moleküle Ammoniumsalz oder 1 Molekül Harnstoff bilden. Auf Grund dieser Zersetzungsmöglichkeiten der Cyansäure hat *Fearon* (nach dem Vorgang

¹⁾ Biochem. Journ. 17, 85, 1923; 18, 576, 1924.

²⁾ Ebendasselbst 19, 71, 1925.

von *Montgomery*) diese Substanz in den Mittelpunkt des Endstoffwechsels N-haltiger Substanzen gestellt. Die Hypothesen, welche dieser Autor entwickelt hat¹⁾, wollen wir hier nicht ausführlich wiedergeben. Es ist für *Fearon* ohne weiteres klar, daß die reichlichere Ammoniakbildung im Blute vom Menschen, Kaninchen und Katze auf der Gegenwart von Cyanaten beruht, während die geringe Ammoniakbildung im Hundeblut einfach durch die Abwesenheit dieser Substanz erklärt wird²⁾. Die *ammoniakbildende Substanz* und das *Cyanation* werden ohne weitere Diskussion identifiziert. Ähnliche Ideen hat, wenn auch vorsichtiger, *C. Artom* auf dem XII. Physiologenkongreß in Stockholm ausgesprochen.

Im Gegensatz zu dieser spekulativen Behandlung der Frage hat *Eric Gottlieb*³⁾ den Zusammenhang zwischen Cyanaten und Ammoniakbildung im Blute einer Experimentaluntersuchung unterzogen. Er zeigte am Hundeblut, daß nach Zusatz von Cyanat zu alkalisiertem Blute ($p_H = 9$) keine größere Ammoniakbildung erfolgt als ohne Cyanatzusatz; daß dagegen in stark angesäuertem Blute ($p_H = 2$) nach Cyanatzusatz bedeutende Ammoniakmengen gebildet werden, die ohne diesen Zusatz ausbleiben. Die Genauigkeit der Ammoniakbestimmungen nach *Henriquez* und *Gottlieb* macht es sicher, daß im untersuchten Hundeblut auch nicht ein Zehntel der Cyanatmenge vorhanden ist, die *Montgomery* im Katzen- und Kaninchenblut zu finden glaubte. Dieses Resultat wird von *Fearon* nur als weitere Stütze für die oben mitgeteilte Ansicht angeführt, daß im Kaninchen- und Katzenblut Cyanate vorhanden sind, im Hundeblut dagegen fehlen.

Dieser Stand der Frage veranlaßte uns, das Verhalten des Cyanations im Blute und seine möglichen Beziehungen zum Blutammoniak von neuem zu untersuchen. Es war nicht möglich, bei Untersuchungen über die Ammoniak-Muttersubstanz des Blutes an dieser Frage vorbeizugehen.

1) Sie bilden den Inhalt eines in der *Physiol. Rev.* **6**, 399, 1926 veröffentlichten Artikels: *The Biochemistry of Urea*.

2) *W. R. Fearon* äußert übrigens unrichtige Ansichten über die Ammoniakbildung im Blute. Er sagt: „*Blood drawn from certain animals such as man, the cat and the rabbit, has a low ammonia content, which may be in the region of zero, but which increases on standing to a figure three or four times the original value. Dog's blood on the contrary does not show the presence of this labile ammonia-forming substance.*“ Wir möchten demgegenüber bemerken, daß die Ammoniakbildung im Katzenblut bis jetzt noch nicht studiert wurde, daß sie sich aber nach unseren Untersuchungen (vgl. VII. Mitteilung) genau so verhält wie im Hundeblut, in welchem sie den anfänglichen Gehalt auf mehr als das 10fache steigert, und daß die Erhöhung des Ammoniakgehalts im Menschen- und Kaninchenblut den ursprünglichen Gehalt nicht um das 3- oder 4fache, sondern um das 80- bis 100fache erhöht (*Physiol. Rev.* **6**, 426, 1926).

3) *Biochem. Journ.* **20**, 1, 1926.

II.

Unsere Versuche, die Identität oder die Verschiedenheit der ammoniakbildenden Substanz und des Cyanations festzustellen, wurden auf Grund folgender Überlegungen angestellt: Wenn zu frischem, genuinem Blute Cyanat zugesetzt wird, und zwar in solcher Menge, daß der Stickstoff des Cyanats dem abspaltbaren Ammoniakstickstoff entspricht, so ist im Falle der Identität beider Substanzen zu erwarten, daß die Ammoniakbildung mit größerer, vielleicht mit doppelter Geschwindigkeit fortschreitet und zu einem doppelt so hohen Endwert des Ammoniakgehalts führt, denn entweder ist die Ammoniakabspaltung ein spontaner, von der Wasserstoffionenkonzentration abhängiger Vorgang, dann ist in einer so verdünnten Lösung ein monomolekularer Verlauf der Reaktion zu erwarten. Ist aber die Reaktion an ein spezifisches Ferment gebunden, so ist eine Hemmung der Reaktion durch das Produkt (Ammoniak) auch nicht zu erwarten, und es ist von *Parnas* und *Heller* experimentell erwiesen worden, daß die Ammoniakbildung im Blute durch Zusatz von Ammoniumsalzen und Harnstoff weder gehemmt noch gefördert wird. Nun ist der Verlauf der Ammoniakbildung im Blute mit und ohne Cyanatzusatz aus folgenden typischen Experimenten zu ersehen:

28. November. Einem Kaninchen wird Blut aus der Arteria carotis entnommen, mit Lithiumoxalat ungerinnbar gemacht und zu folgenden Versuchen angesetzt: I. 30 ccm Blut 3,7 mg KCNO. II. 10 ccm Blut ohne Zusatz. III. 10 ccm einer Phosphatmischung ($p_H = 7,35$) und 1,3 mg KCNO.

Die drei Flüssigkeiten wurden bei 22° unter Paraffinabschluß gehalten und während 24 Stunden in entnommenen Proben die Ammoniakbildung verfolgt.

Tabelle I.

Zeit seit Beginn des Versuches Temperatur 22° C	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.		
	I.	II.	III.
15 Min.	0,09	—	—
2 Stdn. 9 "	0,57	—	—
2 " 19 "	—	0,54	—
3 " 40 "	0,65	—	—
3 " 50 "	—	0,60	—
4 " — "	—	—	0,07
5 " 55 "	1,05	—	—
6 " 5 "	—	0,95	—
6 " 15 "	—	—	0,08
19 " 45 "	—	—	0,17
21 " 5 "	1,80	—	—
21 " 15 "	—	1,60	—
26 " 25 "	1,80	—	—
26 " 40 "	—	1,64	—
26 " 50 "	—	—	0,22

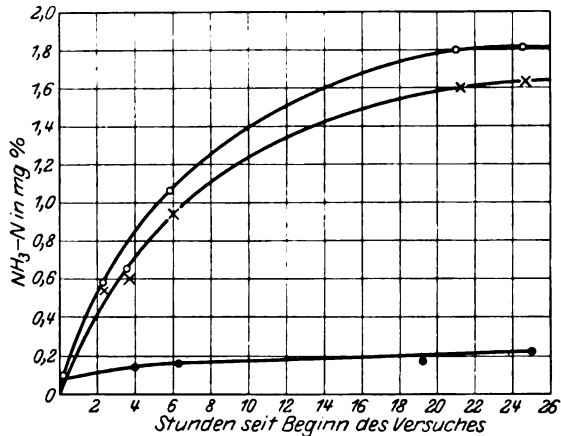


Abb. 1.

1. Oktober. Einem Hund wird Blut aus der V. jugularis entnommen, mit Lithiumoxalat ungerinnbar gemacht und folgende Proben angesetzt:

I. 10 ccm Blut + 2 mg KCNO.

II. 10 „ Blut ohne Zusatz.

III. 10 „ einer Phosphatmischung ($p_H = 7,35$) + 2 mg KCNO.

Das Resultat ist aus Tabelle II und Abb. 2 zu ersehen.

Tabelle II.

Zeit seit Beginn des Versuches Temperatur 22° C	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.		
	I.	II.	III.
3 Min.	—	0,06	—
25 „	—	—	0,06
29 „	0,12	—	—
1 Std. 35 „	—	—	0,06
1 „ 3 „	0,13	—	—
2 „ 3 „	—	0,14	—
17 „ 40 „	0,71	—	—
18 „ 5 „	—	—	0,16
18 „ 31 „	—	0,62	—
24 „ 39 „	0,77	—	—
25 „ 11 „	—	0,62	—

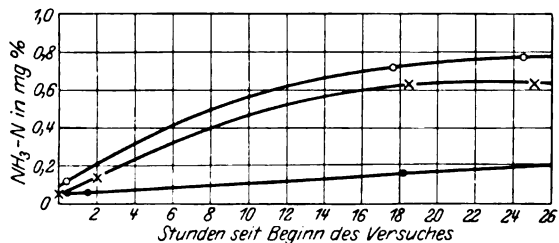


Abb. 2.

6. November. Blut aus der V. cubiti eines gesunden 30jährigen Mannes.
 Folgende Proben wurden aufgestellt:

- I. 10 ccm Blut + 1,3 mg KCNO.
- II. 10 „ Blut ohne Zusatz.
- III. 10 „ einer Phosphatmischung ($p_H = 7,35$) + 1,3 mg KCNO.

Die Resultate sind in Tabelle III und Abb. 3 zusammengestellt.

Tabelle III.

Zeit seit Beginn des Versuches Temperatur 19° C	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.		
	I.	II.	III.
6 Min.	—	0,03	—
1 Std. 30 "	0,06	—	—
2 " — "	0,30	—	—
4 " — "	—	0,27	—
23 " — "	—	—	0,07
23 " 15 "	1,13	—	—
26 " 50 "	—	0,90	—
48 " — "	—	—	0,22
48 " 15 "	1,59	—	—
	—	1,34	—

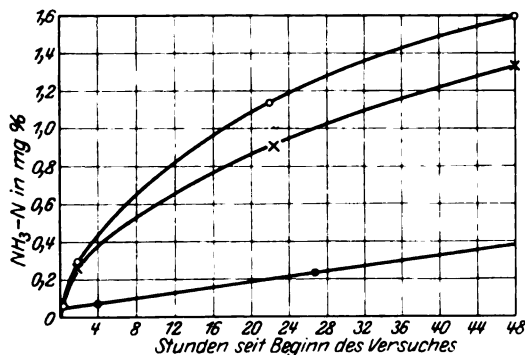


Abb. 3.

Andere Versuche sind aus Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

Datum	Kaninchen, Blut aus der A. carotis nach	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.; Temperatur 20° C		
		I.	II.	III.
21. IX.	24 Stdn.	25 ccm Blut + 2,7 mg KCNO 1,70	5 ccm Blut 1,50	45 ccm Phosphat- gemisch ($p_H = 7,35$) + 4,9 mg KCNO 0,16
		5 ccm Blut + 2,7 mg KCNO 1,60		6,4 ccm Phosphat- gemisch + 3,5 mg KCNO 0,39
3. IX.	24 "	1,60	1,20	0,39
	48 "	2,24	1,90	0,72

Tabelle IV (Fortsetzung).

Datum	Kaninchen, Blut aus der A. carotis nach	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.; Temperatur 20° C		
		I.	II.	III.
27. IX.	24 ..	10 ccm Blut + 12,5 mg KCNO 2.55	10 ccm Blut 1,82	10 ccm Phosphat- gemisch + 13,7 mg KCNO 0,84
27. IX.	24 ..	10 ccm Blut + 1,8 mg KCNO 2.02	10 ccm Blut 1,82	10 ccm Phosphat- gemisch + 1,9 mg KCNO 0,17

Es ist aus diesen Versuchen zu ersehen, daß die Ammoniakbildung im Cyanatblut sich additiv aus der Ammoniakbildung im genuinen Blute und der Cyanatspaltung bei p_H 7,35 zusammensetzt. Es zeigt sich aber auch, daß die Ammoniakbildung aus Cyanat in 24 Stunden geradlinig verläuft und beim Kaninchen nur etwa ein Zehntel der Ammoniakbildung des genuinen Blutes ausmacht. In diesem Versuch ist der Cyanatzusatz zum Blute so gewählt, daß sein Stickstoff dem abspaltbaren Ammoniakstickstoff des genuinen Blutes entspricht. Beim Hunde ist der Verlauf der Kurve prinzipiell der gleiche; dem Blute zugefügter Cyanatstickstoff übersteigt allerdings den *abspaltbaren* Ammoniakstickstoff, jedoch bleibt die Ammoniakabspaltung aus dem Cyanat weit hinter der Ammoniakbildung im genuinen Hundeblood zurück. Wären also Cyanate mit der ammoniakbildenden Substanz des Blutes identisch, so müßte die Menge der letzteren für die Bildung von 2 mg-Proz. NH_3-N etwa 20 mg-Proz. betragen und es wäre nicht einzusehen, warum die Reaktion bei 2 mg-Proz. NH_3-N zu Ende kommt; es müßten denn gleichzeitig etwa 18 mg Harnstoffstickstoff pro 100 ccm Blut entstehen; dies erscheint aber auch auf Grund der Zahlen der Versuche *Montgomerys* ausgeschlossen. Dieselben Resultate wurden am Menschenblut erhalten.

Zur Methode der Versuche sei bemerkt, daß die Ammoniakbestimmungen genau nach dem zuletzt von *Parnas* und *Klischecki* beschriebenen Verfahren ausgeführt worden sind. Als Cyanat wurde ein KCNO-Präparat von *De Haen* verwendet, das aus wässrigem, reinem Methyläthylalkohol umkristallisiert wurde. Eine Lösung dieses Salzes, welches 30 mg in 100 ccm Phosphatlösung (7,35), also 5,5 mg Stickstoff enthielt, zeigte bei der Destillation nach *Parnas* und *Heller* einen Ammoniakgehalt von 0,048 mg-Proz. NH_3-N . Das Cyanat wurde auf der mikroanalytischen Wage abgewogen und in Substanz dem Blute zugesetzt.

Die mitgeteilten Versuche zeigen also, daß die Ammoniakbildung aus Cyanat im Blute nicht anders verläuft als in einer Pufferlösung

von der gleichen Wasserstoffionenkonzentration und für Kaninchen- oder Menschenblut sehr viel geringer ist als die Ammoniakbildung im genuinen Blute. Ein noch viel größerer Unterschied zeigt sich aber im Verhalten des Cyanats und der Ammoniakmuttersubstanz nach Entweißung des Blutes, was aus folgenden Versuchen ersichtlich ist.

8. Oktober. Kaninchenblut aus der A. carotis. Folgende Proben werden aufgestellt:

- I. 5 ccm Blut werden sofort nach Entnahme in 10 ccm Wasser hämolysiert, mit 1,4 mg KCNO versetzt und gleich darauf mit 5 ccm 10proz. Natriumwolframat und 5 ccm $\frac{2}{3}$ n Schwefelsäure entweißt.
- II. Ebenso wie I, nur ohne KCNO.
- III. 15 ccm destillierten Wassers werden mit 5 ccm Natriumwolframat und 5 ccm $\frac{2}{3}$ n Schwefelsäure versetzt und dienen als Kontrolle.

Alle drei Flüssigkeitsgemische werden filtriert und in 5 ccm Filtrat, welche 1 ccm genuinen Blutes entsprechen, das Ammoniak bestimmt. Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Zeit vom Beginn der Filtration an	Ammoniakstickstoff im mg.Proz.		
	I.	II.	III.
16 Min.	0,18	—	—
25 "	—	0,18	—
35 "	—	—	0,12
18 Stdn. 46 "	1,13	—	—
18 " 55 "	—	0,18	—

Zu 2 ccm Filtrat I und II wird darauf $\frac{1}{2}$ ccm n/10 HCl hinzugefügt und nach einer halbstündigen Inkubation bei 37° die Ammoniakbestimmung ausgeführt. Nach Berücksichtigung der Verdünnung ergibt sich in Probe I 1.65 mg-Proz., in Probe II 0,19 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$.

11. Oktober. Analog wurde bei einem zweiten Kaninchen ein weiterer Versuch angesetzt. 5 ccm Blut wurden jetzt mit 2 mg KCNO versetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Zeit vom Beginn der Filtration an	Ammoniakstickstoff in mg.Proz.		
	I.	II.	III.
15 Min.	0,75	—	—
19 "	—	0,20	—
25 "	—	—	0,11
22 Stdn. 5 "	3,13	—	—
22 " 40 "	—	0,19	—
22 " 50 "	—	—	0,11

Nach 24 Stunden wurden zu zwei Proben des Filtrats II 0,5 ccm n/10 HCl bzw. 0,5 ccm destillierten Wassers hinzugefügt. Nach fünf-stündiger Inkubation bei 38° blieben beide Ammoniakwerte auf gleicher Höhe:

- I. 0,19 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$,
 II. 0,19 mg-Proz. $\text{NH}_3\text{-N}$,

berechnet auf 1 ccm genuinen Blutes.

6. Oktober. Analog wurde ein Versuch an normalem Menschenblut aus der Kubitalvene ausgeführt. Auf 5 ccm Blut kamen 1,4 mg KCN O . Tabelle VII zeigt die Resultate.

Tabelle VII.

Zeit vom Beginn der Filtration an	Ammoniakstickstoff in mg-Proz.		
	I.	II.	III.
13 Min.	0,55	—	—
19 "	—	0,14	—
25 "	—	—	0,05
18 Stdn. 40 "	1,50	—	—
19 " 5 "	—	0,16	—
19 " 20 "	—	—	0,07
40 " 14 "	1,73	—	—
40 " 40 "	—	—	0,10

Wenn eine Blutprobe, in welcher die spontane Ammoniakbildung noch nicht abgelaufen ist, mit Wolframsäure enteiweißt wird, so bleibt, wie bereits früher gezeigt worden ist, der Ammoniakgehalt auf dem Niveau, das er im Moment der Enteiweißung erreicht hat. Es läßt sich nicht sagen, ob die Säuerung oder die Entfernung kolloider Katalysatoren die Ammoniakbildung zum Stillstand bringt. Führt man denselben Versuch mit einer Blutprobe aus, die man mit Cyanat versetzt hat, so verhält sich der Ammoniakgehalt ganz anders: das Cyanat wird unter diesen Umständen schnell zu Ammoniak hydrolysiert und man sieht den Ammoniakgehalt des enteiweißten Blutes sich rasch erhöhen. Fügt man zum Filtrat einer genuinen und einer cyanathaltigen Blutprobe verdünnte Säure hinzu, so übt sie auf das erstere gar keinen Einfluß aus, steigert aber die Geschwindigkeit der Ammoniakabspaltung im Cyanatblut ganz bedeutend. Auch diese Versuche sind am Menschen- und Kaninchenblut, den Blutarten mit der reichlichsten Ammoniakbildung, ausgeführt worden. Sie beweisen aufs deutlichste, daß die Ammoniakbildung im Blute mit einer Zersetzung von Cyanaten nichts zu tun hat. Die Versuche, welche im angesäuerten und enteiweißten Filtrat keine Ammoniakbildung zeigen, beweisen außerdem folgendes: falls Cyanate im Blute enthalten sind, so kann ihr Gehalt höchstens in der Größenordnung von wenigen hundertstel Milligrammen Cyanatstickstoff in 100 ccm Blut liegen, und die Cyanatvorräte des

Blutes sind für die Ammoniakkbildung im Blute oder die Harnstoffbildung im Organismus unerheblich. Wir können in dieser Beziehung der Ansicht von *Nicloux* und *Welter* sowie von *E. Gottlieb* voll beistimmen.

Es ist auch bemerkenswert, daß — bei der Reaktion des Blutes — das aus der ammoniakkbildenden Substanz, sowie aus dem Cyanat gebildete Ammoniak gar nicht oder nur in geringem Maße von dem anwesenden überschüssigen Cyanation zur Harnstoffbildung abgefangen wird. Dies schließt auch die Anwesenheit von besonderen katalytischen Vorrichtungen im Blute aus, welche der Harnstoffbildung aus Cyanat und Ammoniak dienen würden und bei physiologisch möglichen Ammoniakkonzentrationen wirken könnten. All dies schließt natürlich eine Harnstoffbildung aus naszierenden Cyanationen im intermediären Stoffwechsel der Zellen nicht aus, es gibt aber keine Tatsache, die einen solchen Mechanismus wahrscheinlich macht.

Zusammenfassung.

Es wird durch Vergleich der Ammoniakkbildung im Blute von Mensch, Kaninchen und Hund und der Ammoniakabspaltung aus Cyanaten im Blute und im Filtrat des entweißten Blutes bewiesen, daß die Ammoniakkbildung auch nicht zu einem geringen Teile auf Cyanatspaltung zurückzuführen ist.

Die Ammoniakkbildung gibt ebenso wie das Verhalten des Harnstoffs im Blute nicht den geringsten Hinweis darauf, daß im Blute von Mensch, Hund oder Kaninchen Cyanate vorhanden wären.

Die Kosten dieser Arbeit sind aus einer Spende der *Ella Plotz-Sachs-Foundation* bestritten worden, die Prof. *Parnas* für Untersuchungen über das Blutammoniak zur Verfügung gestellt worden ist.

Versuche, die Sterilisierung von Grünfutter durch Zufuhr flüssiger Stoffe zu erreichen. I.

Von

C. Brahm

unter Mitarbeit von

Gertrud Andresen und Ruth Prillwitz.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Über den Wert und die Vorteile der Dauersaftfutterbereitung herrscht heute wohl kaum mehr ein Zweifel. Dagegen bereitet die sachgemäße Durchführung der Konservierung auch heute noch Schwierigkeiten, die beherrscht und geübt sein wollen, um ein gutes, haltbares Futter zu gewinnen. Man kann bei sämtlichen in der Praxis eingeführten Einsäuerungsmethoden, ganz gleich, ob bei Kaltsilage, Warmsilage oder Elektrosilage, ob im Silo, in der Gärkammer oder in der Erdgrube ausgeführt, immer wieder Fälle beobachten, bei denen neben der normalen Milchsäuregärung wilde Gärungen auftreten oder Eiweißzersetzen eintreten, die mit dem Auftreten von Essigsäure, Buttersäure, Propionsäure, Valeriansäure und anderen höheren Fettsäuren verbunden sind. Hierdurch leidet die Güte und Verwendungsmöglichkeit des fertigen Futters. Keines der bisher ausprobierten Verfahren bietet die absolute Gewähr dafür, daß die Futterkonservierung immer einwandfrei gelingt, also wie eine chemische Reaktion, immer denselben Gesetzen folgend, sich vollzieht. Dafür sind die Faktoren zu mannigfach, welche den ganzen Vorgang bedingen. Zunächst spielt die chemische Zusammensetzung der zu konservierenden Futtermassen eine große Rolle. Ob kohlehydratreiche oder eiweißreiche Pflanzen das Ausgangsmaterial liefern, ist von großer Bedeutung für den Ablauf

der Gärung. Eine ebenso wichtige Rolle spielt der Reifezustand und der Wassergehalt der Pflanzen. Hinzu kommt die Beschaffenheit der Silos oder Gruben, Luft- und Wasserdichtigkeit derselben, die Zerkleinerungsart der Futtermassen, die Form der Einlagerung in die Silos, ob lose oder fest geschichtet. Alle diese Momente sind von großer Bedeutung für das richtige Gelingen der Konservierung. Wir müssen des weiteren bedenken, daß die Pflanzen nach dem Abmähen nicht tot sind. Die Verbindung mit den Wurzeln, aus denen die Pflanzen den größten Teil ihres Nährstoffvorrates beziehen, ist zwar unterbrochen, aber automatisch stellen die Pflanzen ihre Lebenstätigkeit um und greifen in erhöhtem Maße die in ihren Zellen aufgespeicherten Reservevorräte an. Es setzt infolgedessen in gesteigertem Maße die intrazelluläre Atmung ein, ein Oxydationsprozeß mit einem gesteigerten Sauerstoffverbrauch und einer erhöhten Kohlensäurebildung. Der durch den nach und nach eintretenden Zelltod ausgetretene Zellsaft liefert einen ausgezeichneten Nährboden für die auf der Oberfläche der Pflanzen befindlichen Bakterien oder deren Sporen, die ihrerseits nun durch ihr Wachstum und die Wirksamkeit der während ihres Lebensprozesses sezernierten Fermente die Zusammensetzung des Futters beeinflussen. Aus allem Ausgeführten ist ersichtlich, daß für ein tadelloses Funktionieren der Grünfütterkonservierung mit das wichtigste Moment ist, die Beeinflussung des Bakterienlebens und der Fermentwirkungen in die Hand zu bekommen und dasselbe in bestimmte Bahnen zu lenken, um die durch diese Vorgänge bedingten Schädigungen und nicht unerheblichen Verluste auf das geringste Maß zu beschränken.

Die verschiedensten Vorschläge sind nach dieser Richtung gemacht worden. Ich erinnere nur an die Verwendung der das Pflanzenleben erstickenden Kohlensäure, an die Benutzung von Schwefelkohlenstoff, der schon im Jahre 1885 von *Greter* empfohlen und in neuerer Zeit durch die *Firma Silo und Kulturtechnik A.-G. Dresden* zur Erzielung einheitlicher Gärungsvorgänge angepriesen wird. Auch Dämpfe von Ameisensäure sind ebenfalls für diese Zwecke vorgeschlagen. Neben diesen gasförmigen Körpern wurde versucht, durch Zufuhr flüssiger Stoffe die Luftverdrängung zu erzwingen und dadurch eine bessere Sterilisierung zu erzielen. Den neuesten Vorschlag in dieser Richtung machte Prof. *Fingerling* auf der dritten Mitgliederversammlung des Vereins für Futtermittelkonservierung am 23. Februar 1926. Da die bisher in Deutschland gehandhabten Silageverfahren nur unter bestimmten Verhältnissen, die im praktischen Betrieb durch die Eigenart der Futterpflanzen und infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse nicht immer gegeben sind, die Bereitung einer guten Silage ermöglichen

und Fehlschläge nicht immer zu vermeiden sind, geht *Fingerlings* Vorschlag dahin, um den Gärungsprozeß wieder in die Hand zu bekommen, Salzsäure als Bekämpfungsmittel gegen die unerwünschten Bakterienarten zu verwenden und dann die Oberfläche der Futterbehälter nach der Füllung durch eine Öldecke abzuschließen. Hierdurch soll nach den Angaben dieses Autors eine sicher wirkende Konservierungsmethode gegeben sein.

Ich versuchte zunächst, in kleinen Glassilos *Fingerlings* Angaben nachzuprüfen. Bei den Versuchen benutzte ich zunächst Weißkohl, da andere Futterstoffe noch nicht zur Verfügung standen. Derselbe wurde zerkleinert und in Glaszylinder von etwa 10 cm Durchmesser und 50 cm Höhe eingedrückt. Zur Entfernung der Lufthohlräume wurde der Kohl in 0,1- bzw. 0,2proz. Salzsäure eingepreßt. Es empfiehlt sich, zunächst den Behälter etwa zu einem Viertel mit der verdünnten Salzsäure zu füllen und dann die zerkleinerte Pflanzenmasse einzubringen und einzupressen. Im umgekehrten Falle entweicht die Luft nur sehr langsam. Die vollgefüllten Zylinder wurden dann mit einem passenden schweren Glasstopfen oder mit einer mit Quecksilber gefüllten Flasche beschwert und so viel Salzsäure nachgefüllt, daß die Flüssigkeit die Kohlblätter völlig bedeckte. Dann wurde eine etwa 10 cm hohe Schicht flüssiges Paraffin aufgefüllt und die Zylinder sich selbst überlassen. Nach 3 Tagen setzte eine lebhafte Gärung mit kräftiger Gasentwicklung ein. Über die Menge und die Zusammensetzung der bei diesem Gärungsvorgang auftretenden Gase wird in einer weiteren Mitteilung berichtet werden. In Zwischenräumen von 7 Tagen wurde in der überstehenden Flüssigkeit der Gehalt an Essigsäure und Buttersäure in freier und gebundener Form festgestellt und ebenso der Gehalt an Milchsäure. Die Bestimmung dieser organischen Säuren erfolgte nach dem Verfahren von *Ducleaux* in der von *Wiegner* und seinen Mitarbeitern verbesserten Form. Die erhaltenen Säurewerte sind in den Tabellen I und II zusammengestellt.

Tabelle I.

Weißkohl unter 0,1 proz. HCl. Angesetzt am 10. März 1926.

	Saft				
	17. III. 1926 Proz.	24. III. 1926 Proz.	31. III. 1926 Proz.	14. IV. 1926 Proz.	12. V. 1926 Proz.
Essigsäure frei	0,1184	0,1401	0,136	0,1414	0,1414
Essigsäure gebunden . .	0,0311	0,0365	0,0403	0,042	0,042
Buttersäure frei	θ	θ	θ	θ	θ
Buttersäure gebunden . .	θ	θ	θ	θ	θ
Milchsäure	0,523	0,6111	0,5147	0,543	0,543

Tabelle II.

Weißkohl unter 0,2 Proz. HCl. Angesetzt am 10. März 1926.

	Saft				
	17. III. 1926	24. III. 1926	31. III. 1926	14. IV. 1926	12. V. 1926
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Essigsäure frei	0,0068	0,0101	0,0106	0,0189	0,019
Essigsäure gebunden . .	θ	θ	θ	θ	θ
Buttersäure frei	θ	θ	θ	θ	θ
Buttersäure gebunden . .	θ	θ	θ	θ	θ
Milchsäure	0,7496	0,5288	0,4146	0,3824	0,3824

Die Zusammensetzung des Anfangs- und Endproduktes und der am Schluß des Versuchs I überstehenden Flüssigkeit ist aus Tabelle III ersichtlich.

Tabelle III.

	Weißkohl Ausgangs- material frisch Proz.	Weißkohl Endprodukt unter		Überstehende Flüssigkeit am Schluß des Versuchs	
		0,10 Proz. Salzsäure Proz.	0,20 Proz. Salzsäure Proz.	0,10 Proz. HCl Proz.	0,20 Proz. HCl Proz.
		Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Wasser	92,84	94,46	96,42	98,45	98,79
Trockensubstanz	7,16	5,54	3,59	1,55	1,21
Organische Substanz . .	6,51	5,31	3,35	1,34	0,96
Protein	1,30	0,70	0,82	0,33	0,30
Fett	0,16	0,75	0,44	—	—
Rohfaser	0,87	2,08	1,16	—	—
N-freie Extraktstoffe . .	4,18	1,78	0,93	—	—
Asche	0,65	0,23	0,24	0,21	0,25
Essigsäure, frei	θ	0,1802	—	0,1414	0,019
Essigsäure, gebunden . .	θ	0,0608	—	0,042	θ
Buttersäure, frei	θ	0,0024	—	θ	θ
Buttersäure, gebunden . .	θ	0,0093	—	θ	θ
Milchsäure	θ	0,3036	—	0,543	0,3824

Da der zu den ersten orientierenden Versuchen benutzte Weißkohl nur aus den inneren Blättern bestand und die Annahme berechtigt war, daß der Befall derselben mit Bakterien oder Bakteriensporen nur sehr gering war, wurde der Versuch mit einer holländischen Weißkohlprobe wiederholt. Als Konservierungsflüssigkeit diente 0,1 Proz. Salzsäure. Die erhaltenen Säurewerte des Saftes und des fertigen Futters sind in den Tabellen IV und V zusammengestellt.

Tabelle IV.

	Saft				
	23. IV. 1926 Proz.	30. IV. 1926 Proz.	7. V. 1926 Proz.	14. V. 1926 Proz.	19. V. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,1773	0,1892	0,1903	0,2006	0,2111
Essigsäure, gebunden . .	0,0616	0,0632	0,0614	0,0614	0,0757
Buttersäure, frei	θ	θ	θ	θ	0,003
Buttersäure, gebunden . .	θ	θ	θ	θ	θ
Milchsäure	0,8888	1,1845	1,1667	1,100	1,1372

Tabelle V.

	Fertiges Futter vom 16. IV. 1926 bis 19. V. 1926 eingesäuert Proz.	Überstehende Flüssigkeit Proz.
Essigsäure, frei	0,3165	0,2111
Essigsäure, gebunden . .	0,1296	0,0757
Buttersäure, frei	θ	0,003
Buttersäure, gebunden . .	θ	θ
Milchsäure	0,4257	1,1372

Inzwischen waren schon zu Einsäuerungszwecken geeignete Futterstoffe herangewachsen. Ich wählte Rieselgras, welches mir als erster Schnitt in liebenswürdiger Weise von Herrn Administrator *Wegert*, Städtisches Gut Buch bei Berlin, zur Verfügung gestellt wurde. Dasselbe war frisch geschnitten und wurde in ungehäckseltem Zustande in die Behälter eingebracht. Genau wie bei den orientierenden Weißkohlversuchen wurde als Konservierungsflüssigkeit 0,10- und 0,20proz. Salzsäure benutzt. Der Versuch begann am 12. Mai 1926. Das Einfüllen des Grases in die Zylinder geschah in der gleichen Weise, wie oben geschildert. Die Gärung setzte innerhalb 24 Stunden ein. In der überstehenden Flüssigkeit wurden wieder in Zwischenräumen von 7 Tagen die freien und gebundenen Fettsäuren und die Milchsäure bestimmt, die gleichen Bestimmungen wurden in dem fertigen Futter ausgeführt. Die erhaltenen Resultate sind in den Tabellen VI und VII zusammengestellt.

Tabelle VI.

Versuch mit 0,10 proz. HCl. *Rieselgras*.

	Saft				Fertiges Futter
	19. V. 1926 Proz.	27. V. 1926 Proz.	3. VI. 1926 Proz.	10. VI. 1926 Proz.	26. VI. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,0973	0,1260	0,2372	0,2898	0,2499
Essigsäure, gebunden . .	0,0429	0,0450	0,0983	0,1433	0,2895
Buttersäure, frei	θ	θ	θ	θ	θ
Buttersäure, gebunden . .	θ	θ	θ	θ	θ
Milchsäure	0,5838	0,9496	1,0548	1,0118	0,7788

Tabelle VII.

Versuch mit 0,20proz. HCl. *Rieselgras.*

	Saft				Fertiges Futter
	19. V. 1926 Proz.	27. V. 1926 Proz.	3. VI. 1926 Proz.	10. VI. 1926 Proz.	29. VI. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,0529	0,1100	0,2180	0,2050	0,1223
Essigsäure, gebunden	0,0112	0,0205	0,1041	0,0875	0,3323
Buttersäure, frei	θ	θ	θ	θ	θ
Buttersäure, gebunden	θ	θ	θ	θ	θ
Milchsäure	0,6632	1,0368	0,9431	0,8203	0,6077

Zur Kontrolle wurde der Versuch mit Rieselgras wiederholt, und zwar wieder mit 0,10proz. Salzsäure. Dabei wurden nachstehende Säurewerte erhalten:

Tabelle VIII.

	Saft		Futter
	4. VI. 1926 Proz.	11. VI. 1926 Proz.	29. VI. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,1136	0,1057	0,1818
Essigsäure, gebunden	0,0431	0,0418	0,1182
Buttersäure, frei	θ	θ	θ
Buttersäure, gebunden	θ	θ	θ
Milchsäure	0,5900	1,0973	0,8983

Ein weiterer Versuch wurde dann noch einmal mit gehäckseltem Rieselgras ausgeführt, und zwar einmal unter 0,10proz. Salzsäure, der Kontrollversuch unter Wasser. Es ergaben sich nachstehende Säurewerte:

Tabelle IX.

Gehäckseltes Rieselgras unter 0,10proz. HCl.

	Saft		
	25. VI. 1926 Proz.	6. VII. 1926 Proz.	31. VIII. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,1488	0,1603	0,2353
Essigsäure, gebunden	0,1557	0,6173	0,3208
Buttersäure, frei	θ	θ	0,0086
Buttersäure, gebunden	θ	θ	0,0085
Milchsäure	0,4938	0,4062	0,0669

Tabelle X.

Gehäckseltes Rieselgras unter Wasser.

	Saft		
	25. VI. 1926 Proz.	6. VII. 1926 Proz.	1. IX. 1926 Proz.
Essigsäure, frei	0,056	0,1335	0,2659
Essigsäure, gebunden	0,321	0,3956	1,2640
Buttersäure, frei	"	"	0,0084
Buttersäure, gebunden	0,0017	"	"
Milchsäure	0,4421	0,2969	0,1039

In der Tabelle XI ist dann noch ein Versuch mitgeteilt, der ebenfalls mit Rieselgras ausgeführt wurde. Derselbe begann am 8. Juli 1926 und dauerte bis zum 2. September 1926. Das Gras wurde einmal unter Wasser, die Kontrollprobe unter 0,10proz. Salzsäure angesetzt. Es wurden nachstehende Säurewerte erhalten:

Tabelle XI.

	Rieselgras unter Wasser angesetzt	Rieselgras unter 0,10proz. HCl angesetzt
	Proz.	Proz.
Essigsäure, frei	0,1194	0,1482
Essigsäure, gebunden	0,7192	0,3554
Buttersäure, frei	0,0131	0,0085
Buttersäure, gebunden	0,0091	0,0074
Milchsäure	0,3029	0,0067

Bei den Versuchen, deren Ergebnisse in den Tabellen IX bis XI zusammengestellt sind, machte sich ein Übelstand bemerkbar, der den Gärungsverlauf anscheinend störend beeinflusste. Durch die hohe Außentemperatur begünstigt, verlief die Gärung ziemlich stürmisch. Der Druck der entstandenen Gase war so stark, daß er die zusammengepreßten Pflanzenmassen und die als Beschwerungsmittel dienenden Glasstopfen hochtrieb, so daß ein Teil des Pflanzenmaterials zeitweise nicht durch Paraffin bedeckt war. Hierdurch wurde das Auftreten wilder Gärungen begünstigt und dadurch ein erheblicher Eiweißabbau herbeigeführt. Besonders bei den Versuchen, bei denen die überstehende Flüssigkeit aus Wasser bestand, finden sich infolgedessen hohe Werte für gebundene Essigsäure. Bei den ersten Versuchen mit Rieselgras, die in kleineren Glaszylindern ausgeführt wurden und bei denen die Pflanzenmassen durch mit Quecksilber gefüllte Flaschen beschwert und dadurch ein stärkerer Druck ausgeübt wurde, trat dieser Übelstand nicht ein.

Aus den ersten orientierenden Versuchen mit Weißkohl ist zu ersehen, daß die Konservierung unter verdünnter Salzsäure die Gärung tatsächlich in dem Sinne beeinflußt, daß nur Essigsäure- bzw. Milchsäurebakterien fortkommen. Eine Buttersäuregärung wurde in der überstehenden Flüssigkeit nie, im fertigen Futter nur in Spuren beobachtet. Der Gehalt an Milchsäure blieb bei einer Salzsäurekonzentration von 0,10 Proz. während des ganzen Gärverlaufes annähernd konstant, während bei der höheren Salzsäurekonzentration von 0,20 Proz. ein stetiges Absinken der Milchsäurewerte festgestellt werden konnte. Es sind zurzeit Untersuchungen im Gange, welche die chemische Isolierung der einzelnen Säuren bezwecken. Über die Resultate wird in einer weiteren Mitteilung berichtet werden. Aus der Tabelle III, welche die Zusammensetzung der fertigen Futterkonserven enthält, ersieht man, daß ein starker Abbau an organischer Substanz und besonders an Eiweiß gegenüber dem Ausgangsmaterial stattgefunden hat. Die Verluste betragen bei der schwächeren Salzsäurekonzentration 22,62 Proz. an Trockensubstanz, 18,43 Proz. an organischer Substanz und 46,16 Proz. an Protein. Diese Verluste halten sich ungefähr in den Grenzen, die *Völtz* und *Dietrich* bei ihren vergleichenden Versuchen zwischen Milchsäurereinkulturen, Wildsäuerung und Schweizer Verfahren fanden. Sie beobachteten in der gleichen Reihenfolge für organische Substanz 13,92, 17,10 und 22,9 Proz. Verlust. Bei der Konzentration von 0,20proz. Salzsäure sind die Verluste erheblich höher, nämlich 48,54 Proz. an organischer Substanz. Die Verluste an Protein sind etwas geringer, nämlich 36,92 Proz. Der Gehalt der überstehenden Flüssigkeit an organischer Substanz und an N-haltigen Substanzen ist nicht unbeträchtlich. Für die Praxis dürfte es schwer sein, diese großen Flüssigkeitsmengen zu bewältigen. Das Ansteigen der Werte für Fett ist ohne Bedeutung, da es äußerst schwierig ist, das überstehende Paraffin quantitativ zu entfernen.

Auch bei dem Kontrollversuch mit holländischem Weißkohl unter 0,10proz. HCl konserviert, wurde keine Buttersäure festgestellt. Dagegen zeigte sich ein konstantes Ansteigen der Essigsäurewerte sowohl in freier wie in gebundener Form, eine Beobachtung, die sich auch bei dem ersten Versuch findet, und zwar bei beiden untersuchten Salzsäurekonzentrationen. Dies dürfte wohl so gedeutet werden, daß weder die 0,10- noch die 0,20proz. Salzsäure geeignet ist, dem Fortkommen der Essigsäurebakterien Einhalt zu tun. Auch bei den Versuchen mit Rieselgras sehen wir für beide Salzsäurekonzentrationen wieder eine Unterdrückung der Buttersäuregärung, während die Essigsäurebildung bei den gewählten Salzsäurekonzentrationen nicht aufgehalten werden konnte. Die in den Tabellen IX und X mitgeteilten Versuche sollten den Einfluß der Zerkleinerung des Materials auf die

Gärung zeigen, und zwar wurde das Rieselgras einmal unter Wasser und dann unter 0,10proz. Salzsäure konserviert. In den Zahlen kommt sehr deutlich zum Ausdruck, daß eine Störung der Gärung eingetreten sein muß. Infolge der Häckselung wurde den Konservierungsflüssigkeiten größere Mengen Zellsaftes zugeführt, der ein ausgezeichnetes Nährmaterial für die Bakterienflora darstellt. Begünstigt durch die hohe Sommertemperatur, trat eine intensivere Gärung ein, welche infolge der gesteigerten Gasentwicklung zusammen mit den als Beschwerungsmittel dienenden Glasstopfen das gehäckselte Rieselgras hochtrieb und dadurch den Schutz der aufliegenden Paraffinschicht aufhob. Ähnliche Beobachtungen konnte ich bei einem Großversuch machen, über welche in einer weiteren Mitteilung berichtet werden soll. Ich möchte aber hier schon sagen, daß bei Versuchen im Großen das Verfahren mir nur dann durchführbar erscheint, wenn gleichzeitig eine Presse zum Niederhalten der Pflanzenmassen in Anwendung kommt. Sowohl der Versuch in Tabelle X wie der in Tabelle XI zeigen, daß die Konservierung unter Wasser allein nicht zu guten Futtermkonserven führt.

Fasse ich die *Ergebnisse* zusammen, so kann ich aus den Kleinversuchen folgern, daß der Vorschlag von *Fingerling*, die Konservierung von Futterstoffen mit Hilfe von 0,10- bzw. 0,20proz. Salzsäure durchzuführen, in gewisser Beziehung zu einem befriedigenden Resultat führt. Es gelingt, die Buttersäuregärung durch die vorgeschlagenen Konzentrationen völlig auszuschalten, dagegen ist die Salzsäure nicht in der Lage, das Auftreten der Essigsäuregärung zu unterdrücken.

Schicksal von Glykuronsäure und Galakturonsäure im tierischen Organismus.

Von
Rudolf Hürthle.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Die Befunde *Biberfelds* über die Unangreifbarkeit der Glykuronsäure im tierischen Stoffwechsel¹⁾ sind von befreundeter Seite angezweifelt worden. *Biberfeld* verwandte zu seinen Versuchen einen nicht kristallisierenden Sirup, der nach dem *Neubergs*chen²⁾ sowie dem *Lefèvre-B. Tollens*schen Verfahren³⁾ zur Glykuronsäuredarstellung gewonnen wurde, und es besteht die Möglichkeit, daß ein der Einfachheit wegen benutzter roher Sirup nur wenig oder zersetzte Glykuronsäure enthielt. Der Nachweis der Glykuronsäure, damals nur auf polarimetrischem und titrimetrischem Wege (*Bang*) sowie nur mit den bekannten Farbenreaktionen vorgenommen, muß heute als ungenügend angesehen werden, vielmehr muß sich jetzt jeder Ausspruch über das Glykuronsäureschicksal sowohl auf tadelloses Ausgangsmaterial, wie auf das gravimetrische *C. Tollens*sche Verfahren⁴⁾ stützen können, das allein eine Gewähr dafür bietet, Glykuronsäure und nur diese zu bestimmen.

Es wurden daher mit dieser Methodik die Versuche *Biberfelds* noch einmal aufgenommen, um so mehr, als unterdessen eine neue Methode der Glykuronsäuredarstellung⁵⁾ uns ein verlässliches Ausgangs-

¹⁾ Diese Zeitschr. **65**, 480, 1914.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **33**, 3315, 1900.

³⁾ Ebendasselbst **40**, 4513, 1907.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **61**, 102, 1909.

⁵⁾ *F. Ehrlich* und *Rehorst*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **58**, 1575, 1925.

Prinzip: Die Glykuronsäureverbindung (Menthoglykuronsäure) wird nicht unter Druck, sondern auf dem Wasserbad mit verdünnter Schwefelsäure gespalten. Durch überschüssiges Barium wird die Schwefelsäure entfernt und gleichzeitig die Glykuronsäure in ihr Bariumsalz übergeführt. Durch Alkohol wird das Bariumsalz gefällt und mit Schwefelsäure die Glykuronsäure aus demselben frei gemacht.

material von genau charakterisierten Eigenschaften gewährleistet (Schmelzpunkt, Drehung, Elementaranalyse). Zunächst haben wir uns überzeugt, daß die *C. Tollens*sche Methodik bei Zusatz von kristallisierte Glykuronsäure zum Harn die verlangten analytischen Zahlen liefert.

Beispiel. Harn enthielt in 100 ccm 0,121 g Glykuronsäure, berechnet aus Furfurol liefernder Substanz. Zu 100 ccm desselben Harns hinzugefügt 0,083 g kristallisierte Glykuronsäure. Gefunden: Glykuronsäure 0,202 g, verlangt 0,204 g. Differenz: gefunden 0,081 g Glykuronsäure, verlangt 0,083 g Glykuronsäure. Ausbeute = 97,5 Proz.

Nun wurden Tierversuche angestellt. Die unten angegebene Menge Glykuronsäure¹⁾ wurde, in Wasser gelöst und mit Na_2CO_3 neutralisiert, den Tieren subkutan in 20 ccm am Haupttage (b) injiziert und der Harn der darauf folgenden 24 Stunden sowie eines Vor- und Nachtages (a bzw. c) auf seinen Gehalt an Glykuronsäure untersucht (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

Tier	Tag	Ausgesch. Glykuronsäure in g. ber. aus Furfurol- phloroglucid	b - a g	Trommer	Naphthoresorcin	Polarimetrisch
1. Kaninchen, 1800 g. erh. 0,35 g Glykuronsäure = 0,19 pro kg	a	0,266	} + 0,058	—	+	—
	b	0,324		—	++	—
	c	0,285		—	+	—
2. Hündin, 8000 g. erh. 0,7 g Glykuronsäure = 0,08 pro kg	a	0,269	} + 0,059	—	—	—
	b	0,328		—	+	—
	c	0,242		—	—	—
3. Kaninchen, 2600 g. erh. 1,7 g Glykuronsäure Na = 1,4 g Glykuronsäure = 0,54 pro kg	a	0,177	} + 0,702	—	+	—
	b	0,879		++	++	insges. + 0,22 ^o = 0,61 g Glykuronsäure
	c	0,124		—	—	
4. Hündin, 3800 g. erh. 2,2 g Glykuronsäure = 0,58 pro kg	a	0,090	} + 0,890	—	—	—
	b	0,980		++	+	insges. + 0,39 ^o = 1,1 g Glykuronsäure
	c	0,112		—	—	

Der Vollständigkeit halber wurde mit dem Harn die Reduktions- sowie die Naphthoresorcinprobe angestellt und die polarimetrische Untersuchung vorgenommen. Die polarimetrische Berechnung aus- geschiedener Glykuronsäure geschah unter der Voraussetzung,

¹⁾ Die Glykuronsäure wurde aus Mentholglykuronsäure, die nach dem üblichen Verfahren aus Kaninchenharn gewonnen wurde, zum größten Teil von Herrn Dr. *Rehorst* in liebenswürdiger Weise hergestellt, wofür auch an dieser Stelle nochmals herzlichst gedankt sei.

daß die Drehung der Säure im Harn die gleiche wie in Wasser sei ($[\alpha]_D^{21} + 36,30^{\circ}$)¹⁾.

Der Hauptwert wurde jedoch auf die gravimetrisch erfaßbare Ausscheidung gelegt.

Die beiden ersten Versuche, in denen die Tiere nur geringe Mengen der Substanz erhielten (0,19 bzw. 0,08 g pro Kilogramm), zeigen zwar eine Ausscheidung von Glykuronsäure, die außerhalb der täglichen Schwankungen liegt (nach eigens hierfür angestellten Versuchen betragen diese bis zu 25 Proz.); diese Ausscheidung ist aber sehr gering. Bei Darreichung großer Gaben von Glykuronsäure (etwa 0,5 g pro Kilogramm in den Versuchen 3 und 4) verläßt jedoch ein großer Teil derselben unverbrannt den Körper, in Versuch 3 die Hälfte der zugeführten Glykuronsäure. Daraus folgt, daß die Glykuronsäure — trotz ihrer nahen Verwandtschaft zur Glykose! — eine vom tierischen Organismus schwer angreifbare Verbindung ist.

Dieser Schluß erhielt durch folgenden Versuch noch eine weitere Stütze: Wenn der Organismus nicht imstande ist, die in der Glykuronsäure vorhandene chemische Energie auszunutzen, die Glykuronsäure also sich hierin von der ihr so nahestehenden Glykose prinzipiell unterscheidet, dann müßte es unmöglich sein, nach Insulindarreichung entstehende Krämpfe durch Glykuronsäurezufuhr zum Verschwinden zu bringen, was ja durch Zufuhr von Glykose prompt gelingt.

Versuch. Kaninchen, hat 24 Stunden gehungert, am Versuchstage 1600 g. 9 Uhr morgens, 11 Uhr morgens je 1 Insulineinheit (*Welcome*). 12 Uhr 40 Minuten heftige Krämpfe; sofort 0,33 g Glykuronsäure (mit Na_2CO_3 neutralisiert) in 5 cem intravenös. Tier bleibt halbschräg liegen, ab 12 Uhr 43 Minuten dauernd Zuckungen, Kopf sinkt auf die Unterlage, 12 Uhr 50 Minuten heftigste Krämpfe. Sofort 0,45 g Glykose intravenös. Tier richtet sich auf, läuft bald umher, zeigt Freßlust. Bis 1 Uhr 30 Minuten keine Krämpfe; bekommt Futter.

Die oben ausgesprochene Erwartung traf ein: Glykuronsäure ist nicht imstande, Insulinkrämpfe zu paralysieren.

Aus den bisherigen Darlegungen geht somit hervor, daß, verglichen mit der oxydativen Fähigkeit des Körpers, Glykose zu zerstören, diese Fähigkeit für das rein chemisch nächste Oxydationsprodukt derselben auf ein so geringes Maß eingeschränkt ist, daß der Schluß der *Biberfelds*chen Arbeit, Glykuronsäure sei kein normales Oxydationsprodukt des Zuckers im tierischen Organismus, aufrecht zu halten ist.

Es wurde nun noch ein Versuch mit kristallisierter Galakturonsäure²⁾, die aus Pektinstoffen gewonnen war, angestellt. Diese Sub-

¹⁾ Siehe *F. Ehrlich* und *Rehorst*, a. a. O.

²⁾ *E. Ehrlich* und *v. Sommerfeld*, diese Zeitschr. **168**, 263, 1926; *F. Ehrlich* und *Schubert*, diese Zeitschr. **169**, 13, 1926.

stanz hatte uns Herr Prof. *F. Ehrlich* freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Tabelle II.

Tier	Tag	Ausgesch. Furfurol- phloroglucid, ber. auf Galakturon- säure in g	b-a g	Trommer	Naptho- resorcin	Polarimetrisch
Hündin, 8000 g, erh. 0,5 g Galakturon- säure = 0,06 pro kg	a	0,224	} +0,232	—	—	—
	b	0,456		—	+	—
	c	0,187		—	—	—

Die Bestimmung der Galakturonsäure geschieht nach demselben Verfahren wie für die Glykuronsäure, sie liefert in genau der gleichen Weise Furfurol. Der Versuch zeigt, daß fast die Hälfte der zugeführten Galakturonsäure ausgeschieden ist. Vergleichen wir diesen Versuch mit Versuch 2 (Tabelle I), in dem ein Hund 0,08 g Glykuronsäure pro Kilogramm erhielt, also mehr Substanz als hier, und dabei fast nichts ausschied, so finden wir, daß der Organismus Galakturonsäure noch viel schwerer zu zerstören vermag als Glykuronsäure. Dieser Befund ist ein Analogon einmal zu dem Befunde *Hofmeisters*¹⁾, der zeigte, daß das Assimilationsvermögen für Galaktose (im Vergleich zur Glykose) sehr gering ist (beim Hunde), ferner zu dem Befunde *C. Voits*²⁾, nach dem die Leber aus der gleichen dargebotenen Menge Galaktose (im Gegensatz zur Glykose) nur verschwindend wenig Glykogen anzusetzen imstande ist.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ausgeführt, wofür ich meinen besten Dank abstatte.

¹⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 25, 240, 1889.

²⁾ Zeitschr. f. Biol. 28, 245, 1891.

Über die Schutzwirkung des Saponins bei Insulin gegen Fermente.

Von

F. Lasch und S. Brügel.

(Aus dem pharmakognostischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Die perorale Verabreichung von Insulin war bis jetzt hauptsächlich aus dem Grunde nicht möglich, weil die Fermente des Magen-Darmtraktes, und zwar Pepsin und Trypsin, dasselbe unwirksam machen.

Schon *Mac Leod*¹⁾ glaubte schließen zu dürfen, daß die perorale Nichtwirksamkeit des Insulins auf die Zerstörung durch Pepsin und Trypsin zurückzuführen sei. *Witzemann* und *Livshis*²⁾ konnten eine Zerstörung von Insulin durch Pepsin, Trypsin und Papayotin zeigen, gekocht waren diese Fermente auf Insulin ohne jede Wirkung. Nach Untersuchungen von *Shonle* und *Waldo*³⁾ wirken auch Papsin und Erepsin zerstörend. Neuerdings haben *Epstein* und *Rosenthal*⁴⁾ ausgedehnte Untersuchungen, namentlich über den Einfluß des Trypsins auf Insulin vorgenommen. Sie fanden, daß eine klinische Einheit Insulin durch 3 mg Trypsin bei einer p_H 7,0 inaktiviert werde. Durch Ansäuern ($p_H < 4,6$) werden beide Teile wieder getrennt und das Insulin wieder wirksam. Diese Reaktivierung ist auch bei 37° noch bis 42 Stunden nachher möglich. Die Hemmung von Insulin durch Trypsin trat sowohl in vitro als auch in vivo auf. Durch eine, der Insulininjektion vorangehende, getrennte Einspritzung von Trypsin allein konnte die Insulinwirkung unterdrückt werden. *Epstein* und *Rosenthal* glaubten aus ihren Versuchen schließen zu dürfen, daß die neutralisierende Wirkung des Trypsins auf das Insulin im Körper stattfindet und nicht proteolytischer Natur sei, sondern daß es sich eher um eine chemische Bindung, ähnlich wie bei Trypsin und Safranin handle. Wegen der näheren Literatur verweisen wir auf die Monographie von *Grevenstuck* und *Laqueur*⁵⁾.

Im Verlauf einer Untersuchungsreihe über die Möglichkeit, Insulin peroral resorbierbar zu machen, bedienten wir uns auch der Saponine,

¹⁾ *Mac Leod*, *Lancet* 205, 198, 1923.

²⁾ *Witzemann* und *Livshis*, *Journ. of biol. Chem.* 57, 425, 1923.

³⁾ *Shonle* und *Waldo*, ebendasselbst 58, 731, 1924.

⁴⁾ *Epstein* und *Rosenthal*, *Amer. Journ. of Physiol.* 70, 225, 1924.

⁵⁾ *Grevenstuck* und *Laqueur*, *Insulin*. München, Bergmann 1925.

und zwar auf Grund ihrer resorptionsfördernden Eigenschaften. Hinsichtlich der Pharmakologie derselben sei auf die ausführliche Arbeit *R. Wasickys*¹⁾ verwiesen.

Bei diesen Versuchen machten wir die überraschende Feststellung, daß Saponinum purum albissimum *Merck* (wir haben vorerst nur dieses in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen) Insulin vollkommen vor den Einwirkungen von Pepsin und Trypsin in vitro und in vivo zu schützen vermag. Es gelang uns auch tatsächlich, durch Beigabe von 0,5 g Saponinum purum albissimum *Merck* Insulin peroral bei Tier und Mensch resorbierbar zu machen und eine länger dauernde Senkung des Blutzuckers hervorzurufen. Hierüber ist bereits andernorts berichtet worden²⁾. Wir haben nun eingehende Versuche über die antifermentative Wirkung des Saponinum purum albissimum *Merck* in Hinsicht auf das Insulin vorgenommen, die nachstehend mitgeteilt werden.

Von Fermenten zogen wir Pepsin und Trypsin in den Bereich unserer Untersuchungen. Es war von vornherein unbedingt auf die p_H bei der die einzelnen Fermente auf Insulin wirken, genau zu achten, außerdem die Wirksamkeit von Insulin auf der gleichen p_H festzustellen und endlich die insulinartige Wirkung von Saponin allein auszuschließen. Insulin wird in saurer Lösung fast gar nicht, jedoch durch längeres Verweilen in alkalischer Lösung inaktiviert (Literatur bei *Laqueur*)³⁾. — Von allen Alkalien hat Na_2CO_3 den geringsten Einfluß auch bei längerem Verweilen auf Insulin. Wir verwendeten daher zur Herstellung der Pufferlösung für die Trypsinversuche Natriumcarbonatlösungen, und zwar derart, daß Trypsin auf das Insulin bei einer p_H von 7,5 einwirkte. Pepsin gelangte in salzsaurer Lösung bei einer p_H von 2,8 auf Insulin zur Wirkung. Als Fermentpräparate nahmen wir Pepsinum purissimum von *Parke* und *Davis* und Trypsinum purissimum *Merck*, als Insulin solches von *Burroughs* und *Wellcome* (0,5 ccm enthält 10 klinische Einheiten), als Saponin Saponinum purum albissimum *Merck* mit dem hämolytischen Index 1 : 20,275 (bei Rattenblut).

Die Versuchsanordnung war derart, daß immer zwei Versuche gleichzeitig vorgenommen wurden. Es wurden zwei sonst vollkommen gleiche Lösungen von Trypsin oder Pepsin, Insulin und Pufferlösung hergestellt, in der einen eine geringe Menge (10 mg) Saponin gelöst und beide Lösungen eine bestimmte Zeit im Wasserthermostaten bei der entsprechenden Temperatur belassen. Darauf wurden beide Lösungen

¹⁾ *Wasicky*, Wien. klin. Wochenschr. 1926, Nr. 38, S. 1095.

²⁾ *Lasch* und *Brügel*, Wien. klin. Wochenschr. 28, 1926; Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 1926 (im Druck).

³⁾ *Grevenstuck* und *Laqueur*, l. c.

auf ihre noch vorhandene Insulinwirkung bei annähernd gleich schweren Tieren und den gleichen Dosierungen untersucht. Zur Feststellung der Insulinwirkung bedienten wir uns der biologischen Methode, indem der Blutzucker vorerst nüchtern und im Anschluß an die subkutane Injektion zuerst halbstündlich und dann in stündlichen Intervallen bis zu 3 Stunden untersucht wurde. Aus einem Absinken des Blutzuckerspiegels konnte auf eine Insulinwirkung annähernd quantitativ geschlossen werden. In entsprechenden Kontrollversuchen überzeugten wir uns, daß einerseits Insulin bei völlig gleicher Versuchsanordnung in der entsprechenden p_H , wie sie in den Hauptversuchen verwendet wurde, seine Wirksamkeit völlig entfalte. Außerdem konnten wir nachweisen, daß weder die verwendete Menge Saponin, noch die Pufferlösungen von entsprechender p_H selbst irgend einen Einfluß auf den Blutzucker ausübten. Wir haben uns ferner stets von der Wirksamkeit der verwendeten Fermentpräparate in täglichen in-vitro-Versuchen auf Caseinhydrolyse überzeugt.

Den Blutzucker bestimmten wir nach *Bang II*, die p_H mit der kolorimetrischen Methode mittels Indikatorenreihen nach *L. Michaelis*. Die Blutzuckerwerte sind stets Mittelwerte aus zwei gut übereinstimmenden Analysen. Wir haben die Wirksamkeit des Insulins an Kaninchen, Hunden und auch in mehreren Selbstversuchen an gesunden Menschen geprüft, um uns von der Gleichartigkeit der antifermentativen Wirkung des Saponins bei allen Versuchsobjekten überzeugen zu können.

I. Versuche mit Pepsin.

Die Pepsinlösung war 1proz. in $n/2$ HCl gelöst. Es wurden für die Versuche stets folgende Lösungen verwendet:

Lösung I: 0,25 ccm Insulin,
0,50 „ salzsaure Pepsinlösung,
0,25 „ Aqua dest.

Lösung II: 0,25 ccm Insulin,
0,50 „ salzsaure Pepsinlösung,
0,25 „ Aqua dest., in diesem 10 mg Saponinum
purum albissimum *Merck* gelöst.

Lösung K_I: 0,5 ccm $n/2$ HCl,
0,25 „ Insulin,
0,25 „ Aqua dest.

Lösung K_{III}: 0,01 g Saponin,
1,0 ccm Aqua dest.

Die Lösungen wurden täglich stets frisch bereitet, hatten beide die $p_H = 2,8$ und wurden 15 Minuten bei einer Temperatur von 38° im Wasserthermostaten gehalten. In einer Anzahl von Versuchen injizierten wir diese Lösungen auch 1 bis 2 Minuten nach ihrer Bereitung ohne Erwärmen. Es konnte kein Unterschied gegenüber den im Wasserbad belassenen gefunden werden. Die Versuchstiere und Menschen waren vorher 12 bis

15 Stunden völlig ohne Nahrung und Flüssigkeitszufuhr. Es wurden stets an einem Tage zwei Tiere, das eine mit, das andere ohne Saponin injiziert. Am nächsten Tage wurden die gleichen Tiere mit den vertauschten Lösungen injiziert (es erhielt demnach das Tier, welches am Vortage Lösung I erhalten hatte, jetzt Lösung II und umgekehrt), um uns von der gleichen Reaktionsweise überzeugen zu können. Injiziert wurden stets, wo nichts anderes angegeben ist, 0,5 ccm jeder Lösung subkutan (das sind 2,5 klinische Einheiten).

Die Versuchsergebnisse seien nachstehend tabellarisch übersichtlich wiedergegeben.

Tabelle I.
Versuche an Kaninchen.

Nr.	Geschlecht	Gewicht g	Datum 1926	Injizierte Lösung	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1	♀	2200	4. VII.	I	0.155*)		0.157		0.155
			5. VII.	II Ka	0.137*)		0.086		0.112
2	♂	1800	5. VII.	I	0.137*)		0.139		0.139
			4. VII.	II Ka	0.120		0.064		0.112
3	♂	1500	7. VII.	II	0.203*)		0.121		0.160
			8. VII.	I	0.123		0.121		0.123
4	♂	1700	8. VII.	II Ka	0.178		0.101		0.144
			7. VII.	I	0.121		0.120		0.121
5	♀	2250	9. VII.	I	0.115		0.111		0.115
			8. VII.	II	0.120		0.065		0.110
6	♀	1800	10. VII.	II Ka	0.117		0.054		0.101
			11. VII.	I	0.111		0.111		0.113
7	♂	2200	11. VII.	I	0.117		0.117		0.117
			10. VII.	II	0.110		0.064		0.046
8	♀	1800	20. IX.	I	0.093	0.103	0.098	0.105	
			21. IX.	II	0.148	0.143	0.117	0.085**)	
9	♂	1900	20. IX.	II	0.085	0.046	0.039†)	0.103	
			21. IX.	I	0.085	0.094	0.096	0.086	
10	♀	2200	22. IX.	II	0.096	0.082	0.042	0.032	
			23. IX.	I	0.078	0.074	0.084		

Ka = die Lösung wurde sofort nach der Bereitung ohne Verweilen im Wasserbad injiziert.

*) Die Tiere waren nicht nüchtern. — **) † Hypoglykämie. — †) Sehr starke Krämpfe. 10 ccm Traubenzucker i. v., 40 ccm Traubenzucker s. c.

Tabelle II.
Versuche an Hunden.

Nr.	Geschlecht	Gewicht g	Datum 1926	Injizierte Lösung	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1	♀	5.0	15. VII.	I	0.099	0.087	0.095		
			16. VII.	II	0.097	0.050		0.082	
2	♀	10.0	15. VII.	II	0.097	0.053	0.082		
			16. VII.	I	0.095	0.096	0.095		
3	♀	5.0	18. VII.	K I	0.098	0.050	0.070		
2	♀	5.0	20. VII.	K III	0.090	0.088	0.090		
4	♀	6.0	2. X.	I	0.092	0.060	0.053	0.042	
			3. X.	II	0.078	0.082	0.092	0.092	
5	♀	12.0	2. X.	II	0.104	0.103	0.100	0.103	
			3. X.	I	0.080	0.053	0.046	0.032*)	

*) Hypoglykämische Symptome.

Tabelle III.

Versuche an Menschen.

Nr. und Alter	Geschlecht	Gewicht kg	Datum 19 6	Injizierte Lösung 1 ccm	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1 B.	♂	64,2	10. X.	II	0,107	0,071	0,060*)	0,082	
20 J.			11. X.	I	0,078	0,082	0,081	0,083	
2 L.	♂	76,0	10. X.	I	0,092	0,089	0,091	0,087	
29 J.			11. X.	II	0,082	0,053†)	0,044†)		

*) Starkes Unwohlsein, jedoch vorübergehend. — †) Bereits nach 30' sehr starker hypoglykämischer Symptomenkomplex, der erst nach reichlichem Essen verschwindet.

Diese Tabellen zeigen eindeutig, daß durch Beigabe von 10 mg Saponinum purum albissimum *Merck* bei sonst gleichen Bedingungen und Kontrollversuchen die Inaktivierung oder Zerstörung von Insulin durch Pepsin ausgeblieben ist. Es trat in allen Versuchen, bei denen 10 mg Saponin den Lösungen beigegeben waren, ein starker Blutzuckerabfall und bei einem Teil auch hypoglykämische Krämpfe ein (letztere konnten durch Traubenzuckerzufuhr prompt beseitigt werden). Ohne Saponinzusatz wurde das Insulin in allen Versuchen durch Pepsin völlig unwirksam gemacht. Die Wasserstoffionenkonzentration von 2,8 hatte, wie die Kontrollen zeigen, allein keinen Einfluß auf die Wirksamkeit des Insulins. Durch Saponin wurde diese p_H nicht verändert und hatte das Saponin selbst wie auch eine Lösung von p_H 2,8 allein keinen Einfluß auf den Nüchternwert des Blutzuckers bei Tier und Mensch. Die Differenz des Blutzuckerausgangswertes und des tiefsten Standes desselben war, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, bei gleicher Dosierung in allen Versuchen fast völlig konstant.

II. Versuche mit Trypsin.

Die Trypsinlösungen waren 1proz. in destilliertem Wasser. Für die Versuche wurden folgende Lösungen verwendet.

- Lösung I: 0,25 ccm 1proz. Trypsinlösung,
0,25 „ Insulin,
0,50 „ 0,1proz. Natriumcarbonatlösung.
- Lösung II: 0,25 ccm 1proz. Trypsinlösung,
0,25 „ Insulin,
0,50 „ 0,1proz. Natriumcarbonatlösung, in welcher
10 mg Saponinum purum albissimum *Merck*
gelöst waren.
- Lösung K_{III}: 0,25 ccm Aqua dest.,
0,25 „ Insulin,
0,50 „ 0,1proz. Na₂CO₃-Lösung.

Die Lösungen wurden täglich frisch bereitet, hatten eine p_H von 7,4 und wurden 60 Minuten im Wasserbad bei 40° gehalten. Auch hier haben wir in einer Anzahl von Versuchen die Lösungen 1 bis 2 Minuten nach ihrer Bereitung injiziert. Wir haben auch hierbei keinen Unterschied gegenüber den im Wasserbad gehaltenen Lösungen feststellen können.

Im übrigen war die Versuchsanordnung völlig wie die bei den Versuchen mit Pepsin. Die Blutabnahmen erfolgten nüchtern vor der Injektion,

30 Minuten nachher und weiter in Stundenintervallen bis 3 Stunden. Auch bei diesen Untersuchungen wurden stets zwei Tiere verwendet. Am ersten Tage erhielt das erste Tier Lösung I, das zweite Lösung II, am nächsten Tage das erste Tier Lösung II, das zweite Lösung I, um auch hier eine möglichst gleiche Reaktion zu bekommen. Die Tiere waren annähernd gleich schwer, die Dosis war bei beiden die gleiche, und zwar, wo nichts anders angegeben ist, 0,5 ccm der entsprechenden Lösung (das sind 2,5 klinische Einheiten). Nachstehend seien die Ergebnisse tabellarisch übersichtlich wiedergegeben.

Tabelle IV.

Versuche an Kaninchen.

Nr.	Geschlecht	Gewicht g	Datum 1926	Injizierte Lösung	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1	♀	2550	12. VII.	I	0,119		0,117		0,117
			13. VII.	II	0,116		0,059		0,113
2	♀	1800	12. VII.	II	0,106		0,065		0,103
			13. VII.	I	0,108		0,109		0,108
3	♂	1800	14. VII.	I	0,103		0,103		0,105
			15. VII.	II	0,086		0,032*)		0,116
4	♂	1500	14. VII.	II	0,126		0,062		0,103
			15. VII.	I	0,117		0,112		0,114
5	♀	2800	5. X.	I	0,085	0,094	0,094	0,094	
			6. X.	II	0,101	0,053	0,044	0,035**)	0,121†)
6	♀	2000	5. X.	II	0,096	0,082	0,050	0,080	
			6. X.	I	0,091	0,094	0,094	0,096	

*) Starke hypoglykämische Krämpfe, Besserung nach Traubenzuckerzufuhr. — **) Starke hypoglykämische Krämpfe, auf Traubenzuckerzufuhr Besserung. — †) Blutzucker nach Traubenzucker.

Tabelle V.

Versuche an Hunden.

Nr.	Geschlecht	Gewicht g	Datum 1926	Injizierte Lösung	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1	♀	5,0	16. VII.	I	0,100		0,101		0,103
			17. VII.	II	0,089		0,035		0,053
2	♀	10,0	16. VII.	II	0,085		0,050		0,082
			17. VII.	I	0,078		0,080		0,092
3	♀	6,0	7. X.	I	0,096	0,080	0,042	0,035	
			8. X.	II	0,078	0,086	0,085	0,084	
4	♀	12,0	7. X.	II	0,100	0,094	0,091	0,103	
			8. X.	I	0,078	0,040	0,040*)	0,059	
2	♀	5,0	19. VII.	K III	0,111		0,048†)		

*) Sehr starker hypoglykämischer Symptomenkomplex. — †) Sehr starke hypoglykämische Krämpfe, auf Traubenzuckerzufuhr Erholung.

Tabelle VI.
Versuche an Menschen.

Nr. und Alter	Geschlecht	Gewicht kg	Datum 1926	Injizierte Lösung 1 ccm	Blutzuckerwerte in g-Proz.				
					vorher	nach 30'	nach 60'	nach 120'	nach 180'
1 B.	♂	64,2	12. X.	I	0,089	0,089	0,087	0,088	
25 J.			13. X.	II	0,092	0,064	0,050 *	0,042 *)	
2 L.	♂	76,0	12. X.	II	0,092	0,035 †)	0,046 †)		
29 J.			13. X.	I	0,082	0,089	0,085	0,080	

*) Sehr starkes Schwächegefühl und Zittern, auf Essen Besserung. — †) Sehr starker hypoglykämischer Symptomenkomplex, auf reichlich Essen Erholung.

Die Tabellen zeigen eindeutig, daß in allen Versuchen, bei denen 10 mg Saponinum purum albissimum *Merck* den injizierten Lösungen beigegeben worden waren, das Insulin vor der Inaktivierung durch Trypsin geschützt wurde und bei der Injektion völlig zur Wirkung gelangte. Ohne Saponinzusatz wurde das Insulin durch das Trypsin vollkommen inaktiviert. Die entsprechenden Kontrollversuche lassen erkennen, daß durch den einstündigen Aufenthalt des Insulins bei 40° (im Wasserthermostaten) in einer Natriumcarbonatlösung von $p_H = 7,4$ die Wirksamkeit desselben nicht verändert wird, ferner, daß diese Lösung allein keinen Einfluß auf den Blutzuckerwert der Versuchstiere ausübte. Auch bei den Trypsinversuchen war die Größe des Blutzuckerabfalls bei der gleichen Insulindosis in allen Versuchen annähernd dieselbe.

Die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse lassen eindeutig erkennen, daß durch Beigabe von 10 mg Saponinum purum albissimum *Merck* bei allen Vorsichtsmaßregeln und Kontrollversuchen Insulin völlig vor dem Unwirksamwerden durch die Fermente Pepsin und Trypsin sowohl in vivo als auch in vitro geschützt wird. Diese Versuche bestätigen ferner die schon erwähnten Ergebnisse *Epsteins* und *Rosenthals*¹⁾, nach welchen Trypsin auch im Körper Insulin inaktiviert. Über die antifermentative Wirkung von Saponinen im allgemeinen und von Saponinum purum albissimum *Merck* im besonderen haben wir in der uns zugänglichen Literatur nur vereinzelte Angaben finden können. So bemerkt *St. K. Mayer*²⁾, daß die Pepsinwirkung durch Sarsaparillasaponine gehemmt würde. Er entnimmt diese Angaben anscheinend dem Werke von *L. Lewin*, „Nebenwirkungen der Arzneimittel“³⁾. Genauere Angaben haben wir jedoch auch dort nicht finden können. *Kobert*⁴⁾ stellte in seiner Monographie über Saponine eine vollkommene Unwirksamkeit derselben auf Fermente fest (in vitro), im Gegenteil sollen Saponine durch verschiedene Fermente gespalten werden.

Wir haben ferner in-vitro-Versuche vorgenommen, um zu erkennen, ob die hemmende Wirkung von Saponinum purum albissimum *Merck* auch bei Caseinhydrolyse von Pepsin und Trypsin aufträte. Wir verwandten dabei die Methoden von *Gross* für Pepsin und die von *Gross, Fulda*

1) *Epstein* und *Rosenthal*, l. c.

2) *St. K. Mayer*, Arch. f. Dermatol. u. Syph. 150, 26, 1926.

3) *L. Lewin*, Nebenwirkungen der Arzneimittel. Berlin, Hirschwald, 1893.

4) *Kobert* in *Heffters Handb. d. exper. Pharm.* 2, 1488. Berlin, Springer, 1924.

und *Michaelis* beschriebene für Trypsin (genauere Angaben siehe bei *P. Rona*, „*Fermentmethoden*“¹⁾). Wir haben jedoch in diesen Versuchen bis jetzt keine vollkommene Klarheit gewinnen können, namentlich deshalb, weil Saponinum purum albissimum *Merck* schon in nicht allzu hoher Konzentration selbst anscheinend Eiweiß verdaut. Diese Eigenschaft blieb auch nach Kochen der Saponinlösungen (um eventuelle Enzymwirkungen durch Verunreinigungen auszuschließen) bestehen. Diese Versuche werden fortgesetzt und später darüber berichtet werden.

Die Ergebnisse der hier mitgeteilten Untersuchungen zeigen die bemerkenswerte Tatsache, daß es gelingt, durch Beigabe relativ kleiner Mengen von Saponinum purum albissimum *Merck* die Inaktivierung von Insulin durch Pepsin und Trypsin zu verhindern. Dadurch schien die Möglichkeit gegeben, durch Beigabe dieses Saponins Insulin bei peroraler Verabreichung vor der Einwirkung dieser wichtigsten Fermente des Magen-Darmtraktes (Pepsin und Trypsin) zu schützen und zugleich infolge der resorptionsfördernden Eigenschaften der Saponine eine bessere Resorption des Insulins zu erzielen. Die daraufhin vorgenommenen Versuche an Tier und Mensch haben unsere Annahme bestätigt. Die ausführliche Mitteilung darüber erscheint, wie schon oben erwähnt wurde, an anderer Stelle.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die hemmende Wirkung von Saponinum purum albissimum *Merck* auf die fermentative Inaktivierung von Insulin durch Pepsin und Trypsin an Tier und Mensch untersucht.

2. Es konnte in vitro und auch in vivo gezeigt werden, daß durch Beigabe von 10 mg Saponinum purum albissimum *Merck* Insulin vor der fermentativen Inaktivierung durch Pepsin und Trypsin geschützt wird und seine physiologische Wirksamkeit zu entfalten vermag.

3. Es wurde auf Grund dieser Versuche die perorale Verabreichung von Insulin mit Beigabe von Saponin ermöglicht.

¹⁾ *P. Rona*, *Fermentmethoden*. Berlin, Springer, 1926.

Ernährungslehre und Variationsstatistik.

IV. Mitteilung:

Vergleich der chemischen Eigenschaften einiger Weizensorten.

Von

L. Berczeller und H. Wastl.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

In der dritten Mitteilung¹⁾ konnte am Beispiel des Cellulosegehaltes gezeigt werden, daß verschiedene Weizensorten charakteristische Unterschiede aufweisen. An dieser Stelle sollen die verschiedenen chemischen Eigenschaften des Weizens, welche Zaharia²⁾ in seiner Arbeit unterscheidet, im allgemeinen verglichen werden. Zugleich dient diese Untersuchung in gewissem Sinne als Kontrolle für die in der ersten Mitteilung gefundenen Regelmäßigkeiten in den Variationskurven der einzelnen chemischen Eigenschaften des Weizens, indem hier geprüft werden soll, inwiefern diese Befunde auch regelmäßig bei den *einzelnen Weizensorten* nachzuweisen sind. Allerdings erwächst schon in diesem Falle, bei einem verhältnismäßig sehr großen Material, die Schwierigkeit, daß bei Aufstellung von Untergruppen die Anzahl der Fälle in einer Gruppe abnimmt und bald zu gering wird, um eine regelmäßige Verteilung der Fälle und sichere Gesetzmäßigkeiten zu beobachten.

Es muß also unser Hauptaugenmerk darauf gerichtet sein, die Systematik so zu gestalten, daß einerseits eine mögliche Trennung der Untergruppen, soweit es notwendig ist, geschaffen werde und andererseits nicht zu wenig Fälle in diese Untergruppen fallen. Es soll an dem vorliegenden Beispiel gezeigt werden, daß man in der Auswahl des Materials systematisch vorgehen muß, um nicht den Zufall bei der Untersuchung der Einzelfälle walten zu lassen und um wirklich die Grenzen der Möglichkeiten bestimmen zu können.

¹⁾ Diese Zeitschr. 177, 190, 1926.

²⁾ Le Blé Roumain, 581 S. Bukarest 1910.

Tabelle I.

Eiweiß-, Fett- und Aschegehalt der verschiedenen Weizensorten (I bis IV)
in den Jahren 1900 bis 1905¹⁾.

a) Eiweißgehalt der Weizenkörner.

Eiweiß (Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fälle						Verteilung in Proz. der Gesamtzahl						Σ	
	1900	1901	1902	1903	1904	1905	Σ	1900	1901	1902	1903	1904		1905
Weizen I.														
8,5														
9,5	2		9		1		12	1,3		3,2		0,7	1,3	
10,5	13		46	2	9	3	73	8,6		16,4	1,5	6,0	2,1	7,7
11,5	17	2	58	3	14	21	115	11,3	2,1	20,6	2,3	9,3	14,9	12,1
12,5	24	9	68	12	23	31	167	15,9	9,5	24,2	9,2	15,3	22,0	17,6
13,5	40	11	37	23	29	39	179	26,5	11,6	13,2	17,7	19,8	27,7	18,9
14,5	21	20	29	26	22	20	138	13,9	21,1	10,3	20,0	14,7	14,2	14,6
15,5	21	26	12	34	16	9	118	13,9	27,4	4,3	26,2	10,7	6,4	12,4
16,5	9	16	10	12	15	12	74	6,0	16,8	3,6	9,2	10,0	8,5	7,8
17,5	3	5	8	12	7	4	39	2,0	5,3	2,8	9,2	4,7	2,8	4,1
18,5	1	4	2	1	8	2	18	0,7	4,2	0,7	0,7	5,3	1,4	1,9
19,5		2	2	2	2		8		2,1	0,7	1,5	1,3		0,8
20,5				2	3		5				1,5	2,1		0,5
21,5				1	1		2				0,7	0,7		0,2
Σ . . .	151	95	281	130	150	141	948							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,95	1,70	2,04	2,04	2,26	1,76	2,26
Weizen II.														
8,5														
9,5	2		5		8		15	0,9		2,3		3,3		1,1
10,5	17		33		25	13	38	8,1		15,1		10,2	2,7	6,4
11,5	36	6	62	2	35	53	194	17,1	5,0	28,3	2,0	14,3	11,1	14,2
12,5	47	29	49	20	88	113	296	22,3	24,2	22,4	20,4	15,6	23,7	21,6
13,5	51	30	32	26	37	126	302	24,2	25,0	14,6	26,5	15,2	26,4	22,1
14,5	28	20	17	28	26	90	209	13,3	16,7	7,8	23,6	10,7	18,9	15,3
15,5	20	17	14	12	24	35	122	9,5	14,2	6,4	12,2	9,8	7,3	8,9
16,5	6	13	2	5	17	32	75	2,8	10,8	0,9	5,1	7,0	6,7	5,5
17,5	4	2	3	5	17	8	39	1,9	1,7	1,4	5,1	7,0	1,7	2,9
18,5		2	2		17	4	25		1,7	0,9		7,0	0,8	1,9
19,5		1				3	4		0,9				0,6	0,3
20,5														
21,5														
Σ . . .	211	120	219	98	244	477	1369							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,84	1,70	1,95	1,52	1,95	1,86	2,05

¹⁾ Cellulosegehalt siehe III. Mitteilung, diese Zeitschr. 177. 191—192. 1926.

Tabelle I. a) (Fortsetzung).

Erweib Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Gesamtzahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen III.														
8,5			1				1			0,6				0,1
9,5			2				2			1,2				0,3
10,5	5		40		27	3	75	11,4		25,0		15,7	1,8	9,7
11,5	7	5	60	9	18	24	123	15,9	5,5	37,5	6,5	10,5	14,3	15,9
12,5	12	17	32	24	18	51	154	27,3	18,7	20,0	17,3	10,5	30,4	19,9
13,5	14	26	12	33	20	44	149	21,8	28,6	7,6	23,7	11,6	26,2	19,3
14,5	5	17	6	34	29	22	113	11,4	18,7	3,8	24,5	16,9	13,1	14,6
15,5	1	16	6	23	19	11	76	2,3	17,6	3,8	16,5	11,6	6,5	9,8
16,5		6	1	13	16	9	45		6,6	0,6	9,4	9,3	5,4	5,8
17,5		1		1	12	2	16		1,1		0,7	7,0	1,2	2,1
18,5		3		2	8	1	14		3,3		1,5	4,7	0,6	1,8
19,5					2	1	3					1,2	0,6	0,4
20,5					2		2					1,2		0,3
21,5					1		1					0,6		0,1
Σ . . .	44	91	160	139	172	168	774							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,48	1,61	1,94	1,61	1,95	1,86	2,53
Weizen IV.														
8,5														
9,5	1		3		5	1	10	2,0		3,3		4,1	0,6	1,7
10,5	4	2	20		9	2	37	8,2	3,6	22,2		7,3	1,2	6,3
11,5	15	5	31	3	25	17	96	30,6	9,1	34,5	2,8	20,3	10,6	16,4
12,5	12	3	23	15	22	37	112	24,5	5,5	25,6	13,8	17,9	23,1	19,1
13,5	7	12	10	37	14	41	121	14,3	21,8	11,1	33,9	11,4	25,6	20,6
14,5	3	7	3	29	12	36	90	6,1	12,7	3,3	26,6	9,8	22,5	15,4
15,5	3	9		16	14	23	65	6,1	16,4		14,7	11,4	14,4	11,1
16,5	3	5		5	10	3	26	6,1	9,1		4,6	8,1	1,9	4,4
17,5	1	11		3	8		23	2,0	20,0		2,8	6,5		3,9
18,5				1	3		4				0,9	2,4		0,7
19,5		1			1		2		1,8			0,8		0,3
20,5														
21,1														
Σ . . .	49	55	90	109	123	160	586							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,84	1,86	1,53	1,61	2,04	1,74	2,05

Tabelle I.

b) Fettgehalt der Weizenkörner.

Fett (Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fülle						Σ	Verteilung in Proz. der Füllezahl						Σ				
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905					
1,45																		
1,55			20	3			23			7,7	2,3						2,5	
1,65	6	16	115	27	5		169	4,2	16,3	44,1	20,9	3,3					18,3	
1,75	45	41	84	50	32	3	255	31,5	41,8	32,2	88,8	21,1	2,2				27,7	
1,85	54	33	40	28	45	31	231	87,8	33,7	15,4	21,7	29,6	20,8				25,1	
1,95	31	6	1	12	37	59	146	21,7	6,1	0,4	9,3	24,3	42,4				15,8	
2,05	6	1	1	4	25	36	73	4,2	1,2	0,4	3,1	16,5	25,9				7,9	
2,15	1	1		3	7	8	20	0,7	1,2			2,3	4,6				2,2	
2,25				2	1	1	4					1,5	0,7				0,4	
2,35						1	1										0,1	
2,45																		
2,55																		
2,65																		
Σ . . .	143	98	261	129	152	139	922											
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,30	1,30	1,32	1,45	1,36	1,34	1,52				

Weizen II.

1,45			1				1			0,5								0,07
1,55	1	1	12	1			15	0,5	0,8	5,4	1,1							1,1
1,65	14	21	68	19	7	2	131	6,6	17,6	30,6	19,2	2,9	0,4					9,5
1,75	17	49	98	29	56	23	322	31,2	41,2	44,1	29,8	22,9	4,8					23,3
1,85	75	35	34	24	79	127	374	84,9	29,4	15,3	24,2	82,4	26,7					27,0
1,95	32	7	8	14	71	192	324	14,9	5,9	3,6	14,1	29,1	89,7					23,4
2,05	22	1	1	8	20	108	160	10,2	0,8	0,5	8,1	8,2	22,3					11,6
2,15	4			2	9	26	41	1,9				2,1	3,7					3,0
2,25			3	1	2	5	11		2,4			1,1	0,8					0,8
2,35																		
2,45			1	1		1	3		0,8			1,1						0,2
2,55			1				1		0,8									0,07
2,65																		
Σ . . .	215	119	222	99	244	484	1383											
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,39	1,64	1,41	1,58	1,36	1,48	1,76				

Tabelle I.
b) (Fortsetzung).

Fett (Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Fällezahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen III.														
1,45														
1,55		2	3	1			6		2,6	1,9	0,8			0,8
1,65	4	15	60	18	6		103	8,5	15,5	37,7	13,5	3,4		13,3
1,75	13	49	68	44	36	5	215	27,7	50,8	42,8	33,1	20,5	3,0	27,7
1,85	16	22	25	32	68	54	217	34,1	22,7	15,7	24,1	38,6	32,7	27,9
1,96	13	9	2	26	43	65	158	27,7	9,3	1,3	19,5	24,4	39,4	20,3
2,05			1	6	18	29	54			0,6	4,6	10,2	17,6	7,0
2,15	1			3	3	9	16	2,1			2,3	1,7	5,5	2,1
2,25				1	2	1	4				0,8	1,1	0,6	0,5
2,35						2	2						1,2	0,3
2,45				1			1				0,8			0,1
2,55				1			1				0,8			0,1
2,65														
Σ . . .	47	97	159	133	176	165	777							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,30	1,26	1,32	1,64	1,36	1,34	1,65
Weizen IV.														
1,45														
1,55		1		3	1		5		1,8		2,8	0,8		0,8
1,65	1	19	48	28	3		94	2,1	33,9	46,8	26,0	2,4		16,0
1,75	12	26	38	88	29	14	157	25,5	46,4	40,9	35,2	23,6	8,6	26,7
1,85	22	6	11	22	45	40	146	46,8	10,7	11,8	20,4	36,6	24,7	24,8
1,95	11	4	1	12	29	63	120	23,4	7,1	1,1	11,1	23,6	38,9	20,4
2,05	1			4	11	32	48	2,1			3,7	8,9	19,7	8,1
2,15				1	4	10	15				0,9	3,2	6,2	2,5
2,25					1	1	2					0,8	0,6	0,3
2,35						2	2						1,2	0,3
2,45														
2,55														
2,65														
Σ . . .	47	56	93	108	123	162	589							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,24	1,26	1,18	1,39	1,45	1,39	1,52

Tabelle I. c) Aschegehalt der Weizenkörner.

Asche (Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fälle						Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ	
	1900	1901	1902	1903	1904	1905	1900	1901	1902	1903	1904	1905		
Weizen I.														
1.35	2		1				3	1,4		0,4				0,3
1.45	9		3		2		14	6,3		1,1		1,3		1,5
1.55	8		3		6	3	20	5,6		1,1		3,9	2,1	2,1
1.65	9		18	1	24	9	61	6,3		6,8	0,8	15,7	6,3	6,5
1.75	16	2	27		26	16	87	11,2	1,9	10,3		17,0	11,3	9,3
1.85	27	5	41	13	82	17	135	18,9	4,7	15,6	10,1	20,9	12,1	14,4
1.95	25	17	57	13	27	16	155	17,5	16,0	21,7	10,1	17,6	11,3	16,6
2.05	17	32	62	87	21	34	208	11,9	30,2	23,6	28,7	13,7	24,1	21,7
2.15	18	12	30	32	10	30	132	12,6	11,3	11,4	24,8	6,5	21,3	14,1
2.25	7	20	14	19	2	9	71	4,9	18,9	5,3	14,7	1,3	6,3	7,6
2.35	2	6	4	10		3	25	1,4	5,7	1,5	7,8		2,1	2,7
2.45	1	7	3	3	2	2	18	0,7	6,6	1,1	2,3	1,3	1,4	1,9
2.55	1	2		1	1	1	6	0,7	1,9		0,8	0,7	0,7	0,6
2.65	1	2				1	4	0,7	1,9				0,7	0,4
2.75														
2.85		1					1		0,9					0,1
2.95														
Σ	143	106	263	129	153	141	935							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,96	1,64	1,81	1,55	1,76	1,71	2,11
Weizen II.														
1.35	1						1	0,5						0,07
1.45	3				2	1	6	1,4				0,8	0,2	0,4
1.55	3		3		17	3	26	1,4		1,4		6,9	0,6	1,9
1.65	11		9		31	12	63	5,2		4,2		12,5	2,6	4,7
1.75	13		17	2	51	30	113	6,1		8,0	2,1	20,6	6,5	8,3
1.85	33	2	39	5	49	44	172	15,5	1,8	18,4	5,2	19,8	9,5	12,7
1.95	29	12	58	13	40	66	218	13,6	10,3	27,4	13,4	16,1	14,2	16,1
2.05	52	19	48	20	25	108	269	24,4	16,2	22,6	20,6	10,1	22,2	19,9
2.15	35	36	24	22	21	88	226	16,4	30,8	11,3	22,7	8,5	19,0	16,7
2.25	19	29	6	25	4	91	174	8,9	24,8	2,8	25,8	1,6	19,6	12,9
2.35	11	12	4	9	4	21	61	5,2	10,3	1,9	9,3	1,6	4,5	4,5
2.45	2	3	4	1	1	5	16	0,9	2,7	1,9	1,0	0,4	1,1	1,2
2.55		1			3		4		0,9			1,2		0,3
2.65	1	1					2	0,5	0,9					0,1
2.75		1					1		0,9					0,07
2.85														
2.95		1					1		0,9					0,07
Σ	213	117	212	97	248	464	1353							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,96	1,59	1,58	1,40	1,76	1,69	2,19

Tabelle I. c) (Fortsetzung).

Asche (Klassen- mitten) Proz.	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen III.														
1.35														0,1
1.45					1		1					0,6	0,6	1,6
1.55	2		1		9	1	13	4,2		0,6		5,3	3,5	3,4
1.65	2		5		14	6	27	4,2		3,1		8,2	4,7	6,5
1.75	2	2	12		28	8	52	4,2	2,0	7,6		16,5	9,3	10,8
1.85		2	26	2	40	16	86		2,0	16,2	1,4	23,5	14,5	16,4
1.95	8	7	39	18	33	25	130	16,7	7,1	24,4	12,4	19,4	21,5	22,3
2.05	18	23	37	32	31	37	178	37,5	23,2	23,1	22,1	18,2	19,8	18,3
2.15	12	25	22	43	9	34	145	25,0	25,8	13,7	29,6	5,3	15,1	11,7
2.25	3	23	11	27	3	26	93	6,3	23,2	6,9	18,6	1,8	9,3	5,7
2.35	1	10	5	12	1	16	45	2,1	10,1	3,1	8,3	0,6	1,2	2,1
2.45		4	2	8	1	2	17		4,0	1,2	5,5	0,6	0,6	0,6
2.55		1		3		1	5		1,0		2,1			0,1
2.65		1					1		1,0					
2.75														
2.85		1					1		1,0					0,1
2.95														
Σ	48	99	160	145	170	172	794							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,52	1,63	1,58	1,38	1,69	1,65	1,97
Weizen IV.														
1.35	2						2	4,19						0,3
1.45	1				3		3	2,08				2,48		0,5
1.55					5	1	6					4,13	0,62	1,0
1.65	1				7	4	11	2,08				5,79	2,47	1,9
1.75	2				22	5	40	4,19				18,18	3,09	6,7
1.85	3	3	6	2	24	9	52	6,25	5,47	6,59	1,75	19,84	5,56	8,8
1.95	9	6	10	3	29	18	97	18,75	10,91	10,98	2,63	24,00	11,11	16,4
2.05	13	8	20	15	11	46	132	27,10	14,54	21,96	13,15	9,09	28,40	22,3
2.15	10	12	35	19	11	41	123	20,80	21,81	38,45	16,66	9,09	25,30	20,7
2.25	3	16	13	36	3	28	77	6,25	29,10	14,28	31,60	2,48	17,28	13,6
2.35	2	6	6	21	2	6	30	4,19	10,90	6,59	18,42	1,65	3,70	5,1
2.45	2	2		14	1	2	10	4,19	3,64		12,28	0,83	1,23	1,7
2.55				3	1		2				2,63	0,83		0,3
2.65		1	1		2	1	5		1,82	1,10		1,65	0,62	
2.75				1		1	1				0,88		0,62	0,2
2.85							1							0,2
2.95		1					1		1,82					0,2
Σ	48	55	91	114	121	162	593							
Relative Variations- breite	—	—	—	—	—	—	—	1,81	1,59	1,43	1,49	1,83	1,77	2,19

In Tabelle I sind die Variationskurven der vier am häufigsten bei *Zaharia* vorkommenden Weizensorten (Weizen I bis IV) [vgl. die dritte Mitteilung¹⁾] angegeben, und zwar wurden alle Werte für die sechs untersuchten Jahre zusammengefaßt (Σ) und auch für die einzelnen Weizensorten die Jahresverteilungstabellen angegeben. Es sind damit die vier Variationsstabellen der ersten Mitteilung [betreffend Eiweiß-, Fett-, Cellulose-²⁾ und Aschegehalt] wieder in vier Untergruppen geteilt. In der ersten Mitteilung³⁾ wurde eine Teilung dieser Tabellen in sechs Jahresgruppen angeführt, so daß sich direkt vergleichen läßt, welche Unterteilung die charakteristischere und wichtigere ist und wie die verschiedenen wirksamen Faktoren zu werten sind.

I. Gesamtverteilungstabellen für die einzelnen Weizensorten, für alle 6 Jahre zusammengefaßt (Σ).

1. Typus der Variationskurven.

Alle Variationsreihen lassen sich durch Kurven darstellen, welche nur ein *Maximum* besitzen. Die Zahlenverteilung ist eine außerordentlich gleichmäßige, indem kaum einzelne ausfallende Werte zu beobachten sind und auch kaum Lücken in den Reihen vorkommen. Die Kurven sind in keinem Falle gleichschenkelig, sondern die schon im Gesamtmaterial beschriebene Tatsache kehrt auch bei den einzelnen Weizensorten wieder, nämlich, daß die Kurvenmaxima dem niedrigsten Werte bei Eiweiß-, Fett- und Aschegehalt näher liegen, während sich die Cellulose umgekehrt verhält. Die Schiefheit der Verteilungskurve ist bei Weizen I am geringsten, bei Weizen II am stärksten ausgesprochen.

2. Variationsbreite.

Die relativen Variationsbreiten sind sehr charakteristische Zahlen, für die einzelnen chemischen Eigenschaften und die in der ersten Mitteilung beobachtete Reihenfolge ist fast regelmäßig bei den vier Weizensorten, wie Tabelle II zeigt, wiederzufinden.

Tabelle II.

Relative Variationsbreiten.

Weizen I	Eiweiß > Asche > Cellulose > Fett
„ II	Asche > Eiweiß > Cellulose > Fett
„ III	Eiweiß > Asche > Cellulose > Fett
„ IV	Asche > Eiweiß > Cellulose > Fett
Höchste Werte der relativen	
Variationsbreiten I bis IV	Eiweiß > Asche > Cellulose > Fett
Niedrigste Werte der relativen	
Variationsbreiten I bis IV	Eiweiß > Asche > Cellulose > Fett

¹⁾ Diese Zeitschr. 177, 190, 1926.

²⁾ Die entsprechende Tabelle für Cellulose siehe III. Mitteilung.

³⁾ Diese Zeitschr. 177, 168ff., 1926.

Die für das Gesamtmaterial aufgestellten Tabellen [vgl. erste Mitteilung¹⁾] zeigen in der Mehrzahl der Jahre (4) dieselbe Reihenfolge der Variationsbreiten wie Weizen I und III, dagegen ist bei Weizen II und IV insofern eine Abweichung zu beobachten, als Eiweiß und Asche ihre Plätze tauschen. In diesen beiden Fällen liegen aber die absoluten Werte der relativen Variationsbreiten für Eiweiß und Asche nahe aneinander.

Die Variationsbreiten sind bei den verschiedenen Weizensorten für je eine chemische Eigenschaft ziemlich gleich, und in den Abweichungen der Variationsbreiten bei den verschiedenen chemischen Eigenschaften bzw. Sorten sind keine Regelmäßigkeiten nachzuweisen.

Tabelle III.

		Eiweiß	Fett	Cellulose	Asche
Maximale Schwankung der Variationsbreiten	Sorten	2,05-2,53	1,52-1,76	1,67-2,03	1,67-2,19
	Jahrgänge	1,86-2,29	1,41-1,71	1,56-2,03	1,69-1,96
Maximale Variationsbreite durch minimale Variationsbreite	Sorten	1,23	1,13	1,22	1,11
	Jahrgänge	1,23	1,21	1,30	1,16
Differenz zwischen minimaler und maximaler Variationsbreite in Proz. d. minim. Variationsbreite	Sorten	23,4	15,8	21,7	11,2
	Jahrgänge	23,1	21,3	30,1	16,0
Jahrgang/Sorte		0,987	1,348	1,387	1,427
Mittelwerte	Sorte	2,22	1,61	1,84	2,09
	Jahrgang	2,11	1,53	1,74	1,85

Hingegen findet man charakteristische Zusammenhänge zwischen den Variationsbreiten der nach Sorten bzw. Jahrgängen aufgestellten Verteilungsreihen. In allen Fällen ist die relative Variationsbreite bei Sortengruppierung größer. Dies zeigt sich darin, daß:

1. alle Minimalwerte der Variationsbreiten bei der Gruppierung nach Sorten größer sind als bei der Einteilung nach Jahrgängen;
2. bei Eiweiß, Fett und Asche die Maximalwerte bei Sortengruppierung größer sind als bei Jahresgruppierung und nur die Cellulose die gleichen Werte nach beiden Einteilungsprinzipien aufweist;
3. die Mittelwerte der Variationsbreiten, nach Sorten gruppiert, immer größer sind als die Mittelwerte nach Jahrgängen geordnet.

Die geringeren Variationsbreiten zeigen in diesem Falle an, welche Gruppierung die natürlichere ist, durch die die Verschiedenheiten im Material mehr ausgeschaltet werden.

Die Ordnung nach Sorten weist damit darauf hin, daß die Witterung an und für sich ein viel eingreifenderer Faktor ist, als die von Zaharia angegebene Sortengruppierung.

¹⁾ Diese Zeitschr. 177, 168 ff., 1926.

Dieselbe Gesetzmäßigkeit kommt zum Ausdruck, wenn wir die maximale Variationsbreite durch die minimale dividieren oder aber die prozentualen Abweichungen der Variationsbreite von der minimalen berechnen. Außer Eiweiß, wo die beiden Werte nach Sorten und Jahrgängen gruppiert gleich sind, sind die prozentualen Abweichungen bei der Gruppierung nach Sorten kleiner als nach Jahrgängen. Der verschiedene Jahrgang (Witterung) verursacht in der Variation des Weizens viel tiefer gehende Veränderungen als die hier benutzte Sortenteilung. Die Reihenfolge, mit der der Jahrgangswert den Sortenwert übertrifft, ist Asche > Cellulose > Fett > Eiweiß, wobei bereits beim Eiweiß, wenn auch nur in sehr geringem Grade, der Unterschied zugunsten der Sortengruppierung größer wird. Dieses Resultat findet damit in den praktischen Befunden, insbesondere was den Aschegehalt betrifft, der bekanntlich ja weitgehend von der Witterung abhängig ist, eine gute Stütze.

3. Häufigste Werte.

Was die häufigsten Werte betrifft, so wurde auf die Differenzen im *Cellulosegehalt* bei den verschiedenen Sorten in der dritten Mitteilung näher eingegangen. Beim *Eiweiß-* und *Aschegehalt* liegen dagegen bei allen vier Sorten die häufigsten Werte in *derselben Gruppe* (13,5 bzw. 2,05 Proz.). Der *Fettgehalt* zeigt geringe Schwankungen, indem Weizen I und IV den häufigsten Wert bei 1,75 Proz., Weizen II und III dagegen bei 1,85 Proz. besitzen.

4. Die Prozentzahl der Fälle in der häufigsten Gruppe ist bei den vier Weizensorten in der folgenden Weise geordnet:

Weizen I	Fett > Asche > Eiweiß > Cellulose
„ II	Fett > Eiweiß > Asche > Cellulose
„ III	Fett > Asche > Eiweiß > Cellulose
„ IIII	Fett > Asche > Eiweiß > Cellulose

Die Reihenfolge ist dieselbe wie bei der Gruppierung nach Jahrgängen.

Tabelle IV.

		Eiweiß	Fett	Cellulose	Asche
Maximale Variation der Prozentzahl des häufigsten Wertes	Sorte	18,9-22,1	26,7-27,7	15,4-17,5	19,9-22,3
	Jahrgang	14,5-27,2	31,5-40,1	18,7-23,0	21,4-27,3
100. Differenz: Maximum—Minimum Minimum	Sorte	16,9	3,7	13,6	12,1
	Jahrgang	87,6	27,3	23,0	27,6

Die Prozentzahlen der dichtesten Werte zeigen, nach Sorten gruppiert, eine viel geringere Variabilität, dagegen sind die absoluten Werte in der häufigsten Gruppe bei der Gruppierung nach Jahrgängen

höhere. Es wird also die Anzahl ebenso wie die Stellung der häufigsten Gruppe in erster Linie durch den Jahrgang bestimmt, wogegen die verschiedenen Weizensorten eine nebensächlichere Rolle spielen.

Zwischen den bei *Zaharia* am häufigsten vorkommenden Weizensorten (I bis IV) besteht also hauptsächlich im Cellulosegehalt ein wesentlicher Unterschied, während die anderen chemischen Eigenschaften in der hier untersuchten Weise geringere Differenzen aufweisen. Dies ist allerdings nicht damit gleichbedeutend, daß Unterschiede in den anderen chemischen Eigenschaften *nicht* vorhanden sind, denn man kann gewisse Differenzen beobachten, wenn man die Zahl der Fälle, die unterhalb bzw. oberhalb der häufigsten Gruppe liegen, miteinander vergleicht.

Tabelle V.

	Weizen	Eiweiß	Fett	Cellulose	Asche
Prozent der Gesamtzahl der Fälle, die unterhalb des häufigsten Wertes liegen	I	38.7	20.8	37.5	50.7
	II	43.3	34.0	46.9	44.2
	III	45.9	41.8	50.5	38.8
	IV	43.5	16.8	62.0	35.6
Prozent der Gesamtzahl der Fälle, die oberhalb des häufigsten Wertes liegen	I	42.3	51.5	47.2	27.4
	II	34.8	39.1	37.6	35.8
	III	34.9	30.0	31.7	38.6
	IV	35.8	56.4	19.8	41.4

So findet man beim Eiweißgehalt, daß bei Weizen I eine geringere Anzahl der Fälle unterhalb der häufigsten Gruppe liegt als bei den drei anderen Weizensorten, während umgekehrt eine wesentlich größere Anzahl der Fälle sich in den Gruppen oberhalb des häufigsten Wertes findet. Gerade das entgegengesetzte Verhalten läßt sich bei der Asche beobachten. Beides macht aus praktischen Gründen den Weizen I wertvoller. Beim Fett- und Cellulosegehalt läßt sich keine derartige Regelmäßigkeit nachweisen.

In den Verteilungstabellen für Fett liegt der häufigste Wert einerseits bei Weizen I und IV (1.75 Proz.), andererseits bei Weizen II und III (1.85 Proz.) in der gleichen Gruppe. Es zeigt sich nun, daß einerseits Weizen IV, andererseits Weizen II einen im allgemeinen höheren Fettgehalt besitzt als Weizen I bzw. III. Dies wird auch durch die Daten von Tabelle I erläutert, die auch einen Vergleich aller vier Weizensorten untereinander besser ermöglicht.

Bei der Cellulose ist dieser Vergleich überhaupt nicht durchführbar, da die häufigste Gruppe sehr wesentliche Verschiebungen in dem Sinne aufweist, daß Weizen I am wenigsten, Weizen IV am meisten Cellulose aufweist. Parallel damit verschiebt sich die untere Grenze der Variationsbreite, dagegen nicht die obere Grenze derselben und auch nur teilweise die Zahl der Fälle in den oberhalb und unterhalb des häufigsten Wertes liegenden Gruppen.

Deutlicher tritt dies noch aus Tabelle VI hervor, in der die Variations-tabelle (I, Σ) auf eine geringere Gruppenzahl zusammengezogen wurde.

Tabelle VI.

Prozent aller Fälle.

Klassengrenzen	Eiweiß				Klassengrenzen	Fett			
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
8—12	21,1	21,7	26,0	24,4	1,4—1,7	20,8	10,7	14,1	16,8
12—14	36,5	43,7	39,2	39,7	1,7—1,9	52,8	50,3	55,6	51,5
14—17	34,8	29,7	30,2	30,9	1,9—2,2	25,9	38,0	29,4	31,0
17—21	7,5	5,1	4,7	4,9	2,2—2,6	0,5	1,1	0,6	0,6

Klassengrenzen	Cellulose				Klassengrenzen	Asche			
	I	II	III	IV		I	II	III	IV
1,6—2,0	1,9	0,4	0,4	0,3	1,3—1,7	10,4	7,1	5,1	3,7
2,0—2,4	35,6	20,9	19,9	19,6	1,7—1,9	23,7	21,0	17,3	15,5
2,4—2,8	52,0	56,1	60,9	59,2	1,9—2,2	52,4	52,7	57,0	59,4
2,8—3,4	10,9	22,5	18,5	19,8	2,2—3,0	13,3	17,1	20,3	20,7

Aus Tabelle VI ergibt sich für den Eiweißgehalt, daß bei Weizen I in die beiden niedrigeren Klassen weniger, in die beiden höheren Klassen mehr Fälle fallen als bei den drei übrigen Sorten. Zwischen diesen letzteren lassen sich keine solchen Regelmäßigkeiten nachweisen. Was den Fettgehalt betrifft, finden wir ein entgegengesetztes Verhalten, indem Weizen I systematisch einen niedrigeren Fettgehalt aufweist, als die drei anderen Sorten, wobei unter diesen wieder Weizen II die höchsten Werte zeigt. Ebenso ist der Cellulose- und Aschegehalt des Weizens I kleiner und der letztere bei Weizen IV am größten.

Die Unterschiede zwischen Weizen I und den anderen Sorten mit Rücksicht auf den Eiweiß-, Fett-, Cellulose- und Aschegehalt lassen sich damit zusammenfassen, daß es bei Weizen I häufiger vorkommt, daß die Schale einen geringeren Prozentsatz des Kornes beträgt. Dies kann entweder dadurch bedingt sein, daß die Körner größer sind oder daß sie eine dünnere Schale besitzen. In der nächsten Mitteilung soll gezeigt werden, daß beide Faktoren daran beteiligt sind, daß aber der Hauptfaktor die dünnere Schale dieser Sorte ist.

Jedenfalls läßt sich auf Grund einer derartigen variationsstatistischen Behandlungsweise eines Analysenmaterials feststellen, welche Sorten unter bestimmten Umständen und bei Berücksichtigung bestimmter Eigenschaften von praktischen Gesichtspunkten aus die wertvolleren und besseren sind.

II. Einzelverteilungstabellen für die verschiedenen Weizensorten in den sechs untersuchten Jahren (Tabelle I).

An dieser Stelle soll nicht auf eine nähere Besprechung dieser Verteilungstabellen eingegangen werden, sondern sie wurden nur als Beleg dafür gebracht, wie regelmäßig die Verteilung des gesamten von *Zaharia* untersuchten Materials ist und damit, wie gut sich diese Untersuchungen

für eine variationsstatistische Bearbeitung des Weizens eignen. Es ist sicherlich ein großes Verdienst von *Zaharia*, diese Untersuchungen einheitlich durchgeführt zu haben, wobei der Umstand günstig ins Gewicht fällt, daß sie aus einem verhältnismäßig kleinen Gebiet stammen. Es wäre wünschenswert, daß diese Untersuchungen als Vorbild dafür dienen, die Eigenschaften wenigstens der wichtigsten Nahrungsmittel in den verschiedenen Ländern in dieser Weise einer genaueren Analyse zu unterziehen.

1. Typus der Verteilungsreihen.

Die Zahl der untersuchten Fälle nimmt bei dieser doppelten Aufteilung (bei Weizen III und IV im besonderen) schon ziemlich rasch ab, so daß die Zahlenreihen nicht so regelmäßig sind, wie bei Reihen mit einer größeren Zahl von Gliedern.

a) Eiweiß,

In allen 24 Verteilungsreihen kommt nur in einem einzigen Falle ein doppeltes Maximum vor; dieses findet sich bei Weizen IV im Jahre 1901, wo elf Fälle (20 Proz. der Gesamtfälle) ganz unregelmäßig gehäuft vorkommen. Sonst kommt es nur ganz selten vor, daß die Reihen nicht ganz stetig bis zu einem Maximum zunehmen bzw. abnehmen. Solche Ausnahmen finden sich bei

Weizen I	2 (1 mit je einer Probe)
„ II	1 (1 „ „ „ „)
„ III	3 (1 „ „ „ „)
„ IV	3 (0 „ „ „ „)
Insgesamt	9 (3 mit je einer Probe)

b) Fett.

In keinem einzigen Falle findet sich ein doppeltes Maximum; die häufigsten Werte sind gut ausgeprägt, die Reihen im allgemeinen stetig zu- und abnehmend. Ausnahmen davon finden sich nur bei:

Weizen II	1 (0 mit je einer Probe)
„ III	1 (1 „ „ „ „)
„ IV	1 (1 „ „ „ „)
Insgesamt	3 (2 mit je einer Probe)

Die Verteilungsreihen für den Fettgehalt verhalten sich also noch gleichmäßiger als die Zahlen für die Eiweißwerte.

c) Cellulose.

(Vgl. dritte Mitteilung, diese Zeitschr. 177, 190, 1926.)

Auch bei der Cellulose zeigen die Verteilungskurven mit einer Ausnahme nur ein Maximum. Die Zahl der Abweichungen von der stetigen Zu- und Abnahme ist bei

Weizen I	4 (2 mit je einer Probe)
„ II	5 (3 „ „ „ „)
„ III	6 (1 „ „ „ „)
„ IV	9 (5 „ „ „ „)
Insgesamt	24 (11 mit je einer Probe)

Bei der Cellulose finden sich also viel größere Abweichungen in der stetigen Verteilung als beim Eiweiß- und Fettgehalt. Wahrscheinlich hängt dies damit zusammen, daß der Cellulosegehalt eine Eigenschaft ist, die viel mehr für die Art des Weizens charakteristisch ist und daß die verschiedenen von *Zaharia* unterschiedenen Weizensorten keine charakteristischen Weizenarten sind.

d) Aschegehalt.

Alle Verteilungstabellen haben nur ein Maximum. Die Zahl der Abweichungen von einer stetigen Zu- und Abnahme nach einem Maximalwert sind bei

Weizen I	8	(6 mit je einer Probe)
„ II	4	(2 „ „ „ „)
„ III	2	(1 „ „ „ „)
„ IV	6	(5 „ „ „ „)
Insgesamt	20	(14 mit je einer Probe)

Auch der Aschegehalt zeigt eine ganz ähnlich große Abweichung von einer typischen gleichmäßigen Verteilungstabelle, wie der Cellulosegehalt, wenn auch verhältnismäßig öfter Fälle vorkommen, in denen diese Abweichungen nur durch eine einzige Probe bedingt sind (14). Wenn man diese Fälle abrechnet, so übertreffen die sonstigen Abweichungen nicht den Eiweißwert.

2. Häufigste Werte.

a) Eiweiß.

In Tabelle VII sind die häufigsten Werte der Eiweißverteilungstabellen zusammengestellt.

Tabelle VII.

Prozent Eiweißgehalt (häufigste Werte).

	1900	1901	1902	1903	1904	1905	Σ
Weizen I	13,5	15,5	12,5	15,5	13,5	13,5	13,5
„ II	13,5	13,5	11,5	14,5	12,5	13,5	13,5
„ III	13,5	13,5	11,5	14,5	14,5	12,5	12,5
„ IV	13,5	13,5	11,5	14,5	14,5	12,5	12,5

Aus Tabelle VII ist ersichtlich, daß auch die häufigsten Werte der doppeltgeteilten Tabellen charakteristische Zahlen für die einzelnen Jahre ergeben, indem:

1. bei allen vier Weizensorten das Jahr 1902 das Minimum, das Jahr 1903 das Maximum des Eiweißgehalts aufweist;

2. auch sonst mit geringen Ausnahmen die Veränderung des häufigsten Wertes von Jahr zu Jahr ziemlich regelmäßig bei den einzelnen Weizensorten stattfindet.

b) Fett.

In Tabelle VIII sind die häufigsten Werte der Verteilungstabellen für den Fettgehalt zusammengestellt.

Tabelle VIII.

Prozent Fettgehalt (häufigste Werte).

	1900	1901	1902	1903	1904	1905	Σ
Weizen I	1,85	1,75	1,65	1,75	1,85	1,95	1,75
" II	1,85	1,75	1,75	1,75	1,85	1,95	1,85
" III	1,85	1,75	1,75	1,75	1,85	1,95	1,85
" IV	1,85	1,75	1,65	1,75	1,85	1,95	1,75

Die häufigsten Werte zeigen hier einen noch viel regelmäßigeren Gang als bei Eiweiß; sie haben einen Minimumwert in 1902, von dem aus die Werte sowohl in der Richtung nach 1900 als auch 1905 ansteigen.

c) Cellulosegehalt.

Siehe dritte Mitteilung, I. c.

Die häufigsten Werte zeigen eine auffallende Zunahme von 1900 bis 1905.

d) Aschegehalt.

In Tabelle IX sind die häufigsten Werte der Verteilungstabellen für den Aschegehalt zusammengestellt.

Tabelle IX.

Prozent Aschegehalt (häufigste Werte).

	1900	1901	1902	1903	1904	1905	Σ
Weizen I	1,85	2,05	2,05	2,05	1,85	2,05	2,05
" II	2,05	2,15	1,95	2,25	1,75	2,05	2,05
" III	2,05	2,15	1,95	2,15	1,85	2,05	2,05
" IV	2,05	2,25	2,15	2,25	1,95	2,05	2,05

Auch beim Aschegehalt lassen sich bestimmte Regelmäßigkeiten in den häufigsten Werten beobachten, und zwar verhalten sich diesbezüglich Weizen II bis IV viel ähnlicher untereinander als gegenüber Weizen I.

1. In 1904 ist im allgemeinen der niedrigste Aschegehalt der Weizenkörner zu beobachten. (Bei Weizen I gleich dem Aschegehalt von 1900.)

2. Im Jahre 1901 und 1903 ist ein Maximum im Aschegehalt vorhanden. (Bei Weizen I nicht ausgesprochen, da sich aus 1902 und 1905 dieselben Werte ergeben.)

Diese angeführten Beispiele von der Gleichmäßigkeit in der Verteilung des nach doppelten Gesichtspunkten geordneten Materials genügen, um zu zeigen, daß die Gesetzmäßigkeiten, welche aus diesen Reihen abgeleitet sind, insbesondere wenn die zusammengezogenen Reihen (Verteilungsreihen nach Jahres- oder Sortenteilung, mittlere Kurven) benutzt werden, wohl begründet sind, und daß eine nähere Untersuchung der Verteilungstabellen noch eine Reihe von Aufschlüssen über die Eigenschaften des Weizens ergeben kann, worauf wir aber erst an späterer Stelle zurückkommen werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurde das in der ersten Mitteilung untersuchte Gesamtmaterial von *Zaharia* an Weizenanalysen in der Sortenteilung von *Zaharia* variationsstatistisch untersucht. Die Untersuchung wurde auf die vier nach *Zaharia* am häufigsten vorkommenden Sorten ausgedehnt.
2. Die Variationskurven ergeben für die einzelnen Weizensorten für die Mittel aus 6 Jahren eine große Gleichmäßigkeit.
3. Die Variationsbreiten der Mittelkurve sind für die vier untersuchten Sorten im allgemeinen gleich und ergeben für die einzelnen chemischen Eigenschaften charakteristische Größen.
4. Nach Sorten gruppiert, sind die Mittelwerte der Variationsbreiten größer als nach Jahrgängen geordnet; die nach *Zaharia* unterschiedenen Sorten verursachen also geringere Verschiebungen in der Variation als die Witterungsverhältnisse in den verschiedenen Jahren.
5. Ebenso fallen, nach Jahrgängen gruppiert, mehr Fälle in die häufigste Gruppe als bei der Ordnung nach Sorten.
6. Wie sich bereits in der dritten Mitteilung mit Rücksicht auf den Cellulosegehalt zeigen ließ, sind charakteristische Unterschiede zwischen den verschiedenen (vier) Weizensorten nachweisbar, wobei Weizen I gegenüber den anderen drei Sorten
 - a) einen im allgemeinen höheren Eiweißgehalt,
 - b) einen niedrigeren Cellulosegehalt und
 - c) einen niedrigeren Aschegehalt aufweist.
7. Es wurde das nach zweifachen Gesichtspunkten (Jahrgang und Sorte) geordnete Material auf die Gleichmäßigkeit der Verteilung geprüft und diese bei „Fett“ am gleichmäßigsten, bei der „Cellulose“ am ungleichmäßigsten gefunden, was mit den bisherigen Beobachtungen in gutem Einklang steht, daß der Fettgehalt für Weizen die charakteristischste Eigenschaft ist, während der Cellulosegehalt nach Weizenart sehr verschieden ist.
8. Die häufigsten Werte zeigen insbesondere bei Cellulose und Fett, aber auch bei Eiweiß und Asche bei den verschiedenen Weizensorten charakteristische Differenzen, wenn die einzelnen Jahreskurven miteinander verglichen werden. Die Witterung verursacht danach ähnliche Veränderungen bei den verschiedenen Weizensorten, die sich mit Hilfe der variationsstatistischen Analyse nachweisen lassen.

Ernährungslehre und Variationsstatistik.

V. Mitteilung:

Vergleich der physikalischen Eigenschaften (Korngröße und Hektolitergewicht) einiger Weizensorten.

Von

L. Berzeller und H. Wastl.

(Aus dem physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

In den vorhergehenden Mitteilungen¹⁾ ließ sich zeigen, daß die chemischen Eigenschaften der Weizenkörner viel weniger je nach den Sorten voneinander abweichen, als vom Jahrgang beeinflußt werden (Witterung), denn die einzelnen chemischen Eigenschaften variieren in den verschiedenen Jahrgängen viel mehr, als wenn verschiedene Weizensorten unter sonst gleichen Bedingungen gehalten werden. Nur im Cellulosegehalt sind konstante und typische Unterschiede zwischen den Weizensorten zu beobachten. An dieser Stelle sollen von den von *Zaharia*²⁾ bestimmten physikalischen Eigenschaften: Korngröße und Hektolitergewicht einer variationsstatistischen Untersuchung bei den verschiedenen Weizensorten unterzogen werden.

I. Korngröße.

In gleicher Weise wie in der dritten und vierten Mitteilung wurden die am häufigsten vorkommenden vier Weizensorten zur Untersuchung herangezogen.

1. *Typus der Variationskurven.* [Tabelle I (Δ).]

Alle Verteilungskurven (Mittel von 6 Jahren) weisen ein Maximum auf. In der Position dieses Maximums kann keine Regelmäßigkeit beobachtet werden. Weizen I zeigt eine relativ große symmetrische Verteilung, auch bei Weizen II und IV ist nur eine geringe Schiefheit

¹⁾ I. bis III. Mitteilung, diese Zeitschr. 177, 168—195, 1926; IV. Mitteilung, ebendasselbst 181, 117, 1926.

²⁾ *Zaharia*, Le blé roumain Bukarest 1910, 581 S.

Tabelle I. Körnergröße bei verschiedenen Weizensorten.

1000-Korn- gewicht (g) (Klassen- mitten)	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen I.														
16														
18														
20					1		1					0,6		0,1
22		2			3		5		2,1			1,9		0,5
24	2	2			6		10	1,4	2,1			3,8		1,1
26	1	11		1	10	3	26	0,7	11,5		0,8	6,4	2,1	2,8
28	3	10	1		10	16	40	2,1	10,4	0,4		6,4	11,2	4,4
30	10	21	8	12	14	14	79	7,0	21,9	3,2	9,3	9,0	9,8	8,6
32	21	25	13	29	17	31	136	14,7	26,0	5,2	22,5	10,9	21,7	14,8
34	41	14	37	40	16	40	188	28,7	14,6	14,7	81,0	10,2	28,0	20,4
36	32	4	64	25	88	26	189	22,4	4,2	25,4	19,4	24,4	18,2	20,5
38	21	5	61	9	20	7	123	14,7	5,2	23,7	7,0	12,8	4,9	13,4
40	5		36	7	12	3	63	3,5		14,3	5,4	7,7	2,1	6,9
42	4	2	26	3	6	1	42	2,8	2,1	10,3	2,4	3,8	0,7	4,6
44	2		3	1	3	2	11	1,4		1,2	0,8	1,9	1,4	1,2
46			1	2			3			0,4	1,6			0,3
48			1				1			0,4				0,1
50	1		1				2	0,7		0,4				0,2
Σ	143	96	252	129	156	143	919							
Rel. Variationsbreite	—	—	—	—	—	—	—	2,08	1,91	1,79	1,72	2,20	1,69	2,50
Weizen II.														
16						1	1						0,2	0,07
18					2		2					0,8		0,15
20		1			1		2		0,8			0,4		0,15
22	2				4	1	7	0,9				1,6	0,2	0,5
24	4	4	1		10	10	29	1,9	3,3	0,4		4,1	2,1	2,1
26	7	12	1	3	16	22	61	3,3	9,9	0,4	3,1	6,6	4,6	4,4
28	26	12	2	5	24	54	123	12,1	9,9	0,9	5,1	9,9	11,3	8,9
30	42	23	15	14	33	86	123	19,6	19,0	6,7	14,3	13,6	18,1	15,5
32	39	32	31	25	31	111	269	18,2	26,4	13,8	25,5	12,8	23,3	19,6
34	35	25	52	16	37	89	254	16,4	20,7	23,2	16,3	15,2	18,7	18,5
36	29	4	52	16	27	57	185	13,6	3,3	23,2	16,3	11,1	12,0	13,4
38	15	4	27	11	24	28	109	7,0	3,3	12,1	11,2	9,9	5,9	7,9
40	11	3	19	6	17	9	65	5,1	2,4	8,5	6,1	7,0	1,9	4,7
42	3	1	11	1	8	3	27	1,4	0,8	4,9	1,0	3,3	0,6	2,0
44	1		10		5	2	18	4,7		4,5		2,0	0,4	1,3
46			2	1	4	2	9				1,0	1,6	0,4	0,7
48			1			1	2			0,4			0,2	0,15
50														
Σ	214	121	224	98	243	476	1376							
Rel. Variationsbreite	—	—	—	—	—	—	—	2,00	2,10	2,00	1,77	2,55	3,00	3,00

40,9

Tabelle I (Fortsetzung).

1000-Korn- gewicht (g) (Klassen- mitten)	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen III.														
16														
18														
20					1	1						0,6	0,1	
22				1	4	1	6				0,7	2,3	0,6	0,8
24	2	3			6	1	12	4,3	3,2			3,5	0,6	1,5
26	4	8			23	4	39	8,7	8,6			13,5	2,3	5,0
28	7	7	1	10	25	21	71	15,2	7,5	0,6	6,8	14,6	12,3	9,2
30	4	11	10	17	21	27	90	8,7	11,8	6,4	11,6	12,3	17,3	11,5
32	11	25	8	44	20	41	149	23,9	26,9	5,1	29,9	11,7	24,0	19,0
34	4	18	34	38	20	48	157	8,7	19,4	21,8	24,4	11,7	25,1	20,0
36	6	7	30	17	24	16	100	13,0	7,5	19,2	11,6	14,0	9,4	12,8
38	4	10	42	11	16	8	91	8,7	10,8	26,9	7,5	9,4	4,7	11,6
40	3	1	12	3	9	6	34	6,5	1,1	7,7	2,0	5,3	5,3	4,3
42	1	1	14	6	2	1	25	2,3	1,1	9,0	4,1	1,2	0,6	3,2
44		2	5			2	9		2,2	3,2			1,2	1,1
46														
48														
50														
Σ	46	93	156	147	171	171	784							
Rel. Varia- tionsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,75	1,83	1,57	1,50	2,10	2,00	2,20
Weizen IV.														
16														
18						1	1						0,6	0,17
20														
22		2			10	1	13		3,6			7,9	0,6	2,2
24	1	6			8	11	26	2,0	10,9			6,3	6,8	4,5
26	4	4		2	9	16	35	8,0	7,2			7,1	10,3	6,0
28	3	9	1	5	12	26	56	6,0	16,4	1,1	5,0	9,5	16,8	9,7
30	9	15	2	17	20	32	95	18,0	27,5	2,2	16,8	15,9	20,6	16,4
32	15	7	11	25	14	34	106	30,0	12,7	11,8	24,7	11,1	21,9	18,8
34	12	3	27	20	10	22	94	24,0	5,5	29,0	19,8	7,9	14,2	16,2
36	1	2	26	14	13	7	63	2,0	3,6	28,0	13,9	10,3	4,5	10,9
38	2	2	16	13	17	4	54	4,0	3,6	17,2	12,9	13,5	25,8	9,3
40	1	5	3	5	8	1	23	2,0	9,1	3,2	5,0	6,3	0,6	4,0
42	1		3		2		6	2,0		3,2		1,6		1,0
44	1		1		1		3	2,0		1,1		0,8		0,5
46			2		2		4			2,2		1,6		0,7
48			1				1			1,1				0,17
50														
Σ	50	55	93	101	126	155	580							
Rel. Varia- tionsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,83	1,82	1,71	1,54	2,09	2,22	2,67

Tabelle II. Vergleich der relativen Variationsbreiten.

	Weizen I-IV										Mittlere Kurve Weizen 1-17 1900-1905 aus 1-10		
	Mittelwert Weizen I-IV 1900-1905 aus 1-4					Mittelwert Weizen 1-IV 1900-1905 aus 5-10							
	1	2	3	4	aus 1-4	1900	1901	1902	1903	1904		1905	aus 5-10
Eiweiß	2,26	2,05	2,53	2,05	2,22	2,16	1,86	2,29	2,05	2,26	2,05	2,11	2,53
Fett	1,52	1,76	1,65	1,52	1,61	1,52	1,61	1,41	1,71	1,45	1,48	1,53	1,83
Cellulose	1,97	2,03	1,70	1,67	1,84	1,91	1,56	2,03	1,65	1,70	1,59	1,74	2,03
Asche	2,11	2,19	1,97	2,19	2,11	1,96	1,69	1,96	1,73	1,83	1,70	1,81	2,18
Körnergröße	2,50	3,00	2,20	2,67	2,59	2,27	2,50	2,08	2,09	2,67	3,13	2,46	3,13
Hektolitergewicht	1,29	1,29	1,31	1,25	1,29	1,24	1,24	1,25	1,27	1,27	1,27	1,26	1,31

der Kurven zu beobachten, hingegen ist diese bei Weizen III mehr ausgesprochen. Jedenfalls ist unter allen untersuchten Verteilungskurven die Variationskurve des Körnergewichts bei den einzelnen Sorten die am meisten symmetrische. Die Jahreskurven für das Körnergewicht zeigten diese Regelmäßigkeit nicht¹⁾, wohl aber die mittlere Kurve des Gesamtmaterials für alle 6 Jahre.

Auch die einzelnen Jahreskurven (nach Sorten geordnet) weisen in der überwiegenden Anzahl der Fälle nur ein Maximum auf, wenn auch die Stellung dieser Maxima verhältnismäßig großen Schwankungen unterworfen ist.

Nur in einem Falle (Weizen III 1904) ist eine zweigipfelige Kurve zu beobachten, aber auch in diesem Falle ist das doppelte Maximum sehr wenig ausgesprochen, sondern es handelt sich viel eher um eine sehr flache Kurve, die fast dieselbe Anzahl der Fälle in sechs Klassen, also in der Hälfte aller besetzten Klassen aufweist.

2. Variationsbreite.

Die relativen Variationsbreiten des Körnergewichts repräsentieren (mit Ausnahme der Eiweißwerte in einigen Fällen) immer viel höhere Werte als die der übrigen untersuchten Eigenschaften. Es wird also die in der zweiten Mitteilung gemachte Beobachtung bestätigt, daß die Korngröße des Weizens die im allgemeinen am meisten variable Eigenschaft darstellt. Am nächsten steht Eiweiß, dann folgt Asche, Cellulose und Fett. Am konstantesten unter allen ist das Hektoliter-

¹⁾ Siehe II. Mitteilung.

gewicht. Die relativen Variationsbreiten der Korngröße bei den einzelnen Weizensorten weisen größere Unterschiede auf als die Werte für die chemischen Eigenschaften und das Hektolitergewicht, und zwar ist die relative Variationsbreite der Korngröße bei Weizen II, bei dem auch die größte Anzahl der Fälle untersucht wurde, die größte. Die maximale Abweichung von der kleinsten Variationsbreite (Weizen III) beträgt 36 Proz.; hingegen ist die größte Abweichung (ebenso berechnet) bei Eiweiß 23,5 Proz., bei Cellulose 22,8 Proz., bei Fett 16,8 Proz., bei Asche 11,1 Proz. und beim Hektolitergewicht 5 Proz.¹⁾ Die vier untersuchten Weizensorten weisen daher praktisch beim Hektolitergewicht dieselben relativen Variationsbreiten auf, unterscheiden sich aber ganz wesentlich in dieser Hinsicht in der Korngröße; die chemischen Eigenschaften nehmen eine Mittelstellung ein. Das Hektolitergewicht wird daher am wenigsten, die Korngröße am meisten von den Veränderungen des Weizens beeinflusst; die chemischen Eigenschaften sind nicht so starken Veränderungen ausgesetzt wie eben die Korngröße.

3. Häufigste Werte.

Tabelle III.

Häufigste Werte des Körnergewichts verschiedener Weizensorten.

(Gewicht eines Kornes in Milligrammen bzw. 1000 Körner in Grammen.)

	Weizen I	Weizen II	Weizen III	Weizen IV
1900	34	30	32	32
1901	32	32	32	30
1902	36	35	38	34
1903	34	32	32	32
1904	36	34	28	30
1905	34	32	34	32
Σ	35	32	34	32
(Mittlere Kurve)				

Die einzelnen Weizensorten unterscheiden sich dadurch, an welcher Stelle der häufigste Wert liegt. Weizen I weist sowohl in der mittleren Kurve als auch in *nahezu* allen Fällen der einzelnen Jahreskurven das höchste Körnergewicht im häufigsten Werte auf, die drei anderen Weizensorten stehen einander näher, und es läßt sich keine Regelmäßigkeit bei ihnen in der Verteilung der häufigsten Werte nachweisen.

¹⁾ Auch in dem Falle ist die größte Differenz der relativen Variationsbreiten größer, wenn die Zahlen nach Jahrgängen und nicht nach Sorten gruppiert werden, wie dies mit Ausnahme der Asche auch bei den anderen chemischen Eigenschaften zu beobachten war, wobei dieser Wert etwa 50 Proz. bei den verschiedenen Jahrgängen beträgt.

Mit Rücksicht auf die verschiedenen Jahrgänge läßt sich nur so viel feststellen, daß im Jahre 1902 alle Weizensorten die höchsten Werte für die Korngröße aufweisen. In demselben Jahre beobachten wir einen niedrigen Eiweiß-, Fett- und Cellulosegehalt der Weizenkörner, welcher sich insbesondere bei der mittleren Verteilungstabelle (I. Mitteilung) des Cellulosegehalts äußert, indem eben 1902 der Cellulosegehalt in der stetig steigenden Reihe von 1900 bis 1905 nach unten hinausfällt. Die großen Weizenkörner des Jahres 1902 sind also dem hohen Stärkegehalt zuzuschreiben.

4. Prozentzahl der Fälle in der häufigsten Gruppe.

Die größte Anzahl der Fälle in der häufigsten Gruppe ist bei Weizen I, die geringste bei Weizen II zu beobachten. Doch sind die Differenzen zwischen den verschiedenen Weizensorten diesbezüglich sehr gering. Dieselbe Erscheinung ließ sich auch bei der Gruppierung nach Jahrgängen beobachten.

5. Prozentzahl der Fälle in den oberhalb und unterhalb der häufigsten Werte gelegenen Gruppen.

Wenn wir die Verteilungstabelle in drei Gruppen teilen, wie dies aus Tabelle IV ersichtlich ist, so erhält man bei Weizen I in den Gruppen mit den höheren Körnergewichten einen größeren prozentualen Anteil der Fälle als bei den drei anderen Sorten.

Dies ist sicherlich eine der Ursachen, warum man in Rumänien auf Grund empirischer Erfahrung den ungarischen Weizen gegenüber den anderen Sorten für den Anbau herangezogen hat. Die variationsstatistische Analyse hebt so am besten den wirtschaftlichen Vorteil des Banater Weizens hervor.

Tabelle IV.
Prozent der Fälle.

1000-Korn-Gewicht g	Klassen			
	Weizen I	Weizen II	Weizen III	Weizen IV
15—31	19,5	31,8	28,1	39,0
31—37	55,7	51,5	51,8	45,4
37—51	26,7	16,7	20,2	15,6

II. Hektolltergewicht.

Bereits bei der Untersuchung der Verteilung der Zahlenwerte für das Hektolltergewicht mit der Ordnung nach Jahrgängen ergaben sich auffallende Abweichungen der Zahlenreihen von den sonstigen Verteilungstabellen. Es ist daher von Interesse, die Verteilung der Werte, nach Sorten geordnet, zu untersuchen.

Tabelle V. Hektolitergewicht verschiedener Weizensorten.

Hektolitergewicht (Klassen- mitten) kg	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905	
Weizen I.														
a) 65					2	2							1,4	0,2
67		1				1		1,0						0,1
69					2	2							1,4	0,2
71	3	3	1		2	1	10	2,1	3,0	0,4			1,4	0,7
73	4	11	3	1	5	8	32	2,8	11,3	1,1	0,8	3,3	5,7	3,5
75	9	24	9	6	9	13	70	6,3	24,8	3,3	4,8	6,0	9,2	7,6
77	29	88	32	27	23	34	183	20,5	89,2	12,3	21,2	15,4	24,1	20,0
79	32	16	80	59	50	58	295	22,6	16,5	30,9	46,5	31,3	41,2	32,3
81	55	4	101	30	44	26	260	38,7	4,1	39,0	32,6	29,3	18,5	28,4
83	10		32	4	13	1	60	7,0		12,3	3,2	8,7	0,7	6,6
85			1				1			0,4				0,1
b) 66					2	2							1,3	0,2
68		1			1	2			1,0				0,7	0,2
70	2	1			3	6		1,4	1,0				2,0	0,6
72	2	6	1		2	13		1,4	6,1	0,4			1,3	1,4
74	6	13	8	4	6	9	46	4,2	13,4	3,0	3,2	4,0	6,4	5,0
76	22	48	15	10	19	32	141	15,5	44,4	5,6	7,9	12,7	22,7	15,4
78	27	23	52	46	27	41	216	19,1	23,7	20,1	36,2	18,0	29,1	23,6
80	44	10	102	54	59	48	317	31,0	10,3	39,4	42,5	39,3	34,1	34,7
82	38		74	13	30	8	163	26,7		28,5	10,3	20,0	5,7	17,8
84	1		7		1	1	10	0,7		2,7		0,7	0,7	1,1
86														
Σ	142	97	259	127	150	141	916							
Rel. Variationsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,18	1,19	1,18	1,12	1,27	1,17	1,29
Weizen II.														
a) 65					1	1							0,4	0,07
67		2			1	4	9	0,9			0,5	1,1	0,4	0,8
69		4	2		1	13	20	1,9	1,7				0,4	2,7
71	13	9	2	2	5	28	59	6,1	7,5	0,9	2,2	2,1	5,8	4,3
73	24	17	4	5	6	71	117	11,3	14,3	1,9	5,4	2,4	12,6	8,6
75	42	35	19	20	18	77	211	19,7	29,4	8,6	21,8	7,4	16,0	15,4
77	61	48	44	26	47	116	337	28,6	36,2	20,0	28,2	19,3	24,1	24,7
79	47	11	76	35	88	180	387	22,1	9,2	34,6	38,1	36,2	27,0	28,2
81	20	2	55	3	61	49	190	9,4	1,6	25,0	3,3	25,1	10,2	13,9
83			17		15	3	35			7,7		6,2	0,6	2,6
85			2				2			0,9				0,15
b) 66					2	1	3						0,8	0,2
68					6	10		0,9					1,2	0,7
70	7	5		1	1	18	32	3,3	4,2		1,1	0,4	3,8	1,4
72	20	8	3	1	8	38	78	9,4	6,7	1,4	1,1	3,3	7,9	5,7
74	33	22	14	14	11	81	175	15,5	18,5	6,4	15,2	4,5	16,8	12,8
76	59	59	32	25	38	101	314	27,7	49,6	14,5	27,2	15,6	21,0	23,0
78	48	17	49	30	48	123	315	22,5	14,3	22,3	32,6	19,7	25,5	23,0
80	38	7	75	20	98	96	329	17,9	5,8	34,1	21,8	38,3	20,0	24,0
82	6	1	40		41	17	105	2,8	0,8	18,2		16,9	3,5	7,7
84			6		1		7			2,7		0,4		0,5
86														
Σ	213	119	220	92	243	481	1368							
Rel. Variationsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,21	1,17	1,25	1,19	1,27	1,24	1,29

Tabelle V (Fortsetzung).

hl-Gewicht (Klassen- mitten) kg	Zahl der Fälle						Σ	Verteilung in Proz. der Analysenzahl						Σ	
	1900	1901	1902	1903	1904	1905		1900	1901	1902	1903	1904	1905		
Weizen III.															
a) 65						1	1							0,6	0,1
67		1				1	1			1,0				0,6	0,4
69	1	1		1		4	7	2,2	1,0		0,8			2,4	0,9
71	3	10	2	1	2	9	27	6,5	10,2	1,2	0,8	1,1	5,4	3,4	
73	8	19	6	10	4	11	58	17,4	19,7	3,8	7,7	2,3	6,5	7,5	
75	5	18	13	28	10	29	103	10,8	18,6	8,3	21,5	5,6	17,2	13,3	
77	11	29	18	39	29	46	172	23,9	29,9	11,5	30,0	16,4	27,2	22,1	
79	9	17	67	38	71	48	250	19,6	17,5	48,0	29,2	40,1	28,4	32,2	
81	9	2	43	11	48	16	129	19,6	2,1	27,6	8,5	27,1	9,4	16,6	
83			7		12	4	24			4,5	0,8	6,8	2,4	3,1	
85				1			1				0,8				0,1
b) 66						1	1							0,6	0,1
68		2				3	6					0,6		1,7	0,8
70	1	5	1	2		7	16	2,2	5,2	0,6	1,6			4,2	2,0
72	6	8	4	4	3	8	33	13,0	8,3	2,5	3,1	1,7	4,8	4,2	
74	7	24	8	16	8	19	82	15,2	24,8	5,1	12,3	3,5	11,2	10,6	
76	9	30	20	41	16	36	152	19,6	30,9	13,8	31,5	9,0	21,8	19,6	
78	9	16	32	38	48	49	192	19,6	16,5	20,5	29,2	27,1	29,0	24,7	
80	9	12	69	23	71	35	219	19,6	12,4	44,8	17,7	40,1	20,7	28,2	
82	5		19	5	27	11	67	10,9		12,2	3,9	15,3	6,5	8,9	
84			3		3		6			1,9		1,7		0,8	
86				1			1				0,8			0,1	
Σ	46	97	156	130	177	169	775								
Rel. Varia- tionsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,17	1,19	1,18	1,23	1,24	1,26	1,31	
Weizen IV.															
a) 65					2	1	3						1,8	0,6	0,5
67					1	1	4	11	4,4	3,7	1,1	0,9	0,9	2,5	1,9
69	2	2	1	1	1	4	12	24	4,4	14,8	1,1	0,9		7,5	4,2
71	2	8	1	1		12	24	4,4	14,8	1,1	0,9			7,5	4,2
73	2	7		5	1	21	36	4,4	13,0		4,7	0,9	13,1	6,3	
75	5	12	8	12	8	33	81	10,8	22,3	8,9	11,2	7,2	20,6	13,8	
77	11	18	13	32	20	46	140	23,9	33,8	14,5	29,9	18,0	28,8	24,7	
79	14	7	26	39	53	32	171	30,4	13,0	28,9	36,4	47,7	20,1	30,1	
81	8		27	16	19	11	81	17,3		30,0	15,0	17,1	6,9	14,2	
83	2		14	1	7		24	4,3		15,5	0,9	6,3		4,2	
85															
b) 66					2		2	5	2,2				1,8		0,35
68	1		1	1		2	5	2,2		1,1	0,9		1,2	0,9	
70	1	6			1	4	12	2,2	11,7				0,9	2,5	2,1
72	4	8	1	1	1	16	31	8,6	14,9	1,1	0,9	0,9	10,0	5,4	
74	3	8	3	12	1	32	59	6,5	14,9	3,3	11,2	0,9	20,0	10,4	
76	10	19	18	26	14	45	127	21,7	35,2	14,5	24,3	12,6	28,1	22,4	
78	11	11	9	26	34	32	123	23,9	20,4	10,1	24,3	30,6	20,1	21,7	
80	8	2	35	35	46	22	148	17,3	3,7	38,9	32,7	41,4	13,8	26,0	
72	8		24	6	12	7	57	17,3		26,7	5,6	10,8	4,4	10,0	
84			4				4			4,4				0,7	
86															
Σ	46	54	90	107	111	160	568								
Rel. Varia- tionsbreite	—	—	—	—	—	—	—	1,20	1,14	1,22	1,20	1,24	1,20	1,25	

Tabelle VI.

Häufigste Werte (in Kilogrammen) des Hektolitergewichts bei verschiedenen Weizensorten.

Jahr	Weizen I		Weizen II		Weizen III		Weizen IV	
	a	b	a	b	a	b	a	b
1900	81	80	77	76	77	78	79	78
1901	77	76	77	76	77	76	77	76
1902	81	80	79	80	79	80	81	80
1903	79	80	79	78	77	76	79	80
1904	79	80	79	80	79	80	79	80
1905	79	80	79	78	79	78	77	76
Σ (Mittlere Kurve)	79	80	79	80	79	80	79	80

1. Typus der Variationskurven.

Bei der Aufteilung des Materials in kleinere Gruppen (mit 1 kg Klassendifferenzen) ist die Verteilung sehr unstetig, es kommen neben Kurven mit einem Maximum auch solche mit zwei oder drei Maximis vor.

Wir haben nur die mit geringerer Gruppenzahl (Intervall 2 kg) geordneten Tabellen angeführt. Hier zeigen die Kurven nur ein Maximum, welches ebenso wie bei den Jahreskurven nahe dem höchsten Werte liegt.

2. Variationsbreite.

Die relativen Variationsbreiten sind bei den verschiedenen Weizensorten praktisch gleich, indem die maximale Abweichung bei den Kurven für alle 6 Jahre insgesamt nur 4,5 Proz. des Minimalwertes beträgt. *Das Hektolitergewicht des Weizens weist daher sowohl nach Sorten als auch nach Jahrgängen geordnet die größte Konstanz unter allen untersuchten Faktoren mit Rücksicht auf die Variationsbreite auf.*

3. Häufigste Werte.

Bei allen vier Weizensorten fallen die häufigsten Werte in der mittleren Kurve (Σ) in dieselbe Gruppe, und zwar je nach der Ordnungsmethode auf 79 bzw. 80 kg.

Betrachtet man aber die häufigsten Werte der einzelnen Sorten nach Jahren geordnet, so lassen sich doch zwischen den verschiedenen Sorten bestimmte Unterschiede nachweisen, und zwar ähnlich wie beim Körnergewicht in der Weise, daß der häufigste Wert der Sorte I im allgemeinen höher ist. Nur die Jahre 1901 und 1904 bilden diesbezüglich eine Ausnahme, indem hier alle Sorten das gleiche Hektolitergewicht im häufigsten Werte aufweisen.

4. Prozentzahl der Fälle in der häufigsten Gruppe.

Die Prozentzahl der Fälle in der häufigsten Gruppe zeigt große Verschiebungen, je nachdem man die Gruppenteilung vornimmt (Gruppenteilung a und b). 19,6 bis 49,6 Proz. aller Fälle bei der Ordnung des Materials nach Sorten *und* Jahrgängen, und 24,0 bis 34,7 Proz. aller Fälle bei den Verteilungsreihen der verschiedenen Sorten für alle 6 Jahre fallen in die häufigste Gruppe. Im letzteren Falle sind diese Werte insofern für die verschiedenen Sorten charakteristisch, daß Weizen I die höchste und Weizen II die geringste Zahl der Fälle in der häufigsten Gruppe aufweist. (Diese Gesetzmäßigkeit besteht aber für die einzelnen Jahresverteilungstabellen nicht.)

5. Prozentzahl der Fälle in den oberhalb und unterhalb der häufigsten Werte gelegenen Gruppen.

Für diese Berechnung wurde die Ordnung des Materials in kleineren Gruppen (1 kg Intervall) herangezogen, da bei dieser Teilung die Unterschiede deutlicher hervortreten, weil man auf diese Weise in der häufigsten Gruppe weniger willkürlich hineingezogene Fälle hat.

Aus Tabelle VII ersieht man, daß bei Sorte I eine größere Prozentzahl der Fälle in die Gruppen mit hohem Hektolitergewicht fällt als bei den drei anderen Sorten. Qualitativ ist daher Sorte I am besten.

Unter die häufigste Gruppe (79,5 kg) fallen bei Weizen I 46,3 Proz., bei Weizen II 67,7 Proz., bei Weizen III 52,0 Proz. und bei Weizen IV 53,2 Proz. aller Fälle. Noch auffallender gestalten sich die Verhältnisse, wenn wir noch eine weitere Unterteilung in der Gruppe vornehmen, die unterhalb des häufigsten Wertes liegt. Diese Unterteilung wird dadurch ermöglicht, daß ein steiles Abfallen der Kurve diesen Kurventeil in zwei Hälften teilt. Als Grenzpunkt wurde die Gruppe 76,5 kg gewählt, die vor dem steilsten Abfall der Kurve liegt und die zugleich mit dem zweiten Maximum der Kurve zusammenfällt. Bei dieser Unterteilung fallen auf die niedrigsten Werte des Hektolitergewichts prozentual noch viel weniger Fälle bei Weizen I als bei den anderen Weizensorten. Es findet sich also ganz regelmäßig, daß Weizen I im Durchschnitt unter gleichen Bedingungen Ernten mit höherem Hektolitergewicht liefert, wobei die hauptsächlichsten Unterschiede in den Gruppen mit den niedrigsten Hektolitergewichten beobachtet werden.

Ohne mit der Analyse in die weiteren Einzelheiten einzugehen, läßt sich also sagen, daß die verschiedenen Weizensorten in den hier untersuchten physikalischen Eigenschaften eine geringere Verschiebung verursachen als die Witterungsverhältnisse, und daß sich die am Gesamtmaterial gefundenen Regelmäßigkeiten bei den einzelnen Sorten bestätigen. Ferner ließen sich auch Regelmäßigkeiten bei den einzelnen Sorten nachweisen, die zu einer besseren Charakterisierung des Weizens dienen können, als es die Berechnung des Mittelwertes für die einzelnen Eigenschaften ist.

Tabelle VII.

Klassen- mitten	Zahl der Fälle				Differenzen zwischen den unter- einanderliegenden Klassen				Verteilung der Fälle in Proz. der Analysezahl				Σ in Proz.			
	Weizen				Weizen				Weizen				Weizen			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	1900—1905				1900—1905				1900—1905				1900—1905			
65,5	2	1	1		- 2	- 1	- 1	2	0,2	0,07	0,1	0,35	12,5	30,4	25,6	26,7
65,5	1	2	3	2	+ 1	- 1	- 1	+ 2	0,1	0,15	0,4	0,35				
67,5	1	7	3	1	- 1	- 5	3	1	0,1	0,5	0,4	0,2				
68,5	1	3	3	4	0	+ 4	0	3	0,1	0,2	0,4	0,7				
69,5	1	17	4	7	0	- 14	1	3	0,1	1,2	0,5	1,2				
70,5	5	15	12	5	- 4	+ 2	- 8	2	0,5	1,1	1,5	0,9				
71,5	5	44	15	19	0	- 29	3	14	0,5	3,2	1,9	3,3				
72,5	8	34	18	12	- 3	+ 10	- 3	7	0,9	2,5	2,3	2,1				
73,5	24	83	40	24	- 16	- 49	- 22	12	2,6	6,1	5,2	4,2				
74,5	22	92	42	35	+ 2	- 9	- 2	11	2,4	6,7	5,4	6,2				
75,5	98	119	61	43	- 26	- 27	- 19	8	5,2	8,7	7,9	7,6				
76,5	93	195	91	84	- 45	- 76	- 30	41	10,2	14,3	11,7	14,8	10,2	14,3	11,7	14,8
77,5	90	142	81	56	+ 3	+ 53	+ 10	28	9,8	10,4	10,4	9,9	23,6	23,0	24,7	21,7
78,5	126	173	111	67	- 36	- 29	- 30	11	13,8	12,6	14,3	11,8				
79,5	169	214	133	104	- 43	- 41	- 28	37	18,5	15,6	17,9	18,3	18,5	15,6	17,9	18,3
80,5	148	115	80	44	+ 21	+ 99	+ 59	10	16,2	8,4	10,3	7,7				
81,5	112	75	49	37	+ 36	+ 40	+ 49	7	12,2	5,5	6,3	6,5				
82,5	51	30	18	20	+ 59	+ 45	+ 31	17	5,6	2,2	2,3	3,5				
83,5	9	5	6	4	+ 42	+ 25	+ 12	14	1,0	0,4	0,8	0,7				
84,5	1	2			+ 8	+ 3	+ 6	4	0,1	0,15						
85,5			1		+ 1	+ 2	- 1				0,1					

Insbesondere zeigt sich bei der Untersuchung der Körnergröße und des Hektolitergewichts, daß die in die Gruppe I (*Zaharia*) eingeteilten Weizenproben sicher qualitativ besser sind als die drei anderen Sorten. Mit Rücksicht auf die Sorte sind die beiden hier analysierten physikalischen Eigenschaften charakteristischer als die chemischen Eigenschaften (mit Ausnahme des Cellulosegehalts). Es soll auch nochmals wiederholt werden, daß Weizen I einen niedrigeren Cellulosegehalt aufwies.

Unsere Befunde sind daher im besten Einklang mit der praktischen Unterscheidung der Weizensorten. Ein spezielles Interesse aber beansprucht die Tatsache, daß sich die Variationsbreiten der einzelnen Eigenschaften und die charakteristischen Unterschiede zwischen den verschiedenen Sorten nicht parallel verändern, *denn das Körnergewicht zeigt die größte, das Hektolitergewicht die geringste Variationsbreite*, während beide zugleich unter den untersuchten Eigenschaften (mit Ausnahme der Cellulose) die größten Differenzen zwischen den verschiedenen Sorten nachweisen lassen, die bei den anderen chemischen Eigenschaften nicht so stark ausgeprägt sind, wobei diese untereinander viel weniger in ihren Variationsbreiten differieren. *Die verschiedenen Weizensorten können also nach den physikalischen Eigenschaften (Körnergröße und Hektolitergewicht) und nach dem Schalengehalt unterschieden werden. Für die ernährungsphysiologisch wichtigen Eigenschaften, die einer variationsstatistischen Untersuchung auf Grund der Daten von Zaharia unterworfen wurden, ist in erster Linie die Witterung maßgebend.*

Zur Frage der Bioradioaktivität der Pflanzen und der Existenz von Radiumelementen in denselben.

Von

E. Burkser, I. Brun und K. Bronstein.

(Aus dem Institut für Chemie und Radiumforschung, Odessa.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Im Jahre 1924 veröffentlichte *Nodon*¹⁾ seine Arbeit mit dem Hinweis, daß lebende Pflanzen und Tiere, ähnlich den radioaktiven Stoffen, unsichtbare Strahlen aussenden, die auf das Elektroskop und photographische Platten wirken, aber nach dem Tode diese Fähigkeit verlieren. In den *Nodonschen* Experimenten rufen nach 20 Stunden Exposition sowohl manche Insekten wie Pflanzenblätter Verdunkelung der photographischen Platte hervor und in der Ionisationskammer die Zerstreung der Ladung einer Reihenordnung von Uraneinheiten.

Indem wir uns mit dem Studium des Auffindens von Radiumelementen in einigen Pflanzen beschäftigten, beschlossen wir, die von *Nodon* beschriebenen Erscheinungen näher zu betrachten und eine Reihe von Untersuchungen, analog derjenigen von *Nodon*, vorzunehmen, die ausschließlich Pflanzen betreffen.

In eine Ionisationskammer mit einem Rauminhalt von 10 Litern wurden frische Pflanzenblätter und Stengel untergebracht. Ein mäßig großer Zylinder, verbunden mit einem empfindlichen Elektroskop (*Elster*), diente zur Ionisationsaufdeckung. In dem angegebenen Apparat rufen sogar sehr schwach aktive Kaliumsalze merkbare Zerstreung der Ladung hervor. Das Elektroskop hatte eine Kapazität von 13,6 cm, und die Potentialdifferenz, bei der die Experimente ausgeführt wurden, war durchweg 180 bis 210 Volt.

Vor dem Experiment mit den Pflanzen wurde immer die Größe des Selbstverlustes der Ladung mittels des Apparates ϵ bestimmt, dann wurde auf dem Boden der Kammer eine dichte Schicht (Oberfläche 380 qcm) der zu untersuchenden Pflanzen verteilt und wiederholt die Zerstreung der Ladung bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle I wiedergegeben.

¹⁾ C. r. 1924, S. 178.

Tabelle I.

Benennung der Pflanze	Zeit der Untersuchung	Dauer der Beobachtung	Strom- effekt Ionisation in 10^{-3} E.S.E., S.	Bemerkungen
Phleum pratense . .	27. IV. 1926	45'	0.13	Frisch abgeschnitten
" "	29. IV.	45'	0	Dieselbe, welk
" "	5. V.	1h 5	0.024	Frisch abgeschnitten
" "	6. V.	1	0.039	Dieselbe, welk
" "	10. V.	45	0	Dieselbe, vertrocknet
" "	10. V.	1	0.004	Dieselbe, mit Wasser angef.
Diantus caryophilus	25. IX. 1925	1	0	Blätter und Stengel
Lysimachia	25. IX.	1	0	" " "
Nicotiana Tabacum	25. IX.	1	0	" " "
Iris germanica	27. IV. 1926	45	0.03	Frisch abgeschnittene Blätter
" "	29. IV.	45	0	Welke Blätter
" "	5. V.	1 30	0.025	Frisch abgeschnittene Blätter
" "	6. V.	1	0.024	Welke Blätter
" "	10. V.	45	0	Trockene Blätter
" "	10. V.	45	0	Mit Wasser angefeuchtet
Syringa vulgarica . .	13. V.	1 45	0.037	Frisch abgeschnittene Blätter
" "	13. V.	45	0.006	" " "
" "	13. V.	45	0.014	" " "
" "	14. V.	45	0.054	Welke Blätter
Ionicera tatarica . .	13. V.	45	0	" "

Wie aus den Ergebnissen der Messungen zu ersehen ist, wird eine unbedeutende Ionisation in manchen Fällen in frisch abgeschnittenen oder welken Pflanzen, aber niemals in ausgetrockneten hervorgerufen. Die Ursache ist nicht in der Luftfeuchtigkeit zu suchen, da die Anfeuchtung der trockenen Blätter keinen Effekt hervorruft.

Die Erscheinung der Ionisation kann ihre Erklärung darin finden, daß die chemischen Prozesse, die in den Pflanzen entstehen, Gasabsonderung zur Folge haben. Die Größe der beobachteten Ionisation ist entweder gleich Null, oder sehr minimal — viel niedriger als diejenige, die bei analogen Verhältnissen in den Kalisalzen anzutreffen ist ($0,28 \cdot 10^{-3}$ E.S.E.), jedenfalls kein Vergleich mit der Ionisation, die durch Uranverbindungen entsteht. In einer zweiten Reihe von Experimenten haben wir die Wirkung von Blätter und Stengel zweier Pflanzen (Tabak und Nelken) auf photographische Platten verfolgt. Im voraus wurde festgestellt, daß Mineralien mit einer Aktivität von etwa einer Uraneinheit nach 48 Stunden eine merkliche Schwärzung auf photographischen Platten hervorrufen.

Im ersten Versuch, den wir mit photographischen Platten („Aerophoto“) höchster Sensibilität (nach Wien 90) vorgenommen haben, bedeckten wir die Platten mit Aluminiumblättchen von der Dicke 0,01 mm und legten darauf frisch abgerissene Blätter von Werbena, Nelken, Tabak, Rosen, Geranium.

In einem separaten Versuch wirkten wir auf die photographische Platte durch ein sehr dünnes kolloidales Häutchen, das α -Strahlen frei durchläßt.

Die Exposition dauerte 3 Tage, danach entwickelten wir die Platten wie in den folgenden Experimenten mittels Adurol in Pottaschelösung.

Im zweiten Versuch wirkten wir auf dieselben Platten direkt mittels Blätter derselben Pflanzen im Laufe von 24 Stunden in einer Kammer, die für das Licht undurchdringbar war. Zu diesem Versuch benutzten wir Platten „Agfa Chromo Isolar“ mit einer Sensibilität 111 (nach Wien).

Pflanzen wurden zusammen mit der Wurzel genommen, welche in feuchte Watte eingewickelt und in ein Reagenzglas hineingegeben war. Die Platten wurden in schwarzes Papier eingewickelt, impermeabel für das Licht, und mit der lichtempfindlichen Schicht nach oben gerichtet. Das ganze Experiment wurde in einem beleuchteten Zimmer ausgeführt. Die Exposition dauerte 6 Tage.

Analoge Versuche wurden parallel im Dunkeln aufgestellt und ergaben alle ein negatives Resultat.

Nur in einem Falle riefen Tabakblätter infolge von Feuchtigkeitsabsonderung bei direkter Berührung mit der lichtempfindlichen Schicht zwar keinen Abdruck, sondern eine Auflockerung der Schicht hervor.

Die von uns vorgenommenen Untersuchungen haben zu der Schlußfolgerung geführt — soweit die Empfindlichkeit unserer Untersuchungsmethoden es erlaubt —, daß die untersuchten Pflanzen keine Bioradioaktivität besitzen.

Im weiteren haben wir eine Reihe von Untersuchungen vorgenommen, die den Zweck hatten, aufzuklären, ob einige Pflanzen Radium enthalten. Nach den Ergebnissen unserer Beobachtungen, betreffend die hervorgerufene Ionisation, sind die Resultate höchst unbedeutend.

Zu unserer Untersuchung hatten wir Asche einiger Pflanzen teilweise aus den Umgebungen Odessas, teilweise aus Berdjansk benutzt. Die zu untersuchenden Pflanzen wurden auf eisernen Platten verbrannt, dann wurde die Asche bis zum vollständigen Verbrennen des Kohlenstoffs weiter geglüht und nachdem in einer Menge von 50 g mit Ätznatron geschmolzen. Vermittelt Auslaugung mit Wasser wurden die löslichen Stoffe extrahiert, der unlösliche Niederschlag nach dem Auswaschen in Salzsäure aufgelöst. Manchmal mußte dieser Prozeß zwei- und sogar dreimal wiederholt werden, bis sich zwei vollkommen klare Lösungen, eine alkalische und eine saure, in einer Menge von etwa 300 ccm bildeten. Die angewandten Reagenzien wurden vorher auf Anwesenheit von Radium geprüft. Die Lösungen wurden in

Curiesche Gefäße hineingebracht und eingeschmolzen und nach Verlauf von 30 Tagen in ihnen die Radiumemanation bestimmt.

Die Emanationsmessungen sind in der Tabelle II angegeben.

Tabelle II.

Benennung der Pflanze	Sammelort	Radium- inhalt in 1 g Asche
Salsola	Odessa	5 · 10 ⁻¹³
Helianthus annuus	"	4.3 · 10
Zea mays	"	4.9 · 10
Vitis vinifera (Rebe)	Berdjansk	51.1 · 10
Urtica divica	"	3.8 · 10
Artemisia	Odessa	8.6 · 10

Wie zu ersehen, ist der Radiumgehalt in der Asche der untersuchten Pflanzen sehr unbedeutend und relativ mit Ausnahme der Trauben, die Radium in einer viel größeren Menge enthalten, als in den Bergarten zu finden ist.

Thoriumgehalt.

Nach der Entfernung der Radiumemanation durch Kochen in einem luftleeren Raume wurden Lösungen in einem speziellen Apparat einer Untersuchung auf Anwesenheit von Thorium unterworfen.

Die Thoriumuntersuchung wurde nach der Methode der Emanationsmessung ausgeführt, die in einem Kondensator bei gleichmäßigem Luftstrom geschah. In den Grenzen der Sensibilität des Apparats (1 mg Thorium) in 50 g Asche wurde Thorium nicht aufgedeckt.

Die Untersuchungen werden weiter verfolgt.

Der Einfluß verschiedener Präparate der Chiningruppe auf die fermentativen Funktionen des Organismus.

VI. Mitteilung:

**Abhängigkeit der Chinin- und Harnstoffwirkung auf die Pankreaslipase
von der Wasserstoffzahl des Mediums¹⁾.**

Von

J. A. Smorodinzew und V. A. Danilow.

(Aus der chemotherapeutischen Abteilung des Tropeninstituts Moskau.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

In unseren vorhergehenden Mitteilungen²⁾ zeigten wir, daß zum Unterschied von anderen Substraten die Spaltung des Triacetins durch die Lipase eines Glycerinextrakts aus der Bauchspeicheldrüse bei Gegenwart von Chininchlorid und Chininsulfat etwas beschleunigt wird, während sie bei Gegenwart von Carbamidsalzen stark verlangsamt wird bis zum völligen Stillstand. Dieser hemmende Einfluß des Harnstoffsalzes überwiegt in einer doppelten Verbindung desselben mit Chinin die beschleunigende Wirkung dieses letzteren.

Um aufzuhellen, in welchem Maße die beschleunigende oder verlangsamende Wirkung der von uns untersuchten Verbindungen von ihnen selbst abhängt, war es notwendig, den Einfluß der aktuellen Reaktion des Mediums auf den Prozeß der Verseifung des Triglycerids in Rechnung zu ziehen. Zu diesem Zwecke wiederholten wir einige unserer früheren Versuche und stellten zugleich parallele Versuche an, indem wir die Reaktion des Mediums mittels Puffergemischen abänderten. In beiden Versuchsreihen (mit Puffer und ohne Puffer) bestimmten wir die Reaktion des Mediums nach elektrometrischen und

¹⁾ Mitgeteilt in einer Sitzung der chemischen Abteilung der Gesellschaft von Freunden der Naturwissenschaften, der Anthropologie und Ethnographie am 14. Oktober 1926.

²⁾ J. A. Smorodinzew und V. A. Danilow, diese Zeitschr. **161**, 178; **164**, 394, 1925.

alkalischer Reaktion in den Grenzen des Optimums des p_H -Wertes für die Lipase.

Vor allem überzeugten wir uns durch einzelne Versuche davon, daß Chininzusatz wie beim Pepsin¹⁾ die Reaktion des Mediums sehr wenig beeinflußt, wobei das Chinin in $n/20$ bis $n/320$ Konzentration beinahe eine gleiche Wirkung ausübt: bei Gegenwart eines Puffers rückt es die p_H -Werte ein wenig (um 0,1) nach der sauren Seite hin, bei Abwesenheit eines solchen um ebensoviel nach der alkalischen. Das Gemisch aus Triacetin, Extrakt, Chinin oder Wasser, mit welchem wir in den früheren Versuchen manipulierten, wurde relativ gut gepuffert, da während 4 bis 5 Stunden der Verseifung des Esters die p_H -Werte des Mediums sich durchschnittlich um 0,7 deplacieren; beim Zusatz eines Puffers wurde gewöhnlich während desselben Zeitraumes p_H um 0,5 nach links gerückt.

Setzt man die Geschwindigkeitskonstante der Verseifung des Triacetin ohne Chinin bei $p_H = 8,0$ gleich 100, so wird die Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Reaktion vom p_H -Wert in Gegenwart und bei Abwesenheit von Chinin durch folgende Zahlen ausgedrückt:

p_H	K	
	ohne Chinin Proz.	mit Chinin Proz.
4,5	26,2	41,6
5,8	64,8	79,7
6,8	75,8	90,0
8,0	100,0	86,2

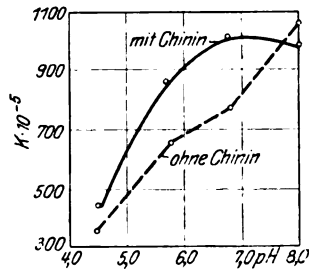


Abb. 1. Abhängigkeit der Chininwirkung auf die Pancreaslipase p_H .

Somit beschleunigt unseren Beobachtungen nach das Chinin die Hydrolyse um 15 Proz. im sauren Medium und verlangsamt sie in demselben Maße im alkalischen. *P. Rona* und *Gyotoku*²⁾ haben auch darauf hingewiesen, daß die Wirkung ungereinigter Lipase aus dem Schweinemagen in Gegenwart von Chinin bei $p_H = 6,1$ um 8,2 Proz. und bei $p_H = 6,98$ um 19 Proz. beschleunigt wird; bei gereinigten Präparaten der Lipase aus dem Magen, der Leber, dem Pankreas des Kaninchens, Schweines, Rindes, Schafes und Hundes konstatierten diese Autoren Verzögerung der Spaltung des Tributyrins bei $p_H = 6$ um 45 Proz., bei $p_H = 7$ um 50 bis 70 Proz.

¹⁾ *J. A. Smorodinzew* und *C. S. Lemberg*, diese Zeitschr. **162**, 266, 1925; *J. A. Smorodinzew* und *N. P. Riabuschinsky*, ebendasselbst **168**, 73, 1926.

²⁾ *P. Rona* und *Gyotoku*, diese Zeitschr. **167**, 171, 1926.

Tabelle I. Einfluß des salzsauren Chinin

Zeit in Stunden	1 proz. Triacetin 10,0					1 proz. Triacetin 10,0					
	n/20 Ch HCl 1,0					H ₂ O 1,0					
	Puffer (6,4) 1,5					Puffer (6,4) 1,5					
	Extrakt 1,5					Extrakt 1,5					
Verstärkte Acidität	p _H kolorimetrisch		K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	p _H			K ₁	K ₂	
	mit Puffer	ohne Puffer				elektr.	kolorimetrisch				
							mit Puffer	ohne Puffer			
0	—	5,9	6,0	—	—	—	6,0	6,2	—	—	
1	2,05	5,8	6,0	2,05	(0,013 14)	1,25	6,0	6,1	1,25	0,007 96	
2	3,10	—	—	2,2	0,010 01	2,50	—	—	1,77	0,008 06	
3	4,05	5,7	5,9	2,34	0,008 78	2,95	6,17	6,0	6,1	1,70	0,006 34
4	5,35	—	—	2,67	0,008 79	4,55	—	—	2,27	0,007 41	
5	6,15	5,8	5,8	2,74	0,008 13	5,90	—	5,9	2,23	0,006 51	
Mittel:				0,008 98	Mittel:				0,007 29		

Tabelle II. Einfluß des salzsauren Chinin

Zeit in Stunden	1 proz. Triacetin 10,0					1 proz. Triacetin 10,0					
	n/20 Ch HCl 1,0					H ₂ O 1,0					
	Puffer (7,6) 1,5					Puffer (7,6) 1,5					
	Extrakt, frisch bereitet 1,5					Extrakt, frisch bereitet 1,5					
Verstärkte Acidität	p _H kolorimetrisch		K ₂	Verstärkte Acidität	p _H			K ₂			
	mit Puffer	ohne Puffer			elektr.	kolorimetrisch					
						mit Puffer	ohne Puffer				
0	—	7,3	7,3	—	—	7,01	7,3	7,3	—		
1	1,8	7,1	7,0	(0,011 52)	1,6	—	7,2	7,2	(0,010 22)		
2	3,1	—	—	0,010 01	3,0	—	—	—	0,009 68		
3	4,9	6,9	7,0	0,010 69	7,0	6,57 ₈	7,0	7,0	0,008 96		
4	6,1	—	—	0,010 08	4,7	—	—	—	0,007 68		
5	7,1	6,7	6,8	0,009 46	5,8	—	6,8	6,8	0,007 68		
Mittel:				0,010 06	Mittel:				0,008 44		

Tabelle III. Einfluß des salzsauren Chinin

Zeit in Stunden	1 proz. Triacetin 10,0					1 proz. Triacetin 10,0					
	n/20 Ch HCl 1,0					H ₂ O 1,0					
	Puffer (8,72) 1,5					Puffer (8,72) 1,5					
	Extrakt 1,5					Extrakt 1,5					
Verstärkte Acidität	p _H kolorimetrisch		K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	p _H			K ₁	K ₂	
	mit Puffer	ohne Puffer				elektr.	kolorimetrisch				
							mit Puffer	ohne Puffer			
0	—	8,4	—	—	—	8,29	8,4	—	—		
1	1,8	8,3	8,2	1,8	0,011 52	3,4	8,23 ₉	8,3	8,2	3,4	(0,022 41)
2	4,1	—	—	2,9	(0,013 35)	4,1	—	—	—	2,9	0,013 35
3	4,4	8,2	8,0	2,5	0,009 57	5,1	8,15 ₂	8,15	8,1	2,9	0,011 52
4	5,5	—	—	2,7	0,009 05	6,3	—	—	—	3,1	0,010 01
5	6,4	7,9	7,9	2,8	0,008 78	7,4	—	8,0	8,0	3,3	0,009 68
Mittel:				0,009 66	Mittel:				0,011 52		

1) Wie dieser Versuch zeigt, hydrolysiert der alte (sechswöchige) Extrakt etwas schwächer als

Pankreaslipase in saurem Medium.

1 proz. Triacetin	10,0	1 proz. Triacetin	10,0
0,2% CaHCl	1,0	H ₂ O	1,0
H ₂ O	1,5	H ₂ O	1,5
Extrakt	1,5	Extrakt	1,5

pH kolorimetrisch		K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH		K ₁	K ₂
mit Puffer	ohne Puffer				elektr.	kolorimetrisch		
					mit Puffer	ohne Puffer		
5,1	5,2	—	—	—	5,1	5,2	—	—
4,9	5,2	1,0	(0,006 36)	0,7	4,8	5,0	0,77	(0,004 44)
		1,24	0,005 59	1,1			0,77	0,005 50
4,8	4,8	1,33	0,004 92	1,5	4,5	4,6	0,87	0,003 19
		1,35	0,004 35	1,95			0,97	0,003 15
4,6	4,6	1,45	0,004 54	3,0	4,25 ₅	4,5	1,2	0,003 87
Mittel: 0,004 87					Mittel: 0,003 44			

Pankreaslipase bei neutraler Reaktion¹⁾.

1 proz. Triacetin	10,0	1 proz. Triacetin	10,0
0,2% CaHCl	1,0	H ₂ O	1,0
Puffer (7,6)	1,5	Puffer (7,6)	1,5
Extrakt, alter	1,5	Extrakt, alter	1,5

pH kolorimetrisch		K ₂	Verstärkte Acidität	pH		K ₂	
mit Puffer	ohne Puffer			elektr.	kolorimetrisch		
				mit Puffer	ohne Puffer		
7,3	7,3	—	—	7,3	7,3	—	
7,1	7,2	(0,013 46)	1,15	7,2	7,2	0,007 32	
		0,011 17	2,05			0,006 57	
6,9	6,9	0,008 23	2,4	6,88	7,1	7,1	0,005 14
		0,008 53	3,1				0,005 01
6,8	6,8	0,007 79	4,5	7,0	7,0	0,005 88	
Mittel: 0,008 98				Mittel: 0,005 98			

Pankreaslipase in alkalischem Medium.

1 proz. Triacetin	10,0	1 proz. Triacetin	10,0
0,2% CaHCl	1,0	H ₂ O	1,0
H ₂ O	1,5	H ₂ O	1,5
Extrakt	1,5	Extrakt	1,5

pH ohne Puffer	K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH		K ₁	K ₂
				ohne Puffer	ohne Puffer		
5,3	—	—		—	5,2	—	—
5,0	1,4	(0,008 93)	0,4	4,9	0,4	0,002 53	
	1,13	0,005 11	1,2		0,85	0,003 82	
4,7	1,32	0,004 92	1,4	4,5	0,8	0,002 98	
	1,4	0,004 51	1,85		0,92	0,002 96	
4,5	1,32	0,004 14	2,2	4,3	0,98	0,002 42	
Mittel: 0,004 67				Mittel: 0,002 94			

bereitet, aber das Wesen der Chininwirkung auf den Prozeß bleibt in beiden Fällen dasselbe.

Tabelle IV. Verseifung des Triacetins bei Gegenw.

Zeit in Stunden	1proz. Triacetin 10,0 n/20 CO(NH ₂) ₂ 1,5 Puffer (6,6) 1,5 Extrakt 1,5						1proz. Triacetin 10,0 H ₂ O 1,0 Puffer (6,6) 1,5 Extrakt 1,5					
	Verstärkte Acidität	pH			K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH			K ₁	K ₂
		elektr.	kolorimetrisch					elektr.	kolorimetrisch			
			mit Puffer	ohne Puffer					mit Puffer	ohne Puffer		
0	—	6,66 ₂	6,5	6,5	—	—	—	6,5	6,5	—	—	
1	1,1		6,5	6,4	1,1	0,007 00	1,0	6,49 ₄	6,5	6,4	1,0	0,006 3
2	2,2				1,55	0,007 06	2,1				1,48	0,006 7
3	3,1		6,1	6,2	1,42	0,006 67	3,15		5,9	6,2	1,82	0,006 7
4	3,8				1,9	0,006 17	3,9	6,20 ₃			1,9	0,006 3
5	4,5		5,9	6,0	1,86	0,005 58	4,5		5,9	6,0	1,86	0,005 8
					Mittel:	0,006 56					Mittel:	0,006 4

Tabelle V. Verseifung des Triacetins bei Gegenw.

Zeit in Stunden	1proz. Triacetin 10,0 n/20 CO(NH ₂) ₂ 1,0 Puffer (8,72) 1,5 Extrakt 1,5						1proz. Triacetin 10,0 H ₂ O 1,0 Puffer (8,72) 1,5 Extrakt 1,5					
	Verstärkte Acidität	pH			K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH			K ₁	K ₂
		elektr.	kolorimetrisch					elektr.	kolorimetrisch			
			mit Puffer	ohne Puffer					mit Puffer	ohne Puffer		
0	—	8,40	8,4	8,4	—	—	—	8,4	8,4	—	—	
1	2,0		8,28	8,2	2,0	(0,012 81)	2,0	8,28	8,2	2,0	(0,012 81)	
2	3,6				2,55	0,011 67	3,55			2,51	0,011 67	
3	4,8		8,2	8,1	2,8	0,010 77	4,75	8,09 ₇	8,2	8,1	2,74	0,010 77
4	5,55				2,8	0,009 13	5,5				2,75	0,009 13
5	6,75		7,8	7,8	3,0	0,008 99	6,8		7,8	3,0	0,008 99	
					Mittel:	0,010 00					Mittel:	0,009 00

Tabelle VI. Einfluß von Harnstoffnitrat a

Zeit in Stunden	1proz. Triacetin 10,0 n/20 CO(NH ₂) ₂ HNO ₃ 1,0 Puffer (7,4) 1,5 Extrakt 1,5						1proz. Triacetin 10,0 H ₂ O 1,0 Puffer (7,4) 1,5 Extrakt 1,5					
	Verstärkte Acidität	pH			K ₂	Verstärkte Acidität	pH			K ₂		
		elektr.	kolorimetrisch				elektr.	kolorimetrisch				
			mit Puffer	ohne Puffer				mit Puffer	ohne Puffer			
0	—		6,9	6,9	—	—	6,95 ₄	6,9	7,1	—	—	
1	1,35	7,06 ₆	6,9	6,9	(0,008 61)	1,35		6,9		(0,008 61)	1,35	
2	2,1				0,006 73	2,2				0,006 73	2,2	
3	3,2		6,6	6,5	0,006 90	3,2		6,7	6,7	0,006 90	3,2	
4	3,9				0,006 50	4,05				0,006 50	4,05	
5	4,8		6,4	6,6	0,006 28	4,9		6,5	6,6	0,006 28	4,9	
					Mittel:	0,006 60				Mittel:	0,006 60	

des freien Harnstoffs in saurem Medium.

1proz. Triacetin 10,0				1proz. Triacetin 10,0			
n/20 CO(NH ₂) ₂ 1,0				H ₂ O 1,0			
H ₂ O 1,5				H ₂ O 1,5			
Extrakt 1,5				Extrakt 1,5			
Seite N ^o	pH ohne Puffer	K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH ohne Puffer	K ₁	K ₂
	5,2	—	—	—	5,2	—	—
	4,9	0,85	0,005 40	0,75	5,0	0,75	0,004 76
		1,23	0,004 63	1,4		0,99	0,004 47
	4,4	1,12	0,004 16	2,15	4,4	1,24	0,004 56
		1,25	0,004 02	2,5		1,25	0,004 02
	4,2	1,32	0,004 14	3,2	4,2	1,32	0,004 14
	Mittel:	0,004 47			Mittel:	0,004 89	

freien Harnstoffs in alkalischem Medium.

1proz. Triacetin 10,0				1proz. Triacetin 10,0				
n/20 CO(NH ₂) ₂ 1,0				H ₂ O 1,0				
H ₂ O 1,5				H ₂ O 1,5				
Extrakt 1,5				Extrakt 1,5				
Seite N ^o	pH ohne Puffer	K ₁	K ₂	Verstärkte Acidität	pH		K ₁	K ₂
					elektr.	ohne Puffer		
	5,3	—	—	—	5,3	—	—	—
	4,9	0,9	0,005 72	0,8	4,75 ₇	4,9	0,8	0,005 08
		1,06	0,004 79	1,6			1,13	0,005 11
	4,5	1,18	0,004 38	1,95		4,4	1,13	0,004 16
		1,25	0,004 10	2,5			1,25	0,004 02
	4,2	1,35	0,004 20	3,2		4,3	1,42	0,004 14
	Mittel:	0,004 64				Mittel:	0,004 50	

lipase in schwach saurem Medium.

1proz. Triacetin 10,0				1proz. Triacetin 10,0			
n/20 CO(NH ₂) ₂ HNO ₃ 1,0				H ₂ O 1,0			
H ₂ O 1,5				H ₂ O 1,5			
Extrakt 1,5				Extrakt 1,5			
Seite N ^o	pH		K ₂	Verstärkte Acidität	pH ohne Puffer	K ₂	
	elektrometr.	ohne Puffer					
		< 3,2	—	—	5,2	—	
		< 3,2	—	0,7	5,1	0,004 44	
			—	1,15		0,003 66	
	2,96 ₇	< 3,2	—	2,0	4,7	0,003 27	
			—	2,45		0,003 94	
		< 3,2	—	2,7	4,5	0,003 48	
					Mittel:	0,008 76	

Tabelle VII. Verseifung des Triacetins in Ge.

Zeit in Stunden	1proz. Triacetin 10,0				1proz. Triacetin 10,0				
	n/20 CO(NH ₂) ₂ HNO ₃ 1,0				H ₂ O 1,0				
	Puffer (8,72) 1,5				Puffer (8,72) 1,5				
	Extrakt 1,5				Extrakt 1,5				
	Ver- stärkte Acidität	p _H		K ₂	Ver- stärkte Acidität	p _H		K ₂	
		kolorimetrisch				kolorimetrisch			
		mit Puffer	ohne Puffer			elektrom.	mit Puffer		ohne Puffer
0	—	8,3	8,2	—	—	8,19	8,4	8,3	—
1	1,9	8,1	8,0	(0,012 16)	2,3		8,3	8,2	(0,014
2	3,5			0,011 34	3,5				0,011
3	4,5	8,0	7,8	0,009 79	4,4			8,1	0,009
4	5,4			0,008 88	5,5				0,009
5	6,3	8,0	7,7	0,008 34	6,4		8,0	7,9	0,008
		Mittel:		0,009 59			Mittel:		0,009

Freier Harnstoff übt sowohl im sauren als im alkalischen Medium auf die Geschwindigkeit der Verseifung des Triacetins keinen Einfluß aus (s. Tabellen IV und V).

Tabellen VI und VII zeigen, daß die verlangsamende Wirkung des Harnstoffnitrats davon abhängt, daß dieses Salz bei Abwesenheit eines Puffers die p_H-Werte des Mediums bis 3,0 deplaciert.

Nach Willstätter und F. Memmen¹⁾ folgt die Spaltung des Triacetins durch gereinigte Lipase der Schütz-Borissowschen Regel:

$k = \frac{x}{\sqrt{t}}$. Unseren Beobachtungen nach ist die Verseifung des Triacetins durch die Lipase aus Pankreasglycerinextrakt im sauren Medium dem Gesetz der monomolekularen Reaktion $k_2 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ unter-

worfen, während im alkalischen Medium die Schütz-Borissowsche Regel (s. Tabelle III) besser zu passen scheint. Eine ähnliche Veränderung der Kinetik der Reaktion unter dem Einfluß der p_H-Werte beobachteten E. Abderhalden und A. Fodor²⁾ an Peptasen: bei p_H = 8,41 folgt die Spaltung der Peptide der Schütz-Borissowschen Regel; bei p_H = 7,37 wird die Reaktion eine monomolekulare.

In den Tabellen sind typische Versuche aus einer Reihe analoger Beobachtungen angeführt.

¹⁾ R. Willstätter und F. Memmen, Zeitschr. f. phys. Chem. **183**, 229, 1924.

²⁾ E. Abderhalden und A. Fodor, Fermentforschung **1**, 533, 564, 1916; J. A. Smorodinzew, Die Fortschritte der biologischen Chemie **4**, 81, 1926 (russisch).

von Harnstoffnitrat im alkalischen Medium.

1proz. Triacetin	10,0	1proz. Triacetin	10,0
3% CO(NH ₂) ₂ HNO ₃	1,0	H ₂ O	1,0
H ₂ O	1,5	H ₂ O	1,5
Extrakt	1,5	Extrakt	1,5

Mikro- titrier- stärke	p _H		K ₂	Verstärkte Acidität	p _H kolori- metrisch ohne Puffer	K ₂
	elektrometr.	ohne Puffer				
—		< 3,2	—	—	5,2	—
0,5	3,15	< 3,2	—	0,7	4,9	0,004 44
1,5			—	1,2		0,003 82
4,4		< 3,2	—	1,7	4,5	0,003 62
4,4			—	2,0		0,003 20
5		< 3,2	—	2,7	4,3	0,003 48
					Mittel:	0,008 71

Zusammenfassung.

- Bei p_H = 4,5 bis 4,8 verläuft die Spaltung des Triacetins durch Pankreaslipase um 1,5- bis 2mal schwächer als bei p_H = 5,8 bis 6,0 und um 3- bis 4mal schwächer als bei p_H = 8.
- Die Gegenwart von Chinin beschleunigt den Prozeß bei p_H = 4,8 um 1,4- bis 1,6mal, bei p_H = 5,8 bis 6,8 um 1,2- bis 1,4mal, während bei p_H = 8,0 die Hydrolyse schon etwas (um 1,2mal) verlangsamt wird.
- Das Chinin an sich selbst verändert die Reaktion des Mediums fast gar nicht, daher muß die Beschleunigung im sauren Medium vom Chininsalz, nicht aber von der Konzentration der Wasserstoffionen abhängen.
- Die Verlangsamung der Hydrolyse des Triacetins im alkalischen Medium wird vom freien Chinin bedingt, da die sich 8 nähernden p_H Werte in den Grenzen des Optimums für die Wirkung der Lipase liegen.
- Freier Harnstoff übt unabhängig von der Reaktion des Mediums auf den Prozeß der Spaltung des Triacetins keinen Einfluß aus.
- Die verzögernde Wirkung des Harnstoffnitrats hängt davon ab, daß es die p_H-Werte des Mediums bis 3 fortrückt.
- Bei Gegenwart eines Puffers übt dieses Salz sowohl im sauren, als im alkalischen Medium auf den Prozeß der Spaltung des Triacetins durch Pankreaslipase keinen Einfluß aus.

Vergleichende Untersuchungen über die Vergärung von Glucose und Brenztraubensäure.

Von

Erik Hügglund und L. Ahlbom.

(Aus dem chemischen Institut der Akademie zu Åbo.)

(Eingegangen am 23. November 1926.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Kurz nach der epochemachenden Entdeckung der *Carboxylase* von *C. Neuberg*¹⁾ wurden auch Untersuchungen über die Gärkraft dieses Enzyms im Vergleich mit derjenigen von *Zymase* angestellt. Bei Anwendung von *Lebedew-Saft* fanden dabei *C. Neuberg* und *P. Rosenthal*²⁾, daß Brenztraubensäure 2000 mal so schnell wie Glucose vergoren wurde. Im übrigen zeigte sich, daß *Carboxylase* gegen *Antiseptica* bedeutend resistenter ist als *Zymase*³⁾. In einer späteren Arbeit fand *C. Neuberg*⁴⁾, daß frische Hefe *Fructose* und *Glucose* etwas schneller als Brenztraubensäure vergor. Die Theorie von *Neuberg*, daß Brenztraubensäure ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung und infolgedessen *Carboxylase* ein Teilenzym des *Zymasekomplexes* ist, wurde bekanntlich später durch die ausgezeichneten Arbeiten von *Neuberg* und Mitarbeitern über den Verlauf der alkoholischen Gärung in Anwesenheit von *Sulfiten* bzw. bei alkalischer Reaktion stark gestützt. Für diese Theorie spricht auch ferner, daß bis jetzt keine einzige *Dreikohlenstoffverbindung* gefunden worden ist, die bei weitem so schnell vergoren wird, wie eben die Brenztraubensäure. Die Theorie verlangt nun, daß die Zerlegung der Brenztraubensäure mindestens ebenso

¹⁾ Diese Zeitschr. **36**, 68, 1911.

²⁾ Ebendasselbst **51**, 128, 1913.

³⁾ Vgl. auch *C. Neuberg* und *N. Iwanoff*, ebendasselbst **67**, 1, 1914; *C. Neuberg* und *L. Czapski*, ebendasselbst **67**, 9, 1914.

⁴⁾ Ebendasselbst **71**, 1, 1915.

schnell wie die des Zuckers erfolgen muß, was auch *Neuberg* klar formuliert hat. Teilweise von diesem, wohl aber hauptsächlich von anderem Gesichtspunkt ausgehend, hat auch vor einigen Jahren *H. v. Euler*¹⁾ auf die Bedeutung des Vergleichs der Reaktionsgeschwindigkeit der Glucosegärung mit derjenigen der Brenztraubensäuregärung hingewiesen. Dieses Verhältnis hat er mit dem Namen *Neuberg-Quotient (N)* bezeichnet, also:

$$N = \frac{\text{Reaktionsgeschwindigkeit der Glucosegärung}}{\text{Reaktionsgeschwindigkeit der Brenztraubensäuregärung}}$$

Wie *Euler* hervorhebt, ist die Größe dieses Quotienten von der Hemmung und Aktivierung der *Glucosegärung* in erheblichem Grade abhängig. In dem *Eulerschen* Laboratorium sind später Versuche zur Bestimmung von *N* ausgeführt worden; so fand *E. Lindberg*²⁾ bei Anwendung von Trockenhefe, daß *N* kleiner als 1 war, d. h. daß Brenztraubensäure schneller als Glucose vergoren wurde, und kürzlich haben *R. Nilsson* und *E. Sandberg*³⁾ in demselben Institut dieses Ergebnis bestätigt. Vor kurzer Zeit haben dagegen *H. Haehn* und *M. Glaubitz*⁴⁾ unter Anwendung verschiedener Rassen von lebenden Hefen festgestellt, daß die Brenztraubensäure bzw. Pyruvinat nicht so schnell wie Zucker vergoren wird; dafür konnte die Aldehydbildung nicht verantwortlich gemacht werden. Nach Ansicht der betreffenden Autoren können nur gesunde Hefen und normale physiologische Lebensbedingungen für solche vergleichenden Versuche in Frage kommen, denn „es könnte der extreme Fall eintreten, daß eine Hefe die anderen Zymaseteilenzyme zum großen Teil verloren hat und nur eine normale Carboxylase-reaktion gibt“, was gegebenenfalls zu Trugschlüssen führen muß.

Bei der Anwendung von lebender Hefe besteht aber die Schwierigkeit, daß man gar nicht weiß, mit welcher Geschwindigkeit die Brenztraubensäure oder ihre Salze in die Zellen eindringen. Daß diese unter Umständen recht gering ist, ergibt sich aus unseren früheren Untersuchungen als sehr wahrscheinlich. Durch Trocknen der Hefe wird die Permeabilität sicherlich genügend erhöht, aber unter diesem Eingriff leiden Enzyme oder Aktivatoren des Zymasekomplexes mehr oder weniger stark, während die Carboxylase wahrscheinlich widerstandsfähiger ist. Unter Umständen kann man also durch Bestimmung von *N* den Grad der Inaktivierung der Zymase beim Trocknen oder durch Einwirkung von Antiseptica annähernd erfahren. Der Nachweis,

¹⁾ Diese Zeitschr. 130, 550, 1922.

²⁾ Ebendasselbst 132, 110, 1922.

³⁾ Ebendasselbst 174, 106, 1926.

⁴⁾ Chemie der Zelle und Gewebe 13, 86, 1926.

daß Brenztraubensäure schneller als Zucker vergoren wird, insbesondere von Trockenhefe, sagt uns nichts über die Zugehörigkeit dieses Enzyms zum Zymasekomplex aus. $N \geq 1$ ist jedenfalls eine notwendige Voraussetzung für die Richtigkeit der *Neuberg'schen* Theorie.

In einer vorhergehenden Arbeit hat der eine von uns (*Hägglund*) mit *A. M. Augustsson*¹⁾ die Beobachtung gemacht, daß eine Mischung von Glucose und Brenztraubensäure wesentlich schneller als Brenztraubensäure allein vergor, woraus der Schluß gezogen wurde, daß Glucose schneller als Brenztraubensäure vergoren wird. Obwohl darüber eine andere Ansicht geäußert wurde²⁾, erscheint uns diese Erklärung immer noch als die nächstliegende. Da ein völliger Beweis dadurch nicht erbracht ist, haben wir diesem Thema eine eingehende Untersuchung gewidmet, worauf im folgenden eingegangen werden soll.

Für die Untersuchungen wurde sowohl Unterhefe als auch Oberhefe benutzt. Erstere bekamen wir von der Brauerei *Sinebrychhoff*, Helsingfors, geliefert; sie war dieselbe, die in früheren Untersuchungen dieses Instituts benutzt wurde³⁾. Die Oberhefe (*Rotebro*) wurde uns durch Herrn Direktor *H. Brahmer*, Stockholm, in vorzüglicher Reinheit zugeschickt.

Die *Methodik* war dieselbe wie in unseren früheren Untersuchungen. Die Temperatur bei den Gärungen betrug 30°.

Lösungen.

Brenztraubensäurelösung: 0,15 mol. Brenztraubensäure } 1 Liter.
0,15 mol. Na_2HPO_4 }
 $p_{\text{H}} = 4,8$.

Glucoselösungen: I. 50 g Glucose } 1 Liter.
0,2 mol. KH_2PO_4 }
 $p_{\text{H}} = 4,3$.

II. 100 g Glucose } 1 Liter.
0,2 mol. KH_2PO_4 }
 $p_{\text{H}} = 4,3$.

Versuchsreihe A.

Lebende Unterhefe.

Die Ergebnisse der Gärungen sind der Übersicht halber in der Tabelle I zusammengestellt. Dabei ist zu bemerken, daß die Versuche 1 bis 4 mit lebender Hefe ausgeführt sind, während in den Versuchen 5 bis 13 aus lebender Hefe hergestellter Saft zur Gärung benutzt wurde.

¹⁾ Diese Zeitschr. 170, 118, 1926.

²⁾ Nilsson und Sandberg. a. a. O.

³⁾ Wir benutzen diese Gelegenheit, der Firma für die Hefesendungen bestens zu danken.

Die Versuche 1 und 2, die parallel liefen, zeigen, daß lebende Hefe Glucose *viel schneller* vergärt als Brenztraubensäure ($N \sim 40$). Wurde nach beendeter Gärung von 2 (nach 19 Stunden) Brenztraubensäurelösung zugesetzt und mit einer Parallelprobe, in welcher Zucker vergoren wurde, verglichen, zeigte sich wiederum, daß Glucose viel schneller als Brenztraubensäure vergoren wurde ($N \sim 40$).

Diese Ergebnisse sind, wie wir früher hervorgehoben haben, für die gestellten Fragen nicht entscheidend, da die schwache Gärung der Brenztraubensäure auf osmotische Verhältnisse zurückgeführt werden kann. Für die Bereitung des Hefesafts kamen uns neue Erfahrungen aus hiesigem Institut, worüber an anderer Stelle berichtet werden soll, zugute. Der Saft wurde in folgender Weise hergestellt: 100 Teile frischer Hefe wurden 4 Stunden bei 30° mit 20 Teilen Na-Phosphatlösung von solcher Stärke behandelt, daß die Konzentration derselben, mit dem Hefewasser verdünnt, 0,15 mol. Na_2HPO_4 im Liter entsprach. Darauf wurde der Saft von der Hefe abgenutscht und durch Zentrifugieren geklärt. Wir benutzten für diesen Zweck eine Zentrifuge mit einer Tourenzahl von 3500 Umdr./Min. Am raschesten gelingt die Klärung durch Zentrifugieren in zwei Stufen, wobei der nach der ersten halben Stunde gewonnene, noch nicht ganz zellfreie Saft in einem anderen Rohre abdekantiert und während einer weiteren halben Stunde zentrifugiert wurde. Der Saft erwies sich dann, im Mikroskop betrachtet, frei von Zellen.

Die Gärung mit diesem Saft unter Toluolzusatz verlief nun wie die Versuche 5 und 6 zeigen. Man merkt hier, daß Brenztraubensäure außerordentlich schnell angegoren wird, was nicht mit der Glucose der Fall ist. Vielmehr tritt hier trotz des Zusatzes von Zymophosphat eine allerdings sehr kurze „Induktion“ ein; aber nach 30 Minuten verläuft die Gärung mit ebenso großer Geschwindigkeit wie die Brenztraubensäuregärung. Es ergibt sich ferner, daß die Geschwindigkeit letzterer schon nach 20 Minuten stark abnimmt, was zweifellos auf die Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration zurückzuführen ist. Bereits bei neutraler Reaktion ist die Wirkung der Carboxylase außerordentlich stark geschwächt, was besonders aus der Arbeit von *E. Hägglund* und *T. Rosenquist*¹⁾ hervorgeht.

Wurde nun nach beendeter Gärung von dem Versuch 6 und einer Parallelprobe, die ganz ähnlich verlief, zu der einen Brenztraubensäurelösung, zu der anderen Glucoselösung I zugesetzt, so verliefen die Gärungen 7 und 8 wie 5 und 6, mit dem Unterschied vielleicht, daß die Glucosegärung in 8 etwas langsamer vonstatten ging als in 6.

In dem Versuch 9 wurde die Zuckerlösung nicht mit Zymophosphat und Toluol versetzt; hier tritt auch eine sehr lange Induktionsdauer ein. Nach dieser Zeit tritt die Gärung ein und verläuft mit keiner sehr großen Geschwindigkeit. Die Versuche 10 und 11 zeigen, wie es geht, wenn die ausgegorene Lösung 9 wie früher mit Glucose- bzw. Brenztraubensäurelösung versetzt wird. Während nach kurzer Induktionsperiode der Zucker mit *sehr großer Geschwindigkeit vergoren wird, vergärt Brenztraubensäure praktisch gar nicht*.

Auffallenderweise wird die Zymase der Gärlösung nach 11 von Toluol völlig inaktiviert, während in einer Parallelprobe ohne Toluol (13) die

¹⁾ Diese Zeitschr. (im Druck).

Tabelle I.

Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure												
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.
10 cm Brenztraubensäure- lösung 1 g Hefe	10 cm Brenztraubensäure- lösung 1 g Hefe	10 cm Glucoselösung I	Versuch 2, 19 Std. nach be- endeter Gärung mit 10 cm Brenztraubensäurelösung versetzt	Parallelversuch zu 2, 19 Std. nach beendeter Gärung mit 10 cm Glucoselösung I versetzt	10 cm Brenztraubensäure- lösung 5 cm Saft 0,1 " Toluol	5 cm Glucoselösung II 5 cm Saft 0,1 " Toluol 0,1 g Zymphosphat	Versuch 6 nach beendeter Gärung mit 10 cm Brenz- traubensäurelösung versetzt	Parallelversuch zu 6 nach beendeter Gärung mit 10 cm Glucoselösung I versetzt	10 cm Glucoselösung II 10 cm Saft $pH = 6,0$	10 cm von Versuch 9 nach Brenztraubensäurelösung versetzt	10 cm von Versuch 9 nach beendeter Gärung mit 10 cm Glucoselösung I versetzt	10 cm von Versuch 11 nach beendeter Gärung mit 10 cm Toluol versetzt	10 cm von Versuch 11 nach beendeter Gärung mit 10 cm Glucoselösung I versetzt
10 Min.	—	—	—	—	8,9	—	10,2	—	—	—	—	—	—
20 "	—	—	—	—	13,1	—	16,6	—	—	—	—	—	—
30 "	1,1	36,3	—	—	16,8	10,0	21,2	13,1	—	—	—	—	—
1 Std.	2,1	79,8	1,2	40,4	17,0	41,0	25,1	20,5	—	—	3,1	1,0	29,5
2 Stdm.	—	104,7	1,6	81,2	—	52,0	—	31,2	2,1	2,1	50,1	1,0	73,2
3 "	3,9	—	2,0	—	—	56,1	—	—	—	3,5	96,2	1,0	—
12 "	13,5	—	—	—	—	—	—	—	2,1	—	—	—	—
20 "	—	—	—	—	—	—	—	—	15,4	—	—	—	—
29 "	—	—	—	—	—	—	—	—	20,2	—	—	—	—
32 "	—	—	—	—	—	—	—	—	33,5	—	—	—	—
34 "	—	—	—	—	—	—	—	—	48,3	—	—	—	—
43 "	—	—	—	—	—	—	—	—	120,1(?)	—	—	—	—
pH nach be- end. Gärung	6,8	4,3	5,8	4,3	7,2	5,4	6,4	5,4	4,3	4,6	4,3	—	4,3

Glucose mit derselben Geschwindigkeit wie in 11 vergoren wurde. Die Versuche 1 bis 13 sind in der Abb. 1 graphisch dargestellt.

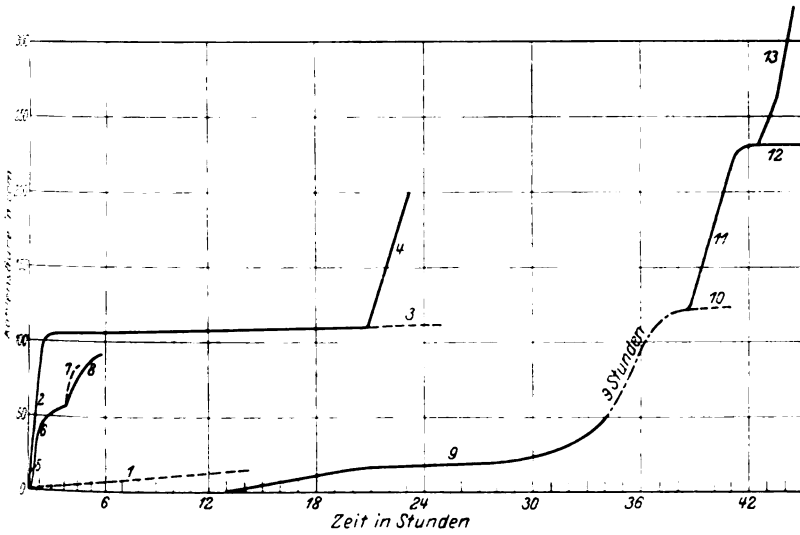


Abb. 1.

Versuchsreihe B.

Trockenhefe aus Unterhefe.

Die Bereitung der Trockenhefe geschah durch Trocknung bei Zimmer-temperatur in dünner Schicht, und zwar während zweier Tage. Die Ergebnisse sind in der Tabelle II und durch die Abb. 2 wiedergegeben. Die Versuche 1 und 2 bzw. 3 bis 6 zeigen, daß N etwas kleiner ist als 1; läßt man die fertiggegorene Lösung längere Zeit stehen, wird die Carboxylase stark geschwächt (5).

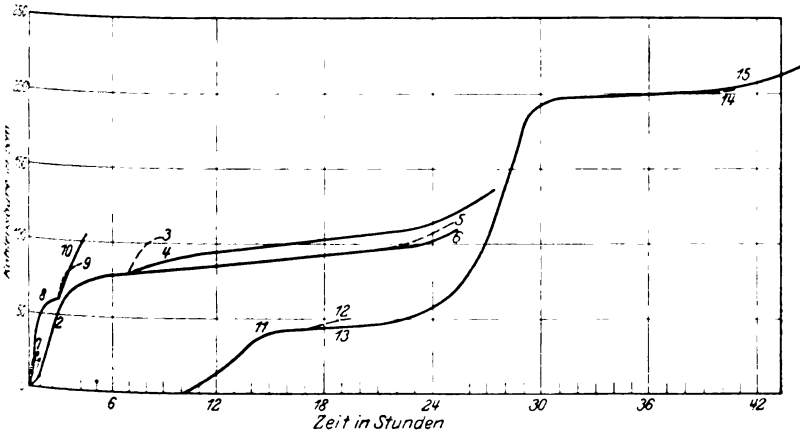


Abb. 2.

Tabelle III.

Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
10 Minuten	10 ccm Brenztrauben- säurelösung 1 g Hefe 0,1 ccm Toluol	10 ccm Glucoselösung I 1 g Hefe 0,1 g Zymosphosphat 0,1 ccm Toluol	Versuch 2 nach be- endeter Gärung mit 10 ccm Brenztrauben- säurelösung versetzt	10 ccm Glucoselösung I 1 g Hefe	Versuch 4 nach be- endeter Gärung mit 10 ccm Brenztrauben- säurelösung versetzt	Parallelversuch zu 4, nach beendeter Gärung mit 10 ccm Glucose- lösung I versetzt	10 ccm Brenztrauben- säurelösung 5 ccm Saft	10 ccm Glucoselösung II 10 ccm Saft $pH = 6,0$	10 ccm von Versuch 8 nach beendeter Gärung mit 10 ccm Glucose- lösung I versetzt
20 "	10,2								
30 "	15,9					14,5			9,1
1 Stunde	19,0		0,3		1,1	30,3			18,2
2 Stunden	23,1					93,0			
3 "					3,0		0,8		
11 "		27,1						3,0	
13 "								10,4	
17 "				3,6					
20 "				17,1					
21 "				25,9					
24 "		32,2		89,0				44,1	
28 "								71,2	
32 "								120,3	
34 "								137,1	
pH nach beendeter Gärung	6,0	4,3	4,3	4,3	4,5	4,3	6,5	4,3	4,3

Die Versuche 7 bis 18 wurden mit Saft aus der Trockenhefe, durch Extraktion mit Na_2HPO_4 -Lösung bereitet, ausgeführt.

Aus den Versuchen 7 bis 10 geht hervor, daß die Anfangsgeschwindigkeit der Brenztraubensäurevergärung größer ist als die Geschwindigkeit der Zuckerspaltung. Durch Zusatz von Zymophosphat wird die Induktion relativ schnell aufgehoben. Ohne Zymophosphat ist die Induktionsperiode sehr lang (11). Nach beendeter Gärung zeigt es sich wiederum, daß die Carboxylase stark geschwächt ist (12). Aus dem Parallelversuch 13 zeigt sich, daß die Gärung des Zuckers erst nach einer mehrstündigen Induktion einsetzt, dann aber sehr schnell vor sich geht. Die vergorene Lösung 13 hat fast keine Carboxylase mehr, was nicht nur aus der geringen Kohlensäureentwicklung ersichtlich ist, sondern sich auch aus der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nach beendeter Gärung ergibt. Die Zuckervergärung setzt nach vorgegangener Induktion ein (15).

Die Versuche 16 bis 18 sind für die Kenntnis der Ursachen der Induktion von Interesse. Auf diese Frage werden wir später ausführlicher zurückkommen.

Wir machten bei unseren Versuchen mit Hefesaft immer die Beobachtung, daß der anfangs klare Saft beim Einsetzen der Gärung mehr oder weniger trübe war. Es erwies sich, daß diese Trübung wenigstens zum Teil auf gebildete Hefezellen zurückzuführen war. Durch Zentrifugieren konnte die Hefe praktisch vollständig von dem Saft getrennt werden. Die Gärung seitens dieser Hefe erwies sich aber, wie der Versuch 17 zeigt, *sehr gering*. Die geklärte Lösung fing erst nach 27 Stunden an, merkliche Gärung zu zeigen, während ungeklärter Saft bereits nach 1 Stunde starke Gärung zeigte. In der Hefe sind offenbar gewisse Aktivatoren vorhanden, welche die Gärung ermöglichen und schon in kleinen Mengen genügen.

Was die Frage der Beteiligung der Carboxylase an die Zuckerspaltung betrifft, so zeigt sich, daß die Carboxylase bei anhaltender Gärung mit Hefesaft stark geschwächt wird, während die Zymase, sofern gewisse Aktivatoren zugegen sind, ihre volle Wirksamkeit behält.

Versuchsreihe C.

Acetondauerhefe aus Unterhefe.

Die Bereitung der Acetonhefe geschah nach einer Vorschrift von H. Sobotka¹⁾. Die Resultate der Versuche mit dieser Hefe sind in Tabelle III und Abb. 3 angegeben.

Die Versuche 1 bis 6 sind, wie man sieht, mit Acetonhefe, 7 bis 9 mit daraus hergestelltem Saft ausgeführt. Die Versuche 1 und 2 zeigen, daß die Carboxylase starke Gärung zeigt, während in dem Parallelversuch mit Glucose und Zymophosphat die Kohlensäureentwicklung wesentlich langsamer verläuft. Wird nach beendeter Gärung von 2 in einem Versuch Brenztraubensäurelösung (3) und in einem anderen Glucoselösung zugesetzt (4), so tritt auffallenderweise keine Gärung in ersterem Falle ein, während die Glucose nach 17 Stunden Induktion schnell vergoren wird. In den Versuchen 5 und 6 ist dasselbe bestätigt worden.

¹⁾ H. 184, 11, 1924.

Aus Acetonhefe hergestellter Saft vergärt nicht Brenztraubensäure, wohl aber Zucker (7 bis 9).

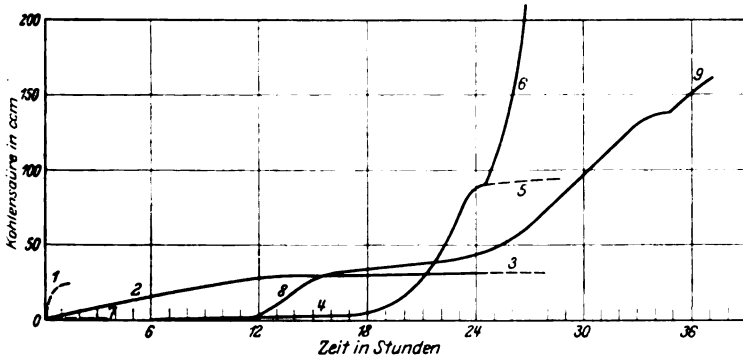


Abb. 3.

Versuchsreihe D.

Trockenhefe aus Oberhefe.

Die Versuche 1 bis 9 sind mit Trockenhefe und 10 bis 16 mit aus dieser Hefe nach dem erwähnten Verfahren hergestelltem Hefeextrakt ausgeführt. In den Versuchen 1 und 2 ist die Anfangsgeschwindigkeit der Brenztraubensäuregärung ungefähr so groß wie die der Glucose. 3 und 4 bzw. 5 und 6 zeigen aber deutlich, daß die Brenztraubensäure im Vergleich mit Zucker sehr langsam vergoren wird. Das könnte aber seinen Grund darin haben, daß die Hefe, was die Permeabilität für Brenztraubensäure betrifft, nunmehr den Charakter einer lebenden Hefe angenommen hat. Für diese Ansicht sprechen in gewissem Sinne die Versuche 7 bis 9.

Die Saftversuche 10 und 11 erlauben keine bestimmte Schlüsse in bezug auf die Größe von *N*, weil der Saft trotz Zusatz von Zymophosphat eine ausgeprägte Induktion zeigt. Infolge der Verschiebung der Acidität nach

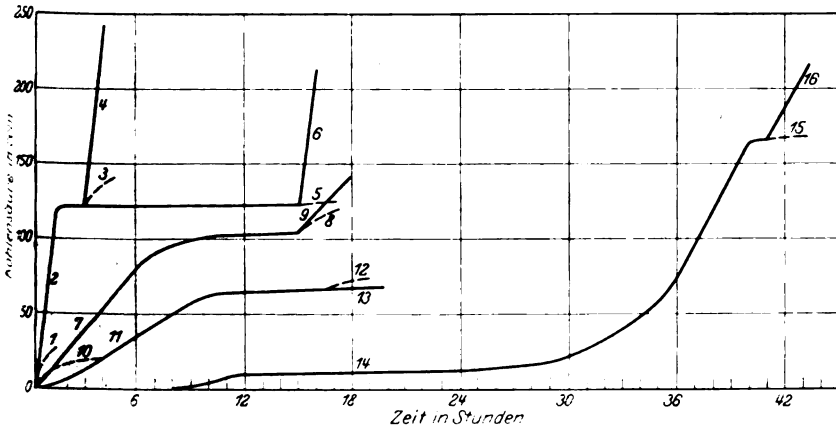


Abb. 4.

Tabelle IV.

Zeit	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
10 Min.	8,0	—	—	—	—	—	—	—	—	4,0	—	—	—	—	—	—
20 "	12,5	—	—	—	—	—	—	—	—	6,1	—	—	—	—	—	—
30 "	16,0	31,8	8,1	56,1	1,1	44,5	—	5,0	—	7,5	—	1,5	—	—	—	—
1 Std.	24,9	79,9	14,8	112,4	2,1	86,2	10,8	9,8	12,1	10,7	3,4	3,0	1,0	—	1,0	18,8
1 1/2 Stdn.	—	120,2	20,1	—	3,1	—	24,1	18,0	24,1	15,7	5,9	6,1	2,0	—	2,0	38,1
2 "	—	121,8	—	—	—	—	80,1	—	—	—	34,1	—	—	—	—	—
6 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56,2	—	—	—	—	—
9 "	—	—	—	—	—	—	104,8	—	—	—	66,0	—	—	9,6	—	—
12 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12,2	—	—
24 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	74,1	—	—
36 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	163,0	—	—
40 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	166,0	—	—
41 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
p _H nachbeend. Gärung	6,5	4,2	6,2	4,2	5,0	4,2	4,2	6,0	4,2	6,8	5,7	6,2	5,6	4,3	5,6	4,3

Kubikzentimeter Kohlensäure

Zeit

Tabelle V.

Zeit	Kubikzentimeter Kohlensäure							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
30 Minuten	10 ccm Brenztrauben- säurelösung 1 g Hefe 0,1 ccm Toluol	10 ccm Glucoselösung I 0,1 ccm Toluol 1 g Hefe 0,1 g Cymphosphat	Versuch 2 nach be- endeter Gärung mit 10 ccm Brenztrauben- säurelösung veretzt	10 ccm Glucoselösung I 1 g Hefe	Versuch 4 nach be- endeter Gärung mit 10 ccm Brenztrauben- säurelösung veretzt	Parallelversuch zu 4, nach beendeter Gärung mit 10 ccm Glucoselösung I veretzt	10 ccm Brenztrauben- säurelösung 5 ccm Saft	10 ccm Glucoselösung II 10 ccm Saft $p_H = 6,0$
1 Stunde	8,1	1,0	0,5	—	—	26,0	—	—
1½ Stunden	12,2	—	—	—	—	—	—	—
2 "	16,3	3,8	1,0	—	0,8	68,0	—	—
3 "	20,1	6,3	—	—	1,3	96,2	1,1	—
10 "	—	—	—	1,0	—	—	—	—
12 "	—	37,4	—	4,1	—	—	—	4,1
15 "	—	—	—	9,5	—	—	—	—
20 "	—	—	—	46,0	—	—	—	—
22 "	—	—	—	89,7	—	—	—	—
24 "	—	44,2	—	—	—	—	—	6,1
51 "	—	—	—	—	—	—	—	30,1
57 "	—	—	—	—	—	—	—	54,0
61 "	—	—	—	—	—	—	—	88,4
72 "	—	—	—	—	—	—	—	155,0
p_H nach beendeter Gärung	5,6	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	6,0	4,3

der neutralen Seite wird die Brenztraubensäure nach einer gewissen Zeit nicht mehr vergoren. In den Versuchen 12 und 13 sind sowohl Carboxylase als Zymase stark geschwächt, letztere wohl infolge des Zusatzes von Toluol, wodurch das Aufkommen aktivierend wirkender Stoffe verhindert wird.

In den Versuchen 14 bis 16 sind Toluol und Zymophosphat nicht zugesetzt. Die Induktion in 14 beträgt infolgedessen etwa 12 Stunden. Nachher vergärt aber der Zucker sehr schnell. Nach beendeter Gärung trat bei dem Zusatz von Brenztraubensäure keine Gärung ein, wie der Versuch 15 zeigt, während Zucker glatt vergoren wurde (16). (Abb. 4.)

Versuchsreihe E.

Acetondauerhefe aus Oberhefe.

Wir verweisen auf die Tabelle V und die Abb. 5, voraus die Ergebnisse hervorgehen. Die ersten sechs Versuche sind mit Hefe, die beiden letzten mit Saft aus der Hefe ausgeführt.

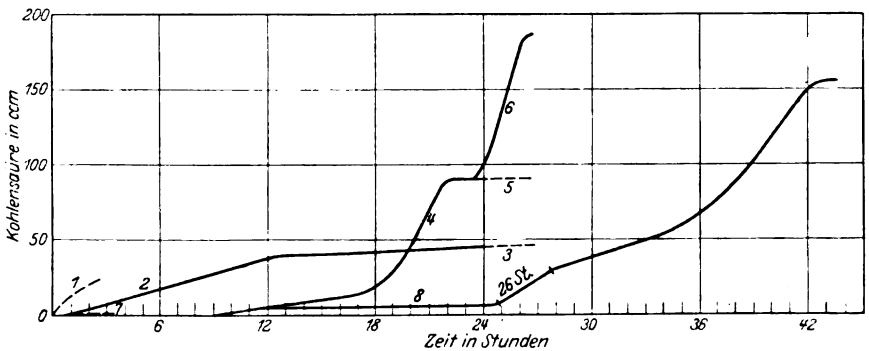


Abb. 5.

In 1 setzt die Gärung der Brenztraubensäure momentan ein, in 2 ist trotz des Zusatzes von Zymophosphat eine deutliche Induktion bemerkbar. Für den Versuch 3 ist die Hefe von Versuch 2 benutzt worden. Es zeigt sich: Brenztraubensäure wird nicht vergoren. Versuch 4 zeigt, daß Glucose nach einer zehnstündigen Induktion vergoren wird. Durch die Vorgärung in 4 tritt in 4 keine Induktion mehr ein, aber Brenztraubensäure vergärt unter denselben Umständen wiederum nicht.

Saft aus Acetondauerhefe dargestellt, vergärt Brenztraubensäure nicht, wohl aber Zucker nach zwölfstündiger Induktion (Versuche 7 bis 8).

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Durch vergleichende Untersuchungen über die Vergärung von Glucose und Brenztraubensäure ist folgendes nachgewiesen worden.

Die Brenztraubensäure vergärt unter Umständen in der Tat schneller oder ebenso schnell wie Glucose, wenn man die Anfangsgeschwindigkeit der Brenztraubensäurevergärung berücksichtigt, d. h. bei der Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher die Carboxylase

überhaupt wirksam sein kann, also nicht in der Nähe des Neutralpunktes.

Man muß sich fragen, ob diese schnellere Vergärung ein sicherer Beweis für die Richtigkeit der Brenztraubensäuretheorie der Gärung ist. Wir haben nämlich mehrere Fälle gefunden, in denen Glucose schnell vergoren wird, ohne daß Brenztraubensäure unter gleichen Verhältnissen überhaupt zerlegt wird. Die Theorie, daß Carboxylase ein Teilenzym der Zymase ist, erfordert eine Hilfshypothese, sofern angenommen wird, daß die Brenztraubensäure, welche als Zwischenprodukt der Zuckergärung gebildet wird, mit der synthetischen Brenztraubensäure strukturidentisch ist. Ist dies nicht der Fall, so *muß* man annehmen, daß in der Hefe irgend ein „Coenzym“ vorhanden ist, das bei der Brenztraubensäuregärung die betreffende Säure in eine von Carboxylase angreifbare Form überführt. Man könnte sich denken, daß bei langer Saftgärung oder sonst unter den geschilderten Verhältnissen, bei welchen die Brenztraubensäure nicht zerfällt, dieses „Coenzym“ inaktiviert wird, irgendwelche Anzeichen für die Anwesenheit eines solchen Coenzym haben wir allerdings noch nicht gefunden.

Über die Giftigkeit einiger Lokalanaesthetica bei intraarterieller Applikation.

Von
T. Kuroda.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 27. November 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei der Venenanästhesie nach *Bier*¹⁾ wird in eine Extremität, die durch eine Gummibinde von der allgemeinen Zirkulation ausgeschaltet ist, das Anaestheticum intravenös injiziert. Die intraarterielle Injektion, die offenbar zu einem besseren Erfolg führen würde, ist kaum angewandt worden, weil sie eine Voroperation zur Freilegung der Arterie voraussetzt (*Bier*).

Wir haben uns die Frage vorgelegt, ob die Lokalanaesthetica bei intraarterieller Injektion stärkere allgemeine Wirkungen zeigen als bei intravenöser.

In der Literatur findet sich ein kurzer Hinweis von *Hotz*²⁾ über die geringe Intoxikationsgefahr bei intraarterieller Injektion von Cocain und Novocain. Es handelt sich um klinische Beobachtungen. Die Wirkung der anderen Lokalanaesthetica nach intraarterieller Applikation ist bis jetzt nicht geprüft worden. Es schien uns notwendig, die Wirksamkeit der genannten Pharmaca auch bei intraperitonealer und subkutaner Injektion zu prüfen, um einen Vergleich sowohl der Applikationsarten als auch der einzelnen Gifte zu haben. Über die Dosis letalis minima der Lokalanaesthetica bei intraarterieller Injektion habe ich in der Literatur keine Zahlen gefunden. Die Zahlen bei den anderen Applikationsarten, die von den verschiedenen Autoren angegeben werden³⁾, konnten wir nicht verwerten, weil sie stark voneinander abweichen. *Hatcher* und *Eggleston*⁴⁾ haben gezeigt, daß die

1) *Bier*, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 11, S. 477.

2) *Hotz*, Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 32, S. 1747.

3) Vgl. *Poullsson* in *Heffters Handb. d. exper. Pharm.*

4) *Journ. of Pharm. and exp. Therap.* 8, 405, 1916.

Dosis letalis abhängig ist von der Konzentration der Lösung und von der Schnelligkeit der Injektion. Damit erklären sich die voneinander abweichenden Zahlen der verschiedenen Untersucher. Ein Vergleich der Giftigkeit bei den verschiedenen Applikationsarten ist nur dann zulässig, wenn die oben genannten Versuchsbedingungen gleich sind.

Zu den Versuchen haben wir Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 150 bis 300 g verwendet. Für die intravenöse Injektion benutzten wir die Vena jugularis, für die intraarterielle die Carotis. Sie wurde in einer Länge von 2 bis 3 cm freipräpariert und nach dem Herzen zu abgebunden. Die Injektion geschah in der entgegengesetzten Richtung. Nach Herausziehen der Injektionskanüle wurde eine zweite Ligatur angelegt, so daß eine Blutung nicht eintrat. In einigen Versuchen wurde die Carotis mit einer Klemme versehen. Während der Injektion wurde die Klemme gelöst. Arbeitet man mit einer ganz feinen Kanüle, so gelingt es auch ohne Blutverlust, das Gift zu injizieren. Nach Herausziehen der Kanüle wurde je eine Ligatur oberhalb und unterhalb der Injektionsstelle angelegt. Wir haben uns davon überzeugt, daß die Dosen bei beiden Operationsmethoden die gleichen waren.

Die Konzentrationen der Lösungen betragen in allen Versuchen 1 : 100. In der Tabelle I haben wir das Gesamtergebnis der Versuche zusammengestellt. Wir sehen, daß alle geprüften Lokalanästhetica bei intraarterieller Injektion eine geringere Giftigkeit zeigen als bei intravenöser. Die Dosen sind bei intraarterieller Injektion fast bei allen geprüften Giften doppelt so groß, als bei intravenöser Zufuhr. Weiter zeigt uns die Tabelle, daß die einzelnen Gifte bei verschiedenen Applikationsarten eine verschiedene Wirksamkeit zeigen.

Tabelle I.

	Dosis letalis minima bei			
	intravenöser Injektion mg pro kg	intraarterieller Injektion mg pro kg	intraperitonealer Injektion mg pro kg	subkutaner Injektion mg pro kg
Cocainhydrochlorid . . .	20	40	60	50
Novocain	50	140	600	550
Tutocain	30	80	250	270
Psicain	20	30	200	90
Eucain-B	30	70	180	250
Eucain-A	30	60	100	80
Holocainhydrochlorid . .	15	25	50	60
Tropacocainhydrochlorid	25	50	170	270
Alypinhydrochlorid . . .	15	35	100	70
Nirvanin	65	130	480	400
Stovain	40	65	230	180

Zur Erklärung der stärkeren Wirksamkeit bei intravenöser Injektion haben wir an die Möglichkeit gedacht, daß es sich hier um einen Herztod handelt. Wir wissen, namentlich aus den Untersuchungen von

*M. Kochmann*¹⁾, daß Cocain am Froschherzen bei Konzentration von $\frac{1}{2000}$ bis $\frac{1}{20000}$ Mol wirksam ist. Bei einer intravenösen Injektion von 20 mg Cocainhydrochlorid an einem Meerschweinchen von etwa 200 g sind derartige Konzentrationen im Blute denkbar. Handelte es sich um einen Herztod, so müßte selbstverständlich die Giftigkeit noch größer sein bei intrakardialer Injektion.

Die Giftigkeit nimmt ab bei			
intravenöser	intraarterieller	intraperitonealer	subkutaner
Injektion in der Reihenfolge			
Alypin	Holocain	Holocain	Cocain
Holocain	Psicain	Cocain	Holocain
Cocain	Alypin	Alypin	Alypin
Psicain	Cocain	Eucaïn-A	Eucaïn-A
Tropococain	Tropococain	Tropococain	Psicain
Tutocain	Eucaïn-A	Eucaïn-B	Stovain
Eucaïn-B	Stovain	Psicain	Eucaïn-B
Eucaïn-A	Eucaïn-B	Stovain	Tutocain
Stovain	Tutocain	Tutocain	Tropococain
Novocain	Nirvanin	Nirvanin	Nirvanin
Nirvanin	Novocain	Novocain	Novocain

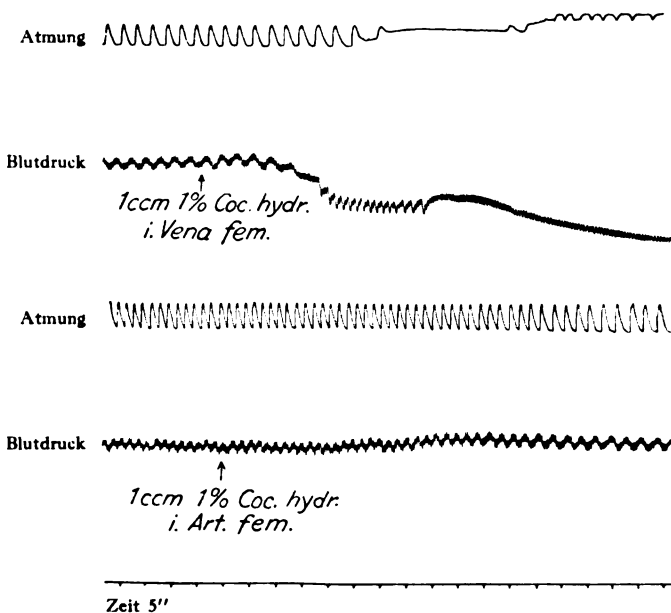


Abb. 1.

¹⁾ Pflügers Arch. 190, 158, 1921.

Experimentell ließ sich eine höhere Giftigkeit nach intrakardialer Injektion nicht nachweisen. Wir müssen annehmen, daß bei der intraarteriellen Injektion das Gift Kapillargebiete passiert und dort entgiftet wird. Eine andere Erklärung ist auf Grund der vorliegenden Untersuchungen nicht möglich. Wir möchten diese Deutung mit aller Reserve aussprechen. Vielleicht spielen noch andere Faktoren eine Rolle.

Zur Demonstration der stärkeren Wirksamkeit des Cocains bei intravenöser Injektion geben wir zwei Kurven wieder. Es handelt sich um einen Katzenversuch. Das Cocain wurde in die V. bzw. Art. femoralis injiziert. Blutdruck und Atmung wurden registriert.

Zusammenfassung.

1. Die Lokalanaesthetica Cocain, Holocain, Alypin, Eucaïn-A, Psicain, Stovain, Eucaïn-B, Tutocain, Tropococain, Nirvanin, Novocain sind bei intravenöser Injektion stärker giftig als bei intraarterieller.
2. Die Reihenfolge ihrer Giftigkeit ist bei den verschiedenen Applikationsarten (intravenös, intraarteriell, intraperitoneal, subkutan) verschieden.
3. Die höhere Giftigkeit bei intravenöser Injektion kann nicht durch eine Wirkung auf das Herz erklärt werden.
4. Bei der intraarteriellen Injektion findet offenbar eine Entgiftung in Kapillargebieten statt.

Über durch den Melkakt hervorgerufene hypoglykämische Zustände.

Von

Olof Carlens und A. Krestownikoff.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut, Lund.)

(Eingegangen am 29. November 1926.)

Die von *Widmark* und *Carlens* (1) (2) über die Pathogenese der Geburtsparese vorgenommenen Untersuchungen haben ergeben, daß die Lactation auf den Glykosegehalt des Blutes einen bedeutenden Einfluß hat. Bei gleichartiger Fütterung ist der Blutzuckergehalt im Durchschnitt bei Färsen und Geltkühen erheblich höher als bei milchgebenden Kühen. Bei diesen letzteren kann man einen um so niedrigeren Glykosegehalt beobachten, je größer die tägliche Milchmenge ist. Werden die Milchdrüsen plötzlich durch Einblasen von Luft in das Euter außer Tätigkeit gesetzt, so wird eine kurzdauernde aber kräftige Hyperglykämie erhalten (3). Besonders auf Grund der letzteren Beobachtung war anzunehmen, daß der entgegengesetzte Effekt, eine Hypoglykämie, auftreten sollte, wenn die Tätigkeit der Drüsen während des Melkakts kräftig gesteigert und damit der Verbrauch von Glykose zur Lactosebildung plötzlich stark erhöht wird.

Um diese festzustellen, haben wir einige Versuche an hochmelkenden Kühen sowie an einer Ziege vorgenommen.

Bei diesen Versuchen muß besonders darauf geachtet werden, daß die Tiere bei der Probenahme nicht beunruhigt werden. Die psychische Reizung hat nämlich nicht nur eine Tendenz zur Erhöhung des Glykosegehalts des Blutes über den normalen (psychische Hyperglykämie) zur Folge, sie bringt auch mit sich, daß die Milchmenge in größerem oder geringerem Grade vermindert wird. In mehreren Fällen mußten die Versuche abgebrochen werden, weil die Tiere sich so unruhig zeigten, daß die Milchentleerung fast gänzlich aufgehört hatte. Bei derartigen Tieren findet man keine Senkung des Blutzuckergehalts, was durch folgendes Beispiel gezeigt wird.

Versuch im Alstadhof am 1. Februar 1926. Kuh Nr. 32, neugekalbt, täglich 28 kg melkend. Blutzuckerwert in Prozenten:

Unmittelbar vor Beginn des Melkens . . .	0,063
3 Minuten nach „ „ „ . . .	0,068
8 „ „ „ „ „ . . .	0,073
5 „ „ „ beendetem Melken. . . .	0,081

Das Melken wurde mit der Maschine ausgeführt, und die Milchmenge betrug nur 5 kg gegenüber 12 kg am vorhergehenden Tage. Die Kuh war während der ganzen Zeit sehr nervös und mußte bei der Probenahme festgehalten werden.

Hier haben wir demnach eher eine Erhöhung als eine Senkung der Blutzuckerwerte, was sicherlich einer durch psychische Beeinflussung hervorgerufenen Einschränkung in der Tätigkeit der Milchdrüsen sowie einer psychischen Hyperglykämie zuzuschreiben ist.

Zu diesen Versuchen müssen also Tiere mit ruhigem Temperament ausgewählt werden, was bei Kühen der von uns benutzten Rasse, der schwarzbunten Niederungsrasse, nicht selten ist. Kühe der nervöseren Ayrshirerasse sind zu diesen Versuchen wahrscheinlich weniger geeignet.

Wir haben daher in unseren Versuchen dem psychischen Zustand der Tiere große Aufmerksamkeit geschenkt. Außer der Feststellung, daß die Tiere bei der Probenahme keine nennenswerte Reaktion gezeigt haben, haben wir stets untersucht, ob die Milchentleerung normal vor sich gegangen ist. Es wurde die abgegebene Milch durch Abwägen mit der Produktion der vorhergehenden Tage verglichen. In einigen Fällen ist die an einem der vorhergehenden Tage abgegebene Milchmenge mit einem oder mehreren Kilogrammen überschritten worden, und zuweilen ist sie etwas geringer gewesen; in der Regel sind die Variationen sehr gering gewesen.

Unsere Versuche sind hauptsächlich an mit der Maschine gemolkenen Kühen vorgenommen worden. Dies ist eine fast unvermeidliche Bedingung, denn Blutproben können an Tieren während des Handmelkens selten entnommen werden. Wir haben allerdings Tiere mit ruhigem Temperament ausgewählt, es kann aber doch meistens nicht vermieden werden, daß die Tiere auf den Einstich durch Platzwechsel reagieren, wobei die Melkerin das Melken unterbrechen muß. Beim Maschinenmelken wird dieses nicht unterbrochen, wenn die Tiere in der einen oder anderen Richtung zur Seite schreiten.

Beim Melken mit der Maschine werden alle vier Zitzen auf einmal entleert, während durch Handmelken nur zwei gleichzeitig entleert werden können. Das Euter wird also beim Maschinenmelken rascher entleert als beim Handmelken, und die Bedingungen zum Eintreten des gesuchten Phänomens sind demnach im ersteren Falle größer als im letzteren.

Die Versuche mit Kühen wurden beim Melken ausgeführt, das am Nachmittag, gewöhnlich um 4 Uhr vorgenommen wird. Die Blutproben wurden in der Regel einer kleinen Ohrvene entnommen und die Bestimmungen wurden nach *Bang* ausgeführt. Die mitgeteilten Zahlen sind Mittelwerte von zwei Bestimmungen. Oft wurden Kontrollbestimmungen mit reinen Glykoselösungen ausgeführt. Die Proben wurden teils vor, teils während und teils nach dem Melken entnommen. In zahlreichen Versuchen sind vor dem Melken zwei Blutproben entnommen worden, um zu zeigen, daß die sinkenden Blutzuckerwerte nicht einer verschwindenden psychischen Hyperglykämie zuzuschreiben sind. Dagegen, daß dies in einem höheren Grade der Fall gewesen ist, spricht der Umstand, daß das Sinken nach dem Aufhören des Melkens regelmäßig in ein Steigen übergeht.

Die Tabellen I bis IV geben die Versuche wieder, die mit Kühen ausgeführt worden sind. In diesen bezeichnen die Zahlen unmittelbar über den Kolonnen, welche die Glykämie angeben, die Zeit für das Entnehmen der Blutprobe in Minuten im Verhältnis zu Beginn und Ende des Melkens. Die niedrigsten Blutzuckerwerte jedes Tieres sind fett gedruckt.

Tabelle I.

Mulsionshypoglykämie bei Kühen, die Kraftfutter erhalten haben. Gut Alnarp. Maschinenmelken zweimal täglich.

Datum	Tier Nr.	Milchmenge in kg		Blutzucker in Proz.						
		pro Tag	während des Versuchs	vor dem Melken		während des Melkens		nach dem Melken		
				10'	5-2'	3'	8'	2-5'	6-10'	15-20'
1. X.	450	12,5	8	0,080	0,072	0,063	0,060	0,073	—	0,072
4. X.	450	12	8	0,092	0,089	0,058	0,085	0,089	—	0,088
23. IX.	457	14,5	7,5	—	0,089	0,084	—	0,113	0,108	—
28. IX.	469	16	7,1	—	0,078	0,058	—	0,065	0,065	0,070
30. IX.	326	12	6,1	—	0,102	0,067	—	0,080	—	0,093
4. X.	491	11,5	6	0,080	0,082	0,062	0,062	0,071	—	0,070
30. IX.	555	14,5	5,2	0,070	0,081	0,066	0,051	0,076	0,076	—
30. IX.	273	12	5	0,080	0,071	0,067	0,063	0,080	—	0,080
1. X.	514	9	4,6	0,085	0,083	0,068	0,060	0,071	—	0,081

In Tabelle I sind jene Kühe zusammengestellt, die eine mäßige Milchmenge gegeben haben (16 bis 9 kg täglich) und die einen reichlichen Futterzuschuß in der Form von Kraftfutter erhalten haben. Die Initialwerte liegen hier, in Übereinstimmung mit früher festgestelltem (1) wegen des Kraftfutterzuschusses und der mäßigen Milchmenge ziemlich hoch (0,102 bis 0,070 Proz., Mittel 0,082 Proz.). Während des Melkens tritt in allen Fällen (bei Nr. 457 jedoch innerhalb der Fehlergrenze der Methodik) eine deutliche Senkung des Blutzucker-

Tabelle II.

Mulsionshypoglykämie bei Kühen, die Kraftfutter erhalten haben.
Gut Alnarp. Dreimal täglich Melken von Hand.

Datum	Tier Nr.	Milchmenge in kg		Blutzucker in Proz.					
		pro Tag	während des Versuchs	vor dem Melken		während des Melkens		nach dem Melken	
				10'	5-2'	3'	3-5'	6-10'	15-20'
23. IX.	449	20	11,2	—	0,068	0,051	0,054	0,060	0,065
4. X.	449	19,5	10,5	0,069	0,067	0,060	0,052	—	0,064
23. X.	530	26	5,8	—	0,077	0,056	0,044	0,051	—
23. IX.	384	21	5,5	—	0,087	0,059	0,068	—	—
30. IX.	502	18	5,1	0,075	0,067	0,067	0,064	—	0,075

gehalts ein. Die Senkung ist aber mäßig, und der niedrigste beobachtete Wert ist 0,051. Nach Beendigung des Melkactes steigen die Blutzuckerwerte, um nach 15 bis 20 Minuten auf die Ursprungswerte zurückzugehen. Die Dauer der Hypoglykämie erstreckt sich also wenig über eine halbe Stunde.

Die in Tabelle II referierten Versuche ergeben im großen ganzen das gleiche Resultat. Die Tiere dieser Gruppe sind hochmelkend (20 bis 18 kg pro Tag) und wurden im Gegensatz zu den vorherigen dreimal täglich von Hand gemolken. Die Initialwerte liegen, wie wegen der großen Milchmenge zu erwarten ist, etwas niedriger (0,067 bis 0,087, Mittel 0,073). Der niedrigste Blutzuckerwert während der Mulsion ist 0,044 Proz.

Die Tabellen III und IV geben Versuche mit Tieren wieder, die weniger konzentrierte Fütterung, Wurzelfrüchte und Rübenblätter, erhielten. Die Tiere von Tabelle III erhielten außerdem unbedeutende Mengen Kraftfutter. Die Initialwerte liegen hier ziemlich niedrig (Tabelle III: Mittel 0,065, Tabelle IV: Mittel 0,073 Proz.), auch dies in Übereinstimmung mit früheren Resultaten. Bei den hochmelkenden

Tabelle III.

Versuch über die Mulsionshypoglykämie an hochmelkenden Kühen. Futter: Wurzelfrüchte ad libitum. Heu, unbedeutendes Kraftfutter. Am 20. Dezember 1925 und 1. Februar 1926. Gut Alstad. Maschinenmelken zweimal täglich.

Tier Nr.	Milchmenge in kg		Blutzucker in Proz.			
	pro Tag	während des Versuchs	vor dem Melken	während des Melkens		nach dem Melken
			5'	3'	6'	10'
28	30	12,5	0,062	0,039	0,036	0,050
137	28	12	0,060	0,038	0,039	0,056
28	28	11	0,073	0,041	0,040	0,064

Tabelle IV.

Mulsionshypoglykämie bei Kühen. Futter: Rübenblätter sowie etwa 3 kg Kraftfutter täglich. Gut Arlov. Maschinenmelken zweimal täglich.

Datum	Tier Nr.	Milchmenge in kg		Blutzucker in Proz.					
		pro Tag	während des Versuchs	vor dem Melken		während des Melkens		nach dem Melken	
				10'	5-2'	3'	8'	10'	20'
19. X.	463	28	15	0,068	0,066	0,041	0,088	0,054	0,065
19. X.	302	23	10	0,071	0,074	0,056	0,046	0,068	0,069
25. X.	468	21	8,9	0,070	0,074	0,060	0,044	0,053	0,062
25. X.	301	16	8,5	0,072	0,076	0,057	0,048	0,057	0,067
19. X.	312	15	8,1	0,070	0,069	0,061	0,058	0,065	0,074
25. X.	318	12	5	0,080	0,081	0,072	0,061	0,076	0,083

Tieren der Tabelle III ist die Senkung des Blutzuckergehalts während des Melkens besonders ausgesprochen und erreicht hier bei jenem Tier, das die größte Milchmenge gibt, Nr. 28, den niedrigsten Wert, 0,036 Proz.

Es ist offenbar, daß man an Hand der wenigen Proben, die man während der wenige Minuten dauernden Melkzeit entnehmen kann, keine zuverlässige Auffassung von den absoluten Werten der Hypoglykämie erhalten kann, da die niedrigsten Werte bei der Probenahme wahrscheinlich nicht getroffen werden. Obgleich wir keinen bindenden Beweis dafür erbringen können, daß ein Verhältnis zwischen der Intensität der Arbeit der Milchdrüsen und dem Grade der Hypoglykämie bei im übrigen gleichartigen Bedingungen hinsichtlich Fütterung und Melktechnik vorliegt, so scheinen doch die Zahlen der drei letzten Tabellen darzutun, daß je größer die ausgemolkene Menge ist, um so ausgesprochener wird die Blutzuckersenkung. Unten folgt ein Vergleich zwischen Milchmenge und den niedrigsten beobachteten Blutzuckerwerten während der Mulsion oder unmittelbar nach derselben.

Tabelle II.		Tabelle III.		Tabelle VI.	
Milchmenge kg	Glykämie	Milchmenge kg	Glykämie	Milchmenge kg	Glykämie
11,2	0,051	12,5	0,036	15	0,038
10,5	0,052	12	0,038	10	0,046
5,8	0,044	11	0,040	8,9	0,044
5,5	0,059			8,5	0,048
5,1	0,064			8,1	0,053
				5	0,061

In drei dieser Fälle ist der Blutzuckergehalt unter 0,04 Proz. gesunken. Da die Probenahme in den meisten Fällen die niedrigsten Blutzuckerwerte wahrscheinlich nicht getroffen hat, ist der Schluß

berechtigt, daß die Hypoglykämie während der Mulsion oft Werte unter den angegebenen Zahlen erreicht. *Widmarks* und *Carlens* (4) frühere Versuche, wie auch die von *Auger* (5) haben indessen gezeigt, daß bei Insulinvergiftung die hypoglykämischen Symptome bei Werten auftreten, die zwischen 0,04 und 0,03 Proz. liegen. *Man kann demnach bei Kühen durch Melken eine Blutzuckersenkung von dem Grade hervorgerufen, daß hierdurch klinische Symptome auftreten können.* Da solche nicht mit Sicherheit beobachtet worden sind, dürfte dies dem Umstande zuzuschreiben sein, daß die Hypoglykämie von so kurzer Dauer ist, daß für das Erscheinen von Komaanzeichen zu wenig Zeit vorhanden ist.

In einer Serie von Versuchen, die mit einer zum Institut gehörigen Ziege der Saanen-Rasse ausgeführt worden sind, konnte dagegen keine Blutzuckersenkung nachgewiesen werden. Die Ziege wurde morgens und abends mit der Hand gemolken und bei beiden Gelegenheiten wurden Blutproben entnommen.

Tabelle V.
Morgenmelken der Ziege. Futter: Kleeheu.

Datum	Milchmenge ccm	Blutzucker in Proz.			
		vor dem Melken	während des Melkens	5-10' nach dem Melken	3-4h nach dem Melken
17. IX.	1500	0.053	0.054	0.065	0.070
18. IX.	1300	0.066	0.070	0.074	0.066
20. IX.	1100	0.053	0.061	0.063	0.068
21. IX.	1320	0.057	0.063	0.063	0.071
27. IX.	1100	0.079	0.072	0.073	0.063
28. IX.	760	0.066	0.067	0.067	
2. IX.	350	0.063	0.063	0.066	

Tabelle VI.
Abendmelken der gleichen Ziege wie in voriger Tabelle.

Datum	Milchmenge ccm	Blutzucker in Proz.		
		vor dem Melken	während des Melkens	5-10' nach dem Melken
17. IX.	1000	0.077	0.077	0.082
18. IX.	1000	0.077	0.077	0.079
20. IX.	920	0.074	0.071	0.072
21. IX.	920	0.068	0.069	0.070
27. IX.	620	0.071	0.076	0.072

Die Ursache, weshalb die Ziege während des Melkakts keine Blutzuckersenkung zeigt, kann nicht mit Sicherheit angegeben werden. Es ist möglich, daß das im Verhältnis zur Größe des Tieres ziemlich

voluminöse Euter die ganze bei der Melkgelegenheit abgegebene Milchmenge enthalten kann und daß eine gesteigerte Tätigkeit der Milchdrüsen während des Melkakts nicht vorhanden gewesen ist. Die Milchbildung sollte demnach bei diesem Tiere während des ganzen Tages erfolgen und während der Mulsion nicht forciert werden, für welchen Umstand auch der permanent niedrige Blutzuckergehalt spricht.

Zusammenfassung.

1. Bei hochmelkenden Kühen sinkt der Blutzuckergehalt während des Melkakts.
2. Diese Hypoglykämie ist in der Regel auch bei starker Fütterung mit Kraftfutter bemerkbar, wird aber bei Fütterung mit Rübenblättern oder Rüben erheblich stärker, wobei der Blutzuckergehalt unter 0,04 Proz. sinken kann.
3. Die Hypoglykämie scheint um so größer zu sein, je mehr das Tier im Zeitpunkt der Probeentnahme melkt.
4. Die Senkung des Blutzuckergehalts ist von sehr kurzer Dauer. Schon eine halbe Stunde nach dem Aufhören des Melkens gehen die Blutzuckerwerte im allgemeinen auf die ursprünglichen Werte vor dem Melkakt zurück.
5. Bei einer Ziege konnte das beschriebene Phänomen nicht nachgewiesen werden.

Literatur.

- 1) Erik M. P. Widmark und Olof Carlens, diese Zeitschr. 156, 454 bis 459, 1925. — 2) E. Widmark, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 42, 537, 1926. — 3) Erik M. P. Widmark und Olof Carlens, diese Zeitschr. 158, 3 bis 10, 1925. — 4) Dieselben, ebendasselbst 158, 81 bis 86, 1925. — 5) L. Auger, Recherches sur la Pathogénie de la fièvre vitulaire et le syndrome hypoglycémique chez la vache laitière, S. 209. Trevoux 1926.

Die Wirkung des Kartoffelknollensaftes auf die biologische Reduktion von o-Dinitrobenzol.

Von
Albert Pietsch.

(Eingegangen am 30. November 1926.)

Gelegentlich von Versuchen an Kartoffelknollen mit dem o-Dinitrobenzolverfahren nach *Lipschitz*¹⁾ machte ich einige Beobachtungen, die zwar aus dem Rahmen der beabsichtigten Untersuchungen herausfielen, die aber dennoch der Veröffentlichung übergeben werden sollen.

Methodisches.

Um die Zelloxydationen nach der o-Dinitrobenzolreduktionsmethode zu verfolgen, fand mit unbedeutenden Modifikationen die Methode von *Lipschitz*²⁾ Anwendung, bei der das o-Dinitrobenzol zu dem intensiv gelb gefärbten Nitrophenylhydroxylamin reduziert wird. Das o-Dinitrobenzol (*Kahlbaum*) wurde aber nicht als Substanz benutzt, sondern es gelangte eine konzentrierte Lösung in 90proz. Alkohol zur Verwendung (gewöhnlich in Mengen von 0,2 ccm bei 10 ccm Untersuchungsflüssigkeit), was meistens eine nicht unwesentliche Versuchserleichterung bedeutete. Versuchsgefäße waren je nach Art des Objekts Reagenzgläser (16 × 1,5) oder 25-ccm-Erlenmeyerkölbchen, die mit Stopfen versehen wurden. Trübe Flüssigkeiten wurden vor dem Ablesen filtriert. Da mir ein *Autenriethsches* Kolorimeter nicht zur Verfügung steht, konnten nur Vergleichsbestimmungen innerhalb einer Versuchsreihe vorgenommen werden. Später gelangte auch die Sodareaktion, bei der das Gelb in Violett umschlägt, zur Anwendung. Alle Versuche fanden bei Zimmertemperatur (17 bis 19° C) statt. Spezielle methodische Ergänzungen sind bei den einzelnen Versuchen angegeben. Um die Arbeit nicht zu umfangreich zu gestalten, stellen viele der Tabellen Zusammenfassungen dar, die sich zum mindesten auf vier Parallelreihen stützen.

¹⁾ *Aberhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. IV, Teil 1, H. 3, S. 439.*

²⁾ *Lipschitz und Osterroth, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 205, 354, 1924.*

I. Reduktionsversuche mit Kartoffelsaft und Kartoffelknollen.

a) Durch gewisse Überlegungen theoretischer Art glaubte ich berechtigt zu sein, annehmen zu dürfen, daß der eigene Saft der Kartoffelknollen die o-Dinitrobenzolreduktion stimuliert. Die experimentelle Nachprüfung führte aber zu einem entgegengesetzten Resultat.

Aus den Kartoffelknollen der Sorten „Frühe Rosen“ und „Wohlthmann“ sticht man mit einem kleinen Reagenzglas Walzen heraus, von denen jede eine Länge von 4 cm und einen Durchmesser von 0,9 cm¹⁾ hat. Der Kartoffelsaft wird hergestellt, indem man auf die Walzen Aqua dest. (pro Walze 10 ccm) gießt, schüttelt und den gewonnenen Saft filtriert (dreifache Lage *Schleicher* und *Schüll* Nr. 597). 0,2 ccm o-Dinitrobenzol.

Tabelle I.

Kartoffel- sorte	Aq. dest. ccm	Kartoffelsaft ccm	Vorbehandlung der Walzen	Ergebnis nach 4 Stunden		
				gelb	+ 15proz. Essigsäure	violett mit Sodalösung
Frühe Rosen	10,0	0	gewaschen	× × ×		× × ×
	10,0	0	unbehandelt	× ×		× ×
	0	10,0 v. Fr. Rosen	gewaschen	×		×
Wohlth- mann	10,0	0	„	gelb	} unver- ändert	violett
	0	10,0 v. Wohlthm.	„	hellgelb*)		gelbviolett

*) Mit rötlichem Stich.

Gleiche und ähnliche Versuchsanordnungen werden mit folgenden Kartoffelsorten vorgenommen, die zu demselben Resultat führen: Kaiserkrone, Blaue Odenwälder, Vesta, Industrie, Phönix. Auch Walzen einer bestimmten Kartoffelsorte in dem Saft einer anderen Sorte (z. B. Walzen von „Frühen Rosen“ im Saft von „Wohlthmann“) ergeben dieselbe Erscheinung.

Ergebnis: *Der eigene Saft der Kartoffelknollen hemmt ihr Vermögen, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

b) Vergleichende Untersuchungen über die Intensität der Hemmung bei frühen und späten Kartoffelsorten, bei überwinternten und frisch geernteten Kartoffelknollen derselben Sorte.

Bei den bisherigen Versuchen zeigte es sich, daß in den Gläsern mancher Kartoffelsorten die Gelbfärbung schneller erreicht wurde, so daß die Aufgabe nahelag, vergleichende Untersuchungen verschiedener Sorten anzustellen. Nicht uninteressant erschien auch die Frage, ob der Hemmungsfaktor durch Lagern und Überwintern eine Veränderung erfährt.

In jedes Reagenzglas gelangen 10 ccm Aqua dest. + 0,2 ccm o-Dinitrobenzol. Ungewaschene Walzen. Bei dem Überwinterversuch kommen

¹⁾ Wenn nicht anders angegeben, galten diese Maße für alle ähnlichen Versuche.

„Frühe Rosen“ zur Anwendung. Die Überwinterung geschah im Keller, die frisch geernteten wurden direkt aus dem Garten geholt (Jahrgang 1925/26).

Tabelle II.

Nr.	Frühe Kartoffelsorten *)	Ergebnis nach 3 1/2 Stdn. Gelb	Nr.	Späte Kartoffelsorten	Ergebnis nach 3 1/2 Stdn. Gelb
1	Joh. Müllers „Frühe Hörnchen“	× × × ×	6	Crimbals „Fürst Bis-marck“	× × ×
2	Görsdorfer Nieren	× × × ×	7	Paulsens „Fulda“	× ×
3	Trogs „Marli“	× × × ×	8	Thieles „Graf Dohna“ (Phönix)	× × ×
4	Paulsens „Goldperle“	× × ×	9	Crimbals „Silesia“	× × ×
5	Frühe Rosen	× × × ×	10	Wohltmann	×
			11	Phönix	×

*) Für die Überlassung der Sorten 1 bis 4 und 7 bis 10 bin ich Herrn Dr. Snell von der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft zu großem Dank verbunden, Die übrigen erhielt ich von hiesigen Landwirten.

Bei der Versuchsreihe mit überwinternten und frischen Kartoffelknollen stimmen die Reaktionsgeschwindigkeiten, sowohl an der Gelbfärbung als auch an der Violettfärbung mit Sodalösung gemessen, überein.

Ergebnis: Die Reduktion des *o*-Dinitrobenzols verläuft bei den frühen Sorten schneller als bei den späten.

Zwischen überwinternten und frisch geernteten Kartoffeln läßt sich kein Unterschied feststellen.

II. Wirkung des Kartoffelsaftes auf die *o*-Dinitrobenzolreduktion durch höhere Pflanzen.

Untersucht wird die Wirkung auf die Wurzel der Runkelrübe (Sorte: Gelbe Eckendorfer), auf die Grundachse der Osterluzei (*Aristolochia clematitis* L.), auf die Blütenblätter einer weißblühenden Dahlie (Sorte: Pius X), auf die Samen von Radieschen (Sorte: Rubin).

Der Kartoffelsaft wird aus „Frühen Rosen“ (eigene Ernte 1926) gewonnen, indem Kartoffelwalzen üblicher Größe in Scheiben von 0,5 cm Dicke geschnitten und mit 60 ccm Aqua dest. übergossen werden. Nach mehrmaligem Schütteln filtriert man mit *Schleicher* und *Schüll* Nr. 597 in vierfacher Lage. 0,2 ccm *o*-Dinitrobenzol bei 10 ccm Flüssigkeit. Neben der Gelbfärbung und Violettfärbung mit Soda gelangen nötigenfalls Ätherauszüge beim Ablesen zur Anwendung. Um eine Violettfärbung der Ätherauszüge zu bekommen, fügt man Alkohol-Sodalösung in ungefähr gleicher

Menge hinzu, die aus einer Mischung von 1 Teil konzentrierter Sodalösung, 2 Teilen Aqua dest. + 9 Teilen 90proz. Alkohols besteht, die kräftig geschüttelt und danach filtriert wird. Die Objekte beim *Runkelrüben*versuch gewinnt man, indem man aus einer dicken Rübe mit einer Glasröhre Walzen sticht, die in Größe den der Kartoffeln entsprechen. Sie werden dreimal mit Wasser gewaschen und mit Filtrierpapier abgetupft. Von der *Osterluzei* reinigt man möglichst gleichmäßig starke Grundachsen, schneidet sie in Stücke von 0,5 cm Länge, schüttelt sie tüchtig durcheinander und verteilt sie gleichmäßig nach Zahl und Gewicht auf die Erlenmeyerkolben (pro Kolben 1 bis 2 g). Aus den Rhizomstücken diffundiert ein gelbfärbender Stoff, der besonders störend in den Saftgläsern wirkt, da hier ein rötlicher Stich sich bemerkbar macht, der die vergleichende Ablesung erschwert. Hier eignen sich Ätherauszüge. Die Blütenblätter der *Dahlie* gelangen in Stücken von etwa 0,5 cm Länge als 1-g-Portionen in die Reagenzgläser. Die *Radieschensamen* läßt man 15 Stunden in Brunnenwasser einquellen, trocknet sie auf Filtrierpapier ab und bringt sie zu je 2 g in die Kolben.

Tabelle III.

Objekt	Untersuchungs- flüssigkeit	Ergebnis			
		gelb	violett mit Soda	Äther- auszug	Ätherauszug + Alkohol-Soda
Wurzeln von Beta	Aq. dest.	× ×	kräftig violett		
	Kartoffelsaft	×	violetter Schein		
Rhizom von Aristolochia	Aq. dest.	gelb	rötlich violett †)	gelb	violettgrau
	Kartoffelsaft	gelb *)	rötlich	hellgelb	gelbgrau
Blütenblätt. der Dahlie	Aq. dest.	gelb	violett		
	Kartoffelsaft	hellgelb	dunkelgelb		
Samen von Radieschen	Aq. dest.	× ×	× × ×		
	Kartoffelsaft	× ×	× ×		

*) Mit rötlichem Stich. — †) Ein ganz reines Violett wurde durch den der Grundachse eigentümlichen Farbstoff nie erreicht.

Ergebnis: *Kartoffelsaft hemmt das Vermögen der höheren Pflanzen. o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

III. Wirkung des Kartoffelsaftes auf die o-Dinitrobenzolreduktion durch Pilzsporen. *Tilletia Tritici* (Bjerk.) Winter¹⁾.

Kartoffelsaft von „Frühen Rosen“ wie unter II. 2 g der braunschwarzen Sporen werden in 13 ccm Aqua dest. aufgeschwemmt. In jeden Kolben kommt 1 ccm der Aufschwemmung. Nach Beendigung der Reduktionszeit filtriert man in Reagenzgläser. 8 ccm Filtrat gelangen zum Ablesen.

¹⁾ Für die Überlassung des Materials bin ich Herrn Regierungsrat Dr. Riehm von der Biologischen Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtschaft zu Dank verpflichtet.

Tabelle IV.

Nr.	Aq. dest. ccm	Kartoffel- saft ccm	Ergebnis nach 9 Stunden			
			gelb	violett mit Soda	Atherauszug gelb	violett Atherauszug + Alkohol-Soda
1	10,0	0	× ×	violett	gelb	violett
2	0	10,0	×	gelb (rötlich)	hellgelb	hellviolett

Ergebnis: *Kartoffelsaft hemmt das Vermögen der Steinbrandsporen, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

IV. *Wirkung des Kartoffelsaftes auf die o-Dinitrobenzolreduktion durch tierische Objekte.*

Als Untersuchungsobjekte dienten die Oberschenkelmuskulatur von *Rana esculenta* und die Fußmuskulatur der Flußmuschel (*Unio tumidus* Retz).

Kartoffelsaft wie unter II. Die Muskulatur wird mit dem Skalpell zerschnitten und klein zerhackt. Je Glas 1 g Froschmuskel bzw. 0,5 g Uniomuskel bei 10 ccm Flüssigkeit.

Tabelle V.

Objekt	Untersuchungs- flüssigkeit	Ergebnis			
		gelb	violett mit Soda	Atherauszug	Atherauszug + Alkohol-Soda
Frosch- muskel	Aq. dest.	× × ×	violett	gelb	mittelviolett
	Kartoffelsaft	× ×	gelbviolett	wenig heller	hellviolett
Unio- muskel	Aq. dest.	× ×	violett		
	Kartoffelsaft	×	rötlichgelb		

Ergebnis: *Kartoffelsaft hemmt das Vermögen von Frosch- und Uniomuskel, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

V. *Wirkung des Kartoffelsaftes auf die o-Dinitrobenzolreduktion durch Bäckerhefe.*

Zur Verwendung gelangt in allen Fällen frische Bäckerhefe.

Nach mehreren Vorversuchen ergibt sich, daß eine 0,3proz. Hefeaufschwemmung die geeignetste ist. 0,5 g Hefe werden in 5 ccm Aqua dest. aufgeschwemmt. Von dieser Emulsion kommen in jedes Reagenzglas 0,3 ccm Kartoffelsaft von „Frühen Rosen“ und „Phönix“.

Nach der Gelbfärbung zu urteilen, beschleunigt Kartoffelsaft die Reduktion durch Hefe. Auf Grund der Sodaviolett-färbung kommt man zu dem entgegengesetzten Resultat. Die Violettfärbung entspricht nicht der Gelbfärbung. Es muß ein Faktor vorliegen, der die Sodaviolettreaktion in angedeutetem Sinne modifiziert. Das Ergebnis

Tabelle VI.

Nr.	Sorte	Aq. dest. ccm	Kartoffel- saft ccm	Ergebnis			
				gelb	violett mit Soda	Ätherauszug gelb	violett Ätherauszug + Alkohol-Soda
1	Phönix	9,7	0	×	violett		
2		0	9,7	×	dunkelgelb		
3	Frühe	9,7	0	×	violett	hellgelb	hellviolett
4		0	9,7	×	dunkelgelb	gelb	violett

läßt vermuten, daß durch den Kartoffelsaft eine beschleunigte Reduktion stattfindet, die mit einer größeren Produktion von Säure verbunden ist, so daß in den Gläsern mit größerer Säuremenge (Nr. 2 und 4) ein größerer Teil des Alkalis durch Abbindung für die Färbungsreaktion verloren geht. Daß dem wirklich so zu sein scheint, ergibt sich aus der Prüfung des Ätherauszuges mit Alkohol-Soda, wo die Violettfärbung mit der Gelbfärbung übereinstimmt. Auch die Reaktionsuntersuchung mit Phenolsulfophtaleinlösung spricht dafür, indem sie zeigt, daß die Gläser Nr. 2 und 4 mehr Säure enthalten als Nr. 1 und 3. Endlich gibt die Anwendung von Soda im Überschuß der Vermutung recht, indem dabei der „normale“ Sodafarbumschlag in Erscheinung tritt, wie das Tabelle VII beweist.

Tabelle VII.

Nr.	Aq. dest. ccm	Kartoffel- saft ccm	gelb	Ergebnis nach 3 Stunden	
				1 ccm Hefeaufschwemmung + 9 ccm Wasser + 1 ccm konz. Sodalösung	9 ccm Hefeaufschwemmung + 1 ccm Wasser + 10proz. Sodalösung
1	9,7	0	×	ganz wenig violett	violett
2	0	9,7	×	hellviolett	gelb

Die Anwendung von Soda bei der o-Dinitrobenzolreduktion durch Hefe darf also nur unter den angegebenen Kautelen (Anwendung von Alkohol-Soda bei Ätherauszügen oder Soda im Überschuß) vorgenommen werden, wenn man eine Parallele zwischen der Intensität der Gelb- und der Violettfärbung erreichen will. Anderenfalls läßt bei vergleichenden Heferversuchen die größere Tiefe der Violettfärbung den Schluß auf geringere Reduktion zu.

Ergebnis: *Kartoffelsaft fördert das Vermögen der Bäckerhefe, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

VI. *Wirkung des Kartoffelsaftes auf die o-Dinitrobenzolreduktion durch Bakterien.*

Versuchsobjekte waren die Bakterienflora saurer Milch und *Sarcina lutea* Flügge.

Ungefähr 10 ccm 2 Tage alte „dicke“ Vollmilch wird im Mörser glatt gerührt. In jedes Reagenzglas kommt 1 ccm der Milch und wird mit der übrigen Flüssigkeit tüchtig geschüttelt. Da das Milchgerinnsel sich im Laufe des Versuchs zu Boden setzt, filtriert man vor dem Ablesen. *Sarcina* war aus Zimmerluft gewonnen. Drei Agarschräggkulturen, die ein Alter von 3½ Tagen bei Zimmertemperatur haben, werden mit je 3 ccm Aqua dest. abgespült und zusammengeschüttelt. In jedes Reagenzglas gelangt 1 ccm der Aufschwemmung.

Tabelle VIII.

Nr. Objekt	Aq. dest. ccm	Kartoffel- saft ccm	Ergebnis				
			gelb	violett mit Soda	Soda im Überschuß	Äther- auszug gelb	violett 5 ccm Ätherauszug + 5 ccm Alkohol- Soda
1 Saure	9,0	0	×	violett		×	hellviolett
2 Milch	0	9,0	×	hellviolett		×	violett
3 <i>Sarcina</i>	9,0	0	×	violett	hellviolett		
4 <i>lutea</i>	0	9,0	×	hellviolett	violett		

Prüfung der Gläser 3 und 4 auf Reaktion mit Phenolsulphophthalein ergibt für 4 die Anwesenheit einer größeren Säuremenge.

Ergebnis: Es entspricht dem der Hefe. *Kartoffelsaft fördert das Vermögen der Milchsäurebakterien und Sarcina lutea, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.*

VII. Einige allgemeine Bemerkungen.

Blickt man zusammenfassend zurück, so möchte man versuchen, gewisse Regelmäßigkeiten aufzufinden. Bei allen höheren Pflanzen und den tierischen Objekten wirkt der Kartoffelsaft hemmend, bei den Gärungsorganismen dagegen fördernd. Um zu einer festeren Grundlage zu kommen, wäre es nötig, das Reduktionsvermögen vieler Bakterienarten zu studieren.

Weiter ergibt sich die interessante Frage, nach welcher Richtung hin haben wir den hemmenden bzw. den fördernden Faktor zu suchen. Handelt es sich um Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration, um Viskositätsverhältnisse oder dergleichen? Kommt ein chemisch definierbarer oder ein chemisch noch nicht faßbarer (enzymatischer?) Stoff in Frage? Nach der letzten Richtung hin wurde ein tastender Versuch gemacht, indem die Einwirkung von Hitze durch 5 Minuten langes Kochen auf den auf Hitzelabilität zu untersuchenden Kartoffelsaft festgestellt wurde. Nach diesem einen Versuch zu urteilen, läßt das Kochen fast keinen Einfluß erkennen. Es schien, als ob eine geringere Abänderung im Sinne der Abschwächung des Hemmungsfaktors stattfindet.

Da der Kartoffelsaft in vielen Fällen Traubenzucker enthält, so lag die Aufgabe nahe, den Einfluß der Glucose auf die Reduktion durch Hefe festzustellen. Um der Frage näher zu kommen, ob der hemmende und der fördernde Faktor identischer Art sind, wurde ein Versuch angestellt, der den Einfluß des Traubenzuckers auf die Reduktion durch Kartoffel zum Ausdruck bringt.

Tabelle IX.

Nr.	Objekt	Aq. dest. ccm	Kartoffelsaft ccm	Glucose g	Ergebnis	
					gelb	violett mit Soda
1	Hefe	9,7	0	0	×	violett
2	"	9,7	0	0,5	×××	gelb
3	"	0	9,7	0	×××	violett-gelb
4	"	0	9,7	0,5	×××	gelb
5	Kartoffelwalze	10,0	0	0	×××	×××
6	"	10,0	0	0,05	×××	××××
7	"	10,0	0	0,1	×××	×××
8	"	10,0	0	0,5	××	××
9	"	10,0	0	1,0	×	×

Ergebnis: 5proz. Glucoselösung beschleunigt das Vermögen der Bäckerhefe, 5- und 10proz. Glucoselösung hemmt das Vermögen der Kartoffel, o-Dinitrobenzol zu reduzieren.

VIII. Wirkung von Quecksilberchlorid und Campher.

Zum Schluß seien noch tabellarisch einige Beobachtungen mitgeteilt, die die Wirkung von Sublimat auf die o-Dinitrobenzolreduktion durch Kartoffelknolle und Bäckerhefe und die Wirkung von Campher auf Bäckerhefe zeigen.

Tabelle X.

Gift	Objekt	Gift- konzentration Proz.	Nach wieviel Stdn. der Giftwirkung wird o-Dinitro- benzol hinzugesetzt	Ergebnis	
				gelb	violett mit Soda
Hg Cl ₂	Kartoffel	0	14 Stunden	×	×
		0,001	14 "	×	×
		0,1	14 "	0	0
"	Bäckerhefe	0	gleich	×	×
		0,0001	"	×	×
		0,1	"	0	0
C ₁₀ H ₁₆ O	Kartoffel	0	"	××	×××
		0,01	"	××	×××
		0,025	"	××	××
		0,05	"	××	××
		0,1	"	×	×

Ergebnis: [0,1 Proz. Quecksilberchlorid hemmt komplett die o-Dinitrobenzolreduktion durch Kartoffel und Hefe. 0,1proz. Campherlösung hemmt deutlich die Reduktion durch Kartoffel; 0,05 und 0,025 Proz. scheinen ebenfalls von retardierender Wirkung zu sein¹⁾.]

Zusammenfassung.

1. Die o-Dinitrobenzolreduktion wird durch Kartoffelknolle im eigenen Saft gehemmt.

2. Die Hemmung der Reduktion ist bei verschiedenen Kartoffelsorten quantitativ verschieden. Im allgemeinen besitzen die späten Sorten eine größere Menge Hemmungsfaktor.

3. Die Wirkung des Kartoffelsaftes auf die Reduktion durch andere Organismen ist

hemmend bei Teilen höherer Pflanzen, bei den Sporen von *Tilletia Tritici*, bei Muskulatur von Frosch und Unio;

fördernd bei Bäckerhefe, Milchsäurebakterien und *Sarcina lutea*.

4. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß der Glucosegehalt des Kartoffelsaftes bei der Hemmung bzw. der Stimulation eine Rolle spielt.

5. Einige Versuche zeigen die Wirkung von Quecksilberchlorid und Campher auf die Reduktion durch Kartoffelknolle und Bäckerhefe.

¹⁾ *Lipschitz* und *Osterroth* (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 106, 36) fanden für Froschmuskulatur Hemmung bei 0,15 bis 0,075 Proz., keine Hemmung bei 0,05 Proz.

Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen.

Bemerkungen zu dem gleichlautenden Aufsatz von *Rolf Meier*.

Von

Hugo Schulz.

(Eingegangen am 1. Dezember 1926.)

Unter dem oben angegebenen Titel bringt *Rolf Meier* im 174. Bande dieser Zeitschrift, Heft 4/6, S. 384ff. eine Reihe von Kurventafeln, das Ergebnis seiner Versuche über Hefegärung unter dem Einfluß gewisser Hefegifte samt zugehörigen Kontrollversuchen ohne Giftzusatz. Von einer genaueren Angabe von Einzelheiten hat *Rolf Meier* abgesehen. Er bemerkt darüber auf S. 385:

„Ich glaube, daß man diesen Kurven nichts hinzuzufügen braucht, um zu erklären, daß sie als Stütze zu so weittragenden Folgerungen keineswegs ausreichen.“

Mit den „weittragenden Folgerungen“ sind die Anschauungen gemeint, die ich seinerzeit auf Grund meiner Versuche mit Hefe unter dem Einfluß von Hefegiften veröffentlicht habe, als ich das *Arndtsche* biologische Grundgesetz experimentell auf seine Existenzberechtigung hin prüfen wollte.

Zur graphischen Darstellung seiner Versuchsergebnisse bemerkt *Rolf Meier* auf S. 384:

„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.“

Hierzu habe ich folgendes zu bemerken:

Als ich im Jahre 1888 im 42. Bande von *Pflügers* Archiv meine erste experimentelle Arbeit über Hefegifte veröffentlichte, habe ich sowohl die Methodik meiner Versuche, die erhaltenen zahlenmäßigen Ergebnisse wie auch die Art und Weise ausführlich angegeben, von welchem Gesichtspunkte aus ich die Resultate aus den einzelnen Versuchen graphisch dargestellt habe. Ich habe damals bei allen Versuchen für jeden einzelnen Apparat jede Viertelstunde den Stand der unter dem Druck der von der Hefe gelieferten Kohlensäure stehenden Quecksilbersäulen notiert. Daraus ergab sich folgerecht für jeden einzelnen Ansatz eine längere Reihe von Zahlenwerten. Wörtlich ist in meiner Arbeit auf S. 522 zu lesen:

„Zur Erläuterung der folgenden Tabellen sei bemerkt, daß die erste Zahlenreihe“ (das ist also die eben erwähnte) „bei jedem Apparat dem beobachteten Stande des Quecksilbers im Steigrohr entspricht. Die zweite, unter *D* (Differenz) befindliche Reihe gibt die Wege an, die von den Quecksilbersäulen innerhalb je einer Viertelstunde zurückgelegt waren. Diese Werte lieferten weiterhin das Material zu den Kurventafeln.“

Offenbar besteht zwischen der in der Arbeit von *Rolf Meier* mitgeteilten und der von mir benutzten graphischen Darstellung ein wesentlicher Unterschied. Wenn ich meine Zahlen, soweit sie die Steighöhe der Quecksilbersäulen direkt betreffen, in derselben Weise graphisch niederlege, wie *Rolf Meier*, kommen ganz ähnliche, um nicht zu sagen: dieselben Kurven heraus. Das ist selbstverständlich. Es wird ja weiter nichts zu Papier gebracht, als das allmähliche Ansteigen der Quecksilbersäulen im Laufe der einzelnen Versuche und während einer bestimmten Zeit. Handelt es sich dagegen um die Lösung der Frage: Wie ist es zu einem bestimmten Höhestand der Quecksilbersäule im einzelnen Falle gekommen im Vergleiche zu einem parallel gehenden Versuche und in derselben Zeit? so kommt man mit der von *Rolf Meier* benutzten Methode nicht weiter. Trägt man aber, wie ich es angegeben habe, die Werte der Differenzen zwischen je zwei Ablesungen auf, so ergibt sich ein ganz anderes Bild. Erstens läßt sich feststellen, daß die mit irgendetwelchem Hefegift behandelten Ansätze nie die Neigung verlieren, der nicht behandelten Hefe im Kontrollansatz möglichst parallel zu arbeiten. Ferner sieht man den Eintritt und den fernerer Verlauf der Reizwirkung sehr deutlich, und endlich kann man konstatieren, daß dieser Reizwirkung, sobald sie eine gewisse Höhe erreicht hat, ein Sinken in der Arbeit der Hefezellen nachfolgt. Ich will hier nicht weiter auf Einzelheiten eingehen. Wer sich für die vorliegende Frage interessiert, braucht nur einen Blick auf die von mir im Jahre 1888 im Anhang zu meiner Hefearbeit gebrachten Kurventafeln zu werfen.

In der Regel pflegt man, wenn man irgendwelche Befunde irgend eines Autors nachzuprüfen gewillt ist, zunächst einmal dessen eigene Methode möglichst genau zu befolgen. Aber diese Regel findet offenbar nicht überall gleichen Anklang. Es ist das natürlich Sache jedes Einzelnen. Direkt als ein Fehler aber ist es anzusehen, wenn auf Grund einer irrig angewandten Methode Resultate gezüchtet werden, die zur Beurteilung des Wertes oder Unwertes einer fremden Arbeit ausgenutzt werden sollen.

Rolf Meier hat ganz recht, wenn er sagt, daß den von ihm gebrachten Kurven nichts weiter hinzuzufügen nötig sei, um zu erklären, daß sie als Stütze zu so „weittragenden Folgerungen“ keineswegs ausreichen. In der Tat ist die von ihm gewählte graphische Darstellung alles andere als beweiskräftig, weder für noch gegen das biologische Grundgesetz. Womit sich denn auch die Folgerungen erledigen, die man aus einer derartigen unbrauchbaren Methode zu konstruieren irgendwie geneigt sein könnte.

Über die Verstärkung der Enzymwirkung durch kleinste Mengen in ihrer Zusammensetzung bekannter Substanzen.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 2. Dezember 1926.)

Die Erfahrungen der letzten Jahre lehren ohne Zweifel, daß sich aus den experimentellen Befunden nur mit größter Vorsicht Schlüsse über die Konstitution der enzymatisch wirksamen Gruppen und die Bedeutung der beeinflussenden Faktoren ziehen lassen. Sollte sich herausstellen, daß wirklich ein Enzym mit einem Eiweißkörper oder einem anderen komplizierten Körper identisch ist, so wäre das natürlich ein großer Fortschritt und eine Grundlage für weitere Versuche. Aber eine direkte Klärung der dringenden Frage der chemischen Natur der aktiven Gruppen wäre auch damit noch nicht gegeben¹⁾.

Sicherlich kann die Auffindung von Reaktionen, welche die Enzymwirkung fördernd oder hemmend beeinflussen, uns dem Ziele nähern,

¹⁾ Das sei bemerkt im Hinblick auf die wichtige Mitteilung von *Sumner* (Journ. of biol. Chem. **69**, 435, 1926), dem es gelungen ist, aus der Jackbohne die Urease als kristallisiertes Globulin zu isolieren. Der mir bisher nur zugängliche Schlußsatz seiner Mitteilung lautet: „A new crystallizable globulin has been isolated from the jack bean, *Canavalia ensiformis*. From the reasons given elsewhere in this paper I am compelled to believe that this globulin is identical with the enzyme urease.“ In einer zweiten Mitteilung berichtet *Sumner* (Journ. of biol. Chem. **70**, 97, 1926), daß es ihm weiterhin auch gelungen ist, das Globulin unter Erhaltung der Enzymwirksamkeit umzukristallisieren.

Anmerkung bei der Korrektur. Daß man bei so hochwirksamen Substanzen, wie es die Enzyme sind, mit der Identifizierung selbst dann sehr vorsichtig sein muß, wenn die Wirksamkeit bei mehrfacher Umkristallisierung erhalten bleibt, das lehren die neuesten Mitteilungen von *Windaus* (Vortrag in der deutschen chemischen Gesellschaft, Sitzung vom 13. Dezember 1926), wonach das Provitamin bei beliebigem Umkristallisieren sich zwar nicht vom Cholesterin trennt, trotzdem aber mit dem Cholesterin nicht identisch ist.

wenn auch zunächst der Kreis der Möglichkeiten nur eingeengt wird. Fest steht wohl jedenfalls, daß man ohne die Annahme spezifisch-chemischer Gruppen nicht auskommt. Das haben gegenüber anderen Vorstellungen neuerdings wieder *Willstätter*, *Neuberg*, *Euler* und seine Schüler mit Recht betont. Als ebenso sicher kann man wohl behaupten, daß vielfach die Enzymwirkungen in starker Abhängigkeit von Nebenfaktoren stehen. In diesem Sinne haben vor Jahrzehnten *Bertrand* und ich vom Einfluß des Milieus gesprochen. Heute ist es üblich, mit *Willstätter* vom Einfluß des Enzymkomplexes zu sprechen, womit man die im positiven und negativen Sinne engere Verbundenheit der beeinflussenden Gruppen mit der spezifischen Enzymgruppe betonen will.

Der Zusammenhang der spezifischen Gruppe mit dem Gesamtkomplex ist — ganz abgesehen von den sonst dort zur Diskussion stehenden Punkten — ja auch zu klären für das von *Warburg* entdeckte Zusammenwirken des Eisens mit anderen Faktoren bei enzymatischen Oxydationswirkungen. In zahlreichen Fällen, in denen die Blausäure auf Enzymreaktionen hemmend eingewirkt hat, hat sich entsprechend den Anschauungen *Warburgs* gezeigt, daß eine Metallkatalyse vorliegt oder mindestens bei der betreffenden Enzymwirkung beteiligt ist, so daß häufig der Schluß gezogen wird, daß die Hemmung durch Blausäure direkt ein Beweis für das Vorliegen einer Metallkatalyse wäre. Wir brauchen hier nicht darauf einzugehen, daß von verschiedenen Autoren auch Blausäurehemmung beobachtet worden ist, ohne daß eine Metallkatalyse vorliegt, zumal *Warburg* selbst solche Fälle erkannt und geklärt hat. Auch die Hemmung der Katalase und der Zymase durch Blausäure braucht hier nur erwähnt zu werden.

Ganz unabhängig davon, in welchem Umfang man die Beziehung der Blausäurehemmung zu dem Bestehen einer Metallkatalyse annimmt, muß man jedenfalls damit rechnen, daß auch in Fällen von Förderung von Enzymvorgängen durch Blausäure eigentlich eine Hemmung einer Metallkatalyse durch Blausäure vorliegen kann. Denn es ist ja immer möglich, daß ein Enzymprozeß durch eine Metallkatalyse gehemmt wird, welche dann ihrerseits durch die Blausäure ausgeschaltet wird. In zahlreichen Versuchen, zum Teil zusammen mit *Hata*, *Shimizu*, *Tsuchihashi*, *Takahata*, *Mikawa* und anderen habe ich die große Metallempfindlichkeit von Enzymen, insbesondere die der Urease gezeigt und gleichzeitig die Reaktivierbarkeit der inaktivierten Enzyme durch Blausäure beschrieben. Jedoch habe ich immer betont, daß die von mir aufgefundenen, unter Umständen enorme Förderung von Ureasewirkungen durch Blausäure in ihrem Mechanismus vorläufig noch ungeklärt ist.

Jedenfalls kann man sich auch andere Wirkungen der Blausäure als die Hemmung von Metallwirkungen vorstellen. So nahmen *Will-*

stätter und *Grassmann*¹⁾ für die Beeinflussung der Papainwirkung durch die Blausäure an, daß hier die Beziehung zwischen Enzym und Blausäure dieselbe ist, wie die zwischen Enzym und Kinase. Auch für Enzym und Kinase wird ja heute angenommen, daß das Enzym sowohl allein wie auch zusammen mit der Kinase wirken kann und in beiden Fällen nur quantitative und qualitative Unterschiede der Wirksamkeit bestehen. Aber auch beim Papain muß man, unbeschadet der Annahme der „Kinasewirkung“ der Blausäure, die Phänomene der Metallinaktivierung berücksichtigen. Denn das Papain wird, wie ich vor kurzem beschrieben habe²⁾, in seiner gelatinolytischen Enzymwirkung durch Zink nur inaktiviert, wenn das Metall in Gegenwart von Cyankalium mit dem Enzym zusammengebracht wird, und zwar kommt die Inaktivierung nur zustande, wenn ein Überschuß von Cyankalium über die Quantität zugegen ist, welche zur Aktivierung des Enzyms notwendig ist. Zunächst scheint es so, als ob dieser Sachverhalt allem widerspricht, was man a priori erwarten könnte. Aber ich glaube doch, wie ich es auch in der betreffenden Mitteilung ausgeführt habe, daß sich die Befunde auch mit der *Willstätterschen* Annahme der Kinasewirkung der Blausäure vereinigen lassen. Denn wenn eben nur gerade die Cyankaliummenge vorhanden ist, die als Kinase notwendig ist, so wird anscheinend kein Metall vom Enzymkomplex aufgenommen, weil das cyanfreie Papain nicht mit Zink reagiert und die Blausäure das Substrat bevorzugt. Ist aber Cyankalium im Überschuß vorhanden, so wird es auch vom Enzymkomplex herangezogen, und dieses im Überschuß vorhandene Cyankalium fesselt das Metall an sich und damit an den Enzymkomplex und macht das Enzym dadurch unwirksam.

Aus mehreren Gründen ist es von besonderem Interesse, die verstärkende Wirkung des Cyankaliums auf die Urease genau zu untersuchen. Einmal handelt es sich hier bei geeigneten Versuchsbedingungen um eine besonders intensive Wirkung, sodann spricht der Umstand, daß ich bei weitgehend gereinigten Ureasen vollkommen verschiedener Herkunft die Wirkung des Cyankaliums festgestellt habe, mit großer Wahrscheinlichkeit in dem Sinne, daß hier eine Eigenschaft des engeren Bereichs des Enzymkomplexes in Frage kommt.

So weit war ich in früheren Versuchsreihen gekommen. Die neuen Beobachtungen, die in dieser Mitteilung geschildert werden sollen, zeigen nun eine fast verblüffende Wirkung des Cyankaliums, die in Parallele mit der Größenordnung bei den *Warburgschen* Versuchen zu stellen ist.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 188, 124, 1924; man vgl. auch *W. E. Ringer* und *B. E. Grutterink*, ebendasselbst 156, 275, 1926.

²⁾ Diese Zeitschr. 175, 79, 1926.

Zur Methodik.

Alle Versuche wurden mit Jackbohnenurease angestellt. Um die Wirkungen möglichst optimal zu gestalten, wurde stets, wenn nicht anders vermerkt, durch Phosphatgemische p_H 7,1 hergestellt und die Pufferkonzentration auf $m/3$ gebracht. Versuchszeit 20 Stunden Brutschrank, immer 0,4 g Harnstoff, Toluol 0,3 ccm. Das gebildete Ammoniak wurde durch 25 Minuten Dampfdestillation ausgetrieben. Unter diesen Bedingungen wird durch das Phosphatgemisch auch ohne Enzymwirkung in dem Umfange Harnstoff gespalten, daß 5 ccm $n/10$ Säure auf die nicht enzymatische Harnstoffspaltung kommen. Dieser Betrag ist in allen Versuchen bei $m/3$ Pufferung der gleiche. Man braucht ihn also zur Würdigung der Steigerungen nicht abzuziehen, da die erhaltenen Ausschläge überall die gleichen bleiben. Alle Enzymlösungen wurden für jeden Versuch frisch hergestellt, ebenso stets die anderen Lösungen.

Enzym 5 mg.

Cyankalium mg		Cyankalium mg	
—	97,0	0,1	131,8
0,005	104,4	0,5	132,8
0,01	113,3	1,0	136,8
0,05	125,5		

Enzym 2,5 mg.

Cyankalium mg		Cyankalium mg	
—	55,3	—	58,2
0,005	61,3	—	—
0,01	63,3	2	95,8
0,05	81,9	4	97,3
0,1	86,6	8	97,3
0,5	88,4	16	97,9
1,0	93,3	32	95,8

Enzym 1 mg.

Cyankalium mg		Cyankalium mg	
—	19,5	—	—
0,000 01	21,8	0,001	32,4
0,000 02	22,2	0,005	37,6
0,000 1	22,8	0,01	38,6
0,000 2	23,8	0,05	44,6

Enzym 0,5 mg.

Cyankalium mg		Cyankalium mg		Cyankalium mg	
—	15,9	—	13,2	—	13,5
0,0002	18,8	0,000 01	14,1	0,000 01	14,1
0,001	23,7	0,000 1	18,8	0,000 02	16,7
0,002	25,3	0,000 2	18,7	0,000 1	15,8
		0,001	20,5	0,000 2	17,9
				0,001	19,1
				0,002	21,9

Enzym 0,5 mg.

Cyankalium mg		Cyankalium mg	
—	9,7	—	9,9
0,005	19,1	1,0	23,3
0,01	19,3	2,0	23,0
0,05	25,4	4,0	29,8
0,1	24,6	8,0	27,1
0,5	30,6	16,0	36,6
1,0	30,0	32,0	34,2

Enzym 2,5 mg.

Cyankalium mg	Phosphatpufferkonzentration	
	m/15	m/3
—	23,9	58,2
2	53,1	95,8
4	53,9	97,3
8	54,0	97,3

Enzym 0,5 mg.

Cyankalium mg	Phosphatpufferkonzentration	
	m/15	m/3
—	5,8	9,9
1	21,2	23,3
2	20,4	23,0
4	20,9	29,8
8	20,3	27,1
16	21,3	30,6
32	21,3	34,2

Versuche mit ungünstigem p_H.

Enzymmenge 1 mg. Pufferung m/3.

p _H	Ohne Cyankalium	Mit 0.05 mg Cyankalium
8.04	7.8	23.4
8.04	11.3	27.2
8.04	7.3	32.7
6.24	14.1	21.8
6.24	19.5	36.0

*Versuche mit Acetaldehydcyanhydrin.*Frisches Präparat von *Kahlbaum*. Enzymmenge 1 mg. Pufferung m/3.

Cyanhydrin ccm		Cyanhydrin ccm	
—	27.6	—	28.4
0.0001	42.3	0.000 000 01	32.7
0.001	43.2	0.000 000 1	31.0
0.01	42.3	0.000 001	28.9
		0.000 01	40.4
		0.000 1	47.3

Aus diesen Versuchen folgt:

1. Schon Dosen von $\frac{1}{10\,000}$ mg bewirken eine absolut und relativ beträchtliche Leistungssteigerung der Urease.

2. Die Steigerung erreicht bei einer bestimmten Menge Cyankalium ein Maximum. Das Maximum erreicht für jede Enzymmenge eine bestimmte Höhe.

3. Die Cyankaliumsteigerung kommt unabhängig von der Pufferung und p_H zustande.

4. Sehr verdünnte Lösungen von Acetaldehydcyanhydrin bewirken ebenfalls eine sehr energische Enzymsteigerung.

Man kann nun natürlich berechnen, wie groß oder vielmehr wie klein der Angriffspunkt ist, der von dem Cyankalium in Anspruch genommen wird. Bis zu einem gewissen Grade gibt das wohl auch für die Größenordnung des reinen Enzyms einen Anhalt.

Da jedenfalls das Cyankalium irgendwie am Enzymkomplex angreifen muß, so wird man also wohl nicht umhin können, zu behaupten, daß sich im Enzymkomplex eine Gruppierung findet, die mit Cyankalium eine Bindung eingeht, unabhängig davon, ob das Cyankalium

eine das Enzym hemmende Gruppe, wie z. B. ein Metall, außer Gefecht setzt oder ob das Cyankalium selbst das Bindeglied zwischen Enzym und Substrat bildet. Im zweiten Falle müßte man annehmen, daß in den Enzymanteilen, die an und für sich aktiv sind, Gruppen von der gleichen Leistungsfähigkeit wie das Cyankalium sind. Da das zur Maximalleistung notwendige Cyankalium abhängig von dem Enzym ist und mit der Enzymmenge steigt, so ist anzunehmen, daß ein ganz bestimmtes Verhältnis zwischen bereits aktivem und aktivierbarem Enzym vorhanden ist.

Entweder ist also

$$1. EXCy \text{ wirksamer als } EX,$$

wobei E der Enzymkomplex, X die cyankaliumbindende Gruppe ist.

oder EX ist unwirksam und E wird wirksam durch die Umsetzung

$$2. EX + Cy = E + EXCy,$$

so daß also durch die Entfernung von X das Enzym (E) aktiv wird.

Ob das Cyanhydrin als solches wirksam ist oder nur durch Spuren Blausäure wirkt, die im Präparat vorhanden sind, läßt sich kaum entscheiden, da die Blausäure eben in solchen Spuren wirkt, daß man mit ihnen als Beimengungen zum Cyanhydrin rechnen muß.

Daß Acetaldehydcyanhydrin die Ureasewirkung steigert, habe ich schon früher bei Versuchen mit Sojaurease mitgeteilt¹⁾. Die neuen Versuche zeigen es aber unter denselben p_H - und Pufferungsverhältnissen für die Jackbohnenurease, wie sie bei den übrigen Versuchen dieser Mitteilung innegehalten sind.

Da Cyankalium auch bei den günstigsten Pufferungs- und p_H -Verhältnissen die Urease aktiviert, sind alle Vermutungen, daß Schutzwirkungen in Frage kommen, ohne weiteres hinfällig.

Diese Resultate, insbesondere die nunmehr quantitativ genauere ermittelte große Wirksamkeit des Cyankaliums, machen es notwendig, die früheren Ergebnisse der Metallversuche von dem neuen Standpunkt aus zu betrachten. Wir können ja mit Metallen als Modelle für X operieren und untersuchen, ob die sich im Versuch als notwendig ergebende Metallmenge in der Größenordnung der für X zu erwartenden entspricht. Jedoch wird die Frage, ob die aktiven Enzymgruppen dem Schema 1 oder 2 entsprechen, auch durch die Metallversuche nicht entschieden, denn das Metall könnte entweder im aktiven Enzym die Gruppe beschlagnehmen, welche im Modell der Cyankaliumgruppe entspricht (Formel 1), und so das Cyankalium dem X des Enzymkomplexes entziehen, oder es könnte an das Enzym als Vertreter von X herantreten und es dadurch inaktivieren (Formel 2).

¹⁾ Diese Zeitschr. 85, 358, 1918; 87. 129, 1918.

Enzymmenge 1 mg.

Cyankalium mg	Sublimat 0,1 mg	Sublimat 0,01 mg	Kein Sublimat
—	7,1	5,4	19,5
0,01	6,5	9,2	38,6
0,02	5,4	14,3	—
0,05	6,5	19,7	44,6
0,1	9,0	29,3	—
0,2	13,4	36,4	—
0,5	19,6	44,6	—

Enzym 1 mg. Cyankalium 0,5 mg.

Sublimat mg		Sublimat mg	
—	41,1	0,05	27,9
0,001	44,6	0,1	20,4
0,005	41,8	0,5	9,2
0,01	39,8		

Enzym 1 mg.

Cyankalium mg	Subl.mat 0,01 mg	Kein Sublimat
0	6,0	23,2
0,01	10,3	33,5
0,5	37,6	44,4

Enzym 1 mg.

Cyankalium mg	Sublimat 0,001 mg	Kein Sublimat
0	22,8	24,0
0,01	30,9	34,6
0,5	41,8	43,7

Aus diesen Versuchen, aus deren Zahlen sich allerlei entnehmen läßt, sei hier nur folgendes hervorgehoben:

Schon 0,01 mg Sublimat genügt, um die Wirkung von 1 mg Enzym auszuschalten. Um die schädigende Wirkung von 0,01 mg Sublimat

ganz auszuschalten, sind 0,5 mg Cyankalium notwendig, wovon nur der zehnte Teil zur vollkommenen Aktivierung des nicht mit Sublimat behandelten Enzyms notwendig ist. Dementsprechend gelingt auch mit 0,5 mg Cyankalium die Aktivierung von 1 mg Enzym, das mit 0,1 mg Sublimat behandelt war, nur sehr unvollkommen.

Der Versuch, bei dem die Sublimatmenge variiert wurde, entspricht durchaus der Sachlage, die sich aus dem ersten Sublimatversuch ergibt. Denn es zeigt sich, daß für 1 mg Enzym nur bis 0,01 mg Sublimat die vollkommene Aktivierung durch 0,5 mg Cyankalium gelingt. Der nächste Versuch zeigt, daß ebenfalls für 1 mg Enzym 0,01 mg Cyankalium gegenüber 0,01 mg Sublimat nur spurenweisen Effekt erzielt, während dieses Cyankalium beim unbehandelten Enzym schon eine wesentliche Aktivierung ermöglicht. Der letzte Versuch liefert uns eine ausreichende Begrenzung nach unten, denn er lehrt, daß 0,001 mg Sublimat eine so geringe Giftmenge ist, daß kaum ein Unterschied zwischen dem Verhalten und der Beeinflußbarkeit von Normalenzym und Sublimatenzym noch besteht.

Wir dürfen also annehmen, daß zwischen 0,01 und 0,001 mg Sublimat etwa die Quecksilbermenge zu suchen ist, welche in ihrer Wirkung der in 1 mg Enzym vorhandenen Hemmungssubstanz entspricht. So erledigen wir einen der unbedingt notwendigen Punkte indem wir quantitativ schärfer die Anteile des Enzymkomplexes umgrenzen.

Auf Grund von Überlegungen, deren Darlegung hier zu weit führen würde, dachte ich daran, ob das Cyankalium als Auxosubstanz der Urease durch Diaminosäuren ersetzbar wäre. Daß Aminosäuren wirksam sind, habe ich schon vor vielen Jahren gezeigt und ist nach einigen anfänglichen Einwänden allmählich auch allseitig anerkannt worden. Jetzt ist es mir nun geglückt, im Histidin eine Diaminosäure von so enormer Auswirkung für die Jackbohnenurease aufzufinden, daß man die Wirkung durchaus nicht mehr durch die Aminosäurewirkung als solche erklären kann.

Ferner konnte ich feststellen, daß zwei außerdem untersuchte Diaminosäuren, das Arginin und das Lysin, quantitativ keineswegs an die Wirksamkeit des Histidins heranreichen. Von Interesse ist, daß bis zu einem hohen Grade das Histidin durch Hämoglobin, das bekanntlich in seinem Molekül viel Histidin enthält, ersetzt werden kann. Besonders wichtig ist aber, daß auch Histamin gut wirksam ist, daß also offenbar im Histidin der Aminosäurecharakter der Auxosubstanz nicht ausschlaggebend ist. Es war zwar kaum anzunehmen, daß Histidin und Hämoglobin an und für sich Harnstoff spalten, es wurde aber noch durch besondere Versuche sichergestellt.

Nachdem wir nun im Cyankalium und andererseits in der Histidin-gruppe zwei Typen von besonders wirksamen Auxokörpern besitzen, ist zu prüfen, ob die beiden Gruppen im Enzymkomplex verschiedene Angriffspunkte besitzen. Es ist zu bemerken, daß Histidin und, soweit untersucht, die ihm mehr oder weniger nahestehenden Substanzen das Cyankalium nicht vollständig vertreten können. Zunächst ist durch Cyankalium, nachdem Histidin seine Maximalwirkung entfaltet hat, noch eine Steigerung der Enzymwirkung möglich. Ferner übertrifft zum mindesten quantitativ das Cyankalium alle Aminosäuren in der Fähigkeit, das mit Sublimat vergiftete Enzym zu reaktivieren. Trotzdem könnte auch das hemmende Prinzip im Enzymkomplex, das als Angriffspunkt des Histidins vorausgesetzt werden müßte, ein Metall sein. Nur würde man eben das Quecksilber durch ein Metall ersetzen, für das die Entgiftung durch Cyankalium und Histidin in gleicher Weise möglich ist. In besonderen Versuchen, die in ihrer Anordnung an meine früheren Versuche anknüpfen, kann ich zeigen, daß das mit Nickel vergiftete Enzym ebenso wie durch Glykokoll auch durch Histidin reaktivierbar ist. Dabei wurde übrigens die bemerkenswerte, noch weiter zu verfolgende Beobachtung gemacht, daß gewisse Nickelsalze für die Jackbohnenurease ganz ungiftig sind.

Nebenbei sei hier darauf hingewiesen, daß unsere zahlreichen Versuche über reversible Enzyminaktivierung durch Nickel und Kobalt durch die interessanten Mitteilungen von *Bertrand* nach einer neuen Richtung Interesse gewinnen. Wenn *Bertrand* angibt, daß ein gewisser Gehalt der Insulinpräparate an Nickel und Kobalt für die Wirkung vorteilhaft ist, so wäre es möglich, daß das Insulin durch die Metalle vor der Zerstörung durch Enzyme geschützt wird. Neuerdings wird auch behauptet, daß Insulin und Blausäure Gegengifte sind ¹⁾.

Trotz aller Erwägungen, die nach einer möglichst weitgehenden Vereinheitlichung der Angriffspunkte oder Angriffsarten der Auxokörper hinzielen, ist es vorläufig doch noch notwendig, mehrere Angriffspunkte anzunehmen. Denn wenn man auch die Histidinwirkung in nahe Nachbarschaft zur Cyankaliumwirkung rückt, bleibt immer noch — abgesehen von anderen Substanzen, auf die ich hier nicht eingehe — die quantitativ zwar geringere, aber doch bestimmt vorhandene, allgemeinere Auxowirkung der Aminosäuren. Dabei kommt es gar nicht darauf an, ob es möglich ist, bis zu einem gewissen Grade die Aminosäurewirkung als Schutzwirkung aufzufassen. Auch das erspart uns nicht die Notwendigkeit, einen Angriffspunkt für die Aminosäuren anzunehmen.

¹⁾ Anmerkung bei der Korrektur. Bei der Ureaseaktivierung durch Cyankalium fand ich keine Gegenwirkung des Insulins.

*Histidinversuche.*Histidinhydrochlorid von *Kahlbaum*. Enzymmenge 1 mg.

Histidin mg		+ 0,5 mg Cyankalium
—	22,6	42,9
0,1	38,5	45,9
1	47,0	47,2
—	23,6	47,4
0,1	43,9	46,2
1	49,9	47,3
—	21,3	—
0,01	25,1	—
0,05	32,2	—

*Vergleich zweier Histidinpräparate.*Die Präparate verdanke ich der Güte des Herrn *C. Neuberg*.A: 1-Histidinmono-HCl (von *C. Neuberg* dargestellt).

B: 1-Histidinmono-HCl (käuferlich).

A 42,1, B 41,4, A und B je 0,5 mg.

Im gleichen Versuch C 0,5 mg Lysindichlorhydrat (ebenfalls Präparat von Prof. *Neuberg*): 20,7.

Kontrolle für A, B, C = 13,0.

*Arginincarbonat.*Das Präparat verdanke ich der Güte des Herrn Geheimrat *Kossel*.

Arginincarbonat mg		Arginincarbonat mg	
—	19,2	—	—
0,001	20,1	1	27,2
0,01	21,6	10	39,1
0,1	25,3	—	—

*Argininnitrat.*A: Präparat von *C. Neuberg*.B: Präparat von *Hoffmann-La Roche*.

Kontrolle: 31,6, A: 36,5, B: 34,5.

*Histaminversuche.*Präparat von *Hoffmann-La Roche*.

Kontrolle: 28,1	1 mg Histidin	53,3	1 mg Histamin	47,1
„ 31,3	0,1 „	Histamin 35,2	0,5 „	„ 45,2
„ 30,6	1 „	Histidin 43,8	1 „	„ 42,6

Hämoglobinversuche.

Präparat von Merck.

	—	21,3			
Histidin	0,01 mg	25,1	Hämoglobin	0,01 mg	21,9
„	0,05 „	32,2	„	0,05 „	35,4

Hämoglobin mg		+ 0,5 mg Cyankalium
—	16 6	40 3
0,5	36 4	40 4
1	38,1	43,1

Hämoglobin mg		+ 0,5 mg Cyankalium
—	22 5	39 5
0,5	40 4	41 6
1	38,9	43,3

Reaktivierungsversuche mit Aminosäuren.

—	19 5	—	23 2
0,01 mg Sublimat	4 3	0,01 mg Sublimat	5 9
0,01 mg Sublimat + 1 mg Histidin	5 3	0,01 mg Sublimat + 1 mg Histidin	6 0
1 mg Histidin	39 9	1 mg Histidin	38 5
0,01 mg Sublimat + 10 mg Glykokoll	7 0	0,01 mg Sublimat + 1 mg Glykokoll	5 7
10 mg Glykokoll	39 5	1 mg Glykokoll	22 5

100 ccm einer Ureaselösung werden mit 1 g Nickel „Pulver extrafein, reduziert von Kahlbaum“ gemischt. Es wird öfters umgerührt. Nach 30 Minuten wird filtriert.

Normalferment		Nickelferment	
—	16 0	—	9 0
+ 1 mg Cyankalium	39 1	+ 1 mg Cyankalium	26 8
+ 1 „ Glykokoll	30 3	+ 1 „ Glykokoll	16 1
+ 1 „ Histidin	38 1	+ 1 „ Histidin	25 8

Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse.

Die Resultate der Versuche über die Wirkung von Cyankalium, Acetaldehydcyanhydrin und Sublimat werden hier nicht noch einmal aufgeführt, da sie oben schon formuliert wurden. Hier sei nur betont: Cyankalium wirkt unter Bedingungen, die nur die Vorstellung zulassen, daß das Cyankalium unmittelbar am Enzymkomplex angreift, indem es entweder hemmende Faktoren außer Funktion setzt oder direkt die

Enzymwirkung verstärkt. Es läßt sich zeigen, daß für eine sehr große Enzymwirkung bereits eine sehr geringe Substanzmenge, als deren Modell ein Metall gelten kann, als Angriffspunkt für die Cyankaliumwirkung genügt.

Auf dem Gebiete der Auxowirkungen der Aminosäuren konnte neu die überragende Rolle des Histidins, das sehr weitgehend durch Histamin und Hämoglobin ersetzt werden kann, festgelegt werden. Arginincarbonat und Lysin sind weniger wirksam, Argininnitrat hat kaum eine Wirkung, welche über die allgemeine Aminosäurewirkung hinausgeht.

Nach dem Gesamtbild unserer Beobachtungen kann man zwar annehmen, daß die verschiedenen Verstärkungswirkungen, die hier beschrieben worden sind, wesensverwandt sind, also mit Angriffspunkten einander nahestehender Art reagieren. Man ist jedoch vorläufig genötigt, abgesehen von der allgemeinen Aminosäurewirkung, mindestens zwei Typen der Auxokörper, den Cyankaliumtyp und den Histidintyp, auseinanderzuhalten.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, die mir auch für diese Untersuchungen die Mittel zur Verfügung gestellt hat, fühle ich mich zu größtem Danke verpflichtet.

Die Abhängigkeit der Wachstumsgröße von der Quantität der Ernährungsfaktoren bei Pilzen.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

R. Meyer (Nienbüttel).

(Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Bakteriologie der Universität
Göttingen.)

(Eingegangen am 2. Dezember 1926.)

Unter obigem Titel wird demnächst an anderer Stelle¹⁾ eine ausführliche Abhandlung erscheinen, die in gewissem Sinne als eine Fortführung und Ergänzung zu einer entsprechenden, an dieser Stelle²⁾ erschienenen Arbeit von A. Niethammer betrachtet werden kann, obgleich sie unabhängig davon begonnen und ausgeführt wurde³⁾. Da sich durch äußere Umstände das Erscheinen noch weiter verzögern wird, möchte ich hier kurz über die Resultate berichten. Als Untersuchungsobjekt diente *Aspergillus niger*, der in 100-cem-Erlenmeyerkölbchen, beschickt mit je 25 cem Nährlösung, kultiviert wurde. Als Kohlenstoffquelle diente ausnahmslos Rohrzucker; alle anderen Nährstoffe kamen in anorganischer Form zur Verwendung. In der ersten Gruppe der Versuche wurde die Gesamtnährstoffkonzentration gestaffelt; die Ergebnisse sind denen von A. Niethammer ähnlich, sind aber mit der Mitscherlichschen Auffassung unvereinbar (Produktgesetz!) Diese

¹⁾ Zeitschr. f. Pflanzenernährung und Düngung 1926, Teil A, Bd. VIII, Heft 6.

²⁾ Diese Zeitschr. 165, 168, 1926.

³⁾ Unter dem Titel: „Es ist bei Pilzen oder Bakterien die Abhängigkeit der Wachstumsgröße von der Quantität der Ernährungsfaktoren experimentell festzustellen und mit den an höheren Pflanzen gewonnenen Ergebnissen kritisch zu vergleichen“, am 9. Juni 1926 von der Mathem.-Naturw. Fakultät der Universität Göttingen preisgekrönt (eingereicht am 15. April 1926).

Versuche wurden mit nur zwei, alle folgenden mit zehn Parallelen ausgeführt. In einer anderen Gruppe von Versuchen wurde die Ammonsulfatkonzentration gestaffelt; auch hier wurden systematische Abweichungen von den nach *Mitscherlich* zu erwartenden Resultaten erhalten. Zum Teil zeigen die Ertragskurven, wie auch bei den entsprechenden Versuchen von *A. Niethammer*, ein Minimum. In einem weiteren Versuch wurde bei zwei verschiedenen Zuckergaben die Natriumnitratkonzentration variiert; auch hier sind die Resultate dem Produktgesetz nicht anzupassen. Endlich zeigt bei einem Versuch, in welchem der Stickstoff als Carbamid gegeben wurde, die Ertragskurve kaum irgend einen Zusammenhang mit der *Mitscherlich*-schen Exponentialkurve. Hieraus schließe ich, daß aus diesen Versuchen mit Stickstoff die Inkonstanz des *Mitscherlichschen* Wirkungsfaktors c folgt. Daß *A. Niethammer* trotz überraschend ähnlicher Versuchsergebnisse zu einer anderen Schlußfolgerung kommt, liegt meines Erachtens daran, daß sie die wesentlichen Kriterien für die Gültigkeit des *Mitscherlichschen* Gesetzes außer acht ließ. Weitere Versuche, in denen die Phosphorsäurekonzentration gestaffelt wurde, scheinen eine bessere Anpassung an das *Mitscherlichsche* Gesetz zu ergeben; sie bedürfen aber noch einer genaueren Nachprüfung. Endlich wurde in einem Versuche die Stickstoff- und Phosphorsäurekonzentration gleichzeitig variiert, wobei das Verhältnis $N : P_2O_5$ konstant gehalten wurde. Die unter diesen Bedingungen aus dem Produktgesetz fließenden mathematischen Folgerungen wurden durch das Versuchsergebnis nicht bestätigt gefunden. Im zweiten Teil der Arbeit wird die *Mitscherlichsche* Auffassung einer kritischen Betrachtung unterworfen. Es wird auf folgende Punkte hingewiesen.

a) Das *Mitscherlichsche* Gesetz erfaßt *nicht* den absteigenden Teil der Ertragskurve¹⁾. Die dazu von *Mitscherlich* angegebene Erweiterung seines Gesetzes, in der im Exponenten höhere Glieder hinzugefügt werden, ist physiologisch bedeutungslos und nur eine Potenzreihenentwicklung einer empirisch gegebenen Funktion.

b) Die Anwendbarkeit der *Mitscherlichschen* Formel auf gewisse Vererbungsgesetze¹⁾ besagt nichts zu dessen Gunsten; denn das Exponentialgesetz ist in den theoretischen (statistischen) Voraussetzungen für die Vorgänge bei der Vererbung implizite enthalten.

c) Es wird untersucht, ob vier Parallelen, deren sich *Mitscherlich* bei seinen Versuchen bedient, ausreichend sind, um verwertbare Versuchsergebnisse zu erhalten; es wird dann an Hand eines Versuchs über die Verteilung der Gewichte nach ihrer Häufigkeit bei *Aspergillus niger* unter Heranziehung statistischer Betrachtungen gezeigt, daß hier, um einigermaßen genaue Streuungsangaben machen zu können, *wenigstens zehn Parallelen* erforderlich sind.

d) Es wird bei den *Mitscherlichschen* Versuchen bemängelt, daß seine Ertragskurven durch zu wenig Punkte gestützt sind und demnach beim Vergleich mit dem Exponentialgesetz zu viel Willkür zulassen; zumal, da er kein eindeutiges Verfahren angibt, die theoretische Kurve festzulegen.

¹⁾ *Romell*, Über das Zusammenwirken der Produktionsfaktoren. Eine kritische Studie. Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik **65**, 739, 1926. Dieser nimmt hieran auch Anstoß, ohne sich dort allerdings auf eine ausführliche Kritik einzulassen.

Ich gebe ein auf die Methode der kleinsten Quadrate aufgebautes Verfahren an¹⁾, welches dieser Forderung gerecht wird.

Zum Schluß der Untersuchung wird dann noch die Unhaltbarkeit der *Walterschen* Auffassung dargelegt²⁾.

¹⁾ *H. Niklas* und *M. Miller*, Stellungnahme zum Wirkungsgesetz von *E. A. Mitscherlich*. Forstwissenschaftl. Zentralbl. 48, 390. 1926. Die Verfasser stellen in dieser Mitteilung auch die Anwendung eines solchen Verfahrens auf von *Mitscherlich* angegebene Versuchsergebnisse in Aussicht. Da nun durch die inzwischen beendeten Versuche *Rippels* (Zur experimentellen Widerlegung des *Mitscherlich-Bauleschen* Wirkungsgesetzes der Wachstumsfaktoren von *A. Rippel*, Zeitschr. f. Pflanzenernährung und Düngung, Teil A, 8. Bd., Heft 2) das *Mitscherlichsche* Gesetz nunmehr auch für höhere Pflanzen als widerlegt anzusehen ist, so dürften damit diese speziell für das *Mitscherlichsche* Gesetz ausgearbeiteten Verfahren ihre Bedeutung verloren haben. Immerhin ist hierdurch der Methode der kleinsten Quadrate auch in biologischem Gebiete noch einmal mit Nachdruck Eingang verschafft.

Anmerkung bei der Korrektur. Die inzwischen erschienene ausführliche Arbeit von *H. Niklas* und *M. Millar* (Forstwissenschaftl. Centralbl. 48): „Begründung unserer Stellungnahme zum Wirkungsgesetz von *E. A. Mitscherlich*“ ändert nichts an obiger Feststellung

²⁾ *H. Walter*, Die Naturwissenschaften 12, 27, 1924.

Über den Mechanismus der Blutkörperchensenkung.

Von

L. Berczeller und H. Wastl.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 2. Dezember 1926.)

In den vorangehenden Mitteilungen¹⁾ wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Senkung der roten Blutkörperchen nicht als die Resultante der Bewegung (Fallen) eines roten Blutkörperchens aufgefaßt werden kann, daß somit die *Stokessche* Formel oder Modifikationen derselben, wie dies noch häufig geschieht, nicht angewandt werden können, sondern daß sich die roten Blutkörperchen gegenseitig in ihrer Bewegung beeinflussen müssen. Man kann ja sogar die roten Blutkörperchen im strömenden Blute nicht als eine im Plasma frei bewegliche Suspension auffassen, da die Plasmaschichten zwischen denselben so dünne sind, daß sie diesen keine freien Drehbewegungen gestatten. Beim Studium der verschiedenartigen Typen der Senkungskurven ließ sich auch beobachten, daß die Geschwindigkeit des Sinkens häufig derartig variiert, als würden Stockungen und Zeiten schnelleren Sinkens miteinander abwechseln.

Beim Überblicken eines großen Materials an Senkungsversuchen fiel nun auf, daß nicht nur Geschwindigkeitsveränderungen in der Senkung vorhanden sind, sondern daß man sogar in Glasröhrchen von 2 mm Durchmesser nicht allzu selten noch Verstopfungen des Lumens beobachten kann, deren Zahl mit abnehmendem Durchmesser der Röhrchen rasch zunimmt und die in dünnen Kapillarröhrchen die Regel bilden, obwohl natürlich auch deren Durchmesser noch weit über dem der kleinsten Arterien und Arteriolen liegt.

In den 2-mm-Röhrchen müssen bereits etwa 40000 rote Blutkörperchen flächenhaft geordnet liegen, um das Lumen verschließen zu können; diese Zahl ist aber nur eine Minimalzahl, denn diese Ordnung ist eben zufolge der geringen Plasmamengen, welche zwischen den roten Blutkörperchen liegen, vollkommen auszuschließen.

¹⁾ Diese Zeitschr. 140, 143. 1923; 144, 145, 146, 153, 1924.

Verschiedene Bedingungen begünstigen oder hemmen das Zustandekommen dieser Verstopfungen der Röhren¹⁾. (Es werden im folgenden zwecks besseren Vergleichs nur die Versuche mit Röhren von 2 mm Durchmesser einbezogen.)

I. Der Einfluß der Stellung der Röhren auf das Zustandekommen der Stockungen.

Über den Einfluß der Winkelstellung der Senkungsröhren auf die Senkungsgeschwindigkeit wurde in den vorausgehenden Mitteilungen ausführlich berichtet. Diese nimmt regelmäßig mit zunehmender Schiefstellung der Röhren zu und nur ganz selten konnten bei schnell-senkenden Blutproben Abweichungen beobachtet werden, die auf vorübergehende Verstopfungen der Röhren zurückgeführt werden können. Da alle unsere Versuche stets nebeneinander in allen vier Stellungen (90, 67,5, 45, 22,5°) aufgestellt wurden, können sie diesbezüglich direkt miteinander verglichen werden.

Tabelle I.

Stockungen bei den verschiedenen Winkelstellungen.

Winkel	90°	67 ¹ / ₂ °	45°	22 ¹ / ₂ °	45 u. 67 ¹ / ₂ °	45 u. 22 ¹ / ₂ °	90 u. 67 ¹ / ₂ °	90° 67 ¹ / ₂ ° 45°	67 ¹ / ₂ ° 45° 22 ¹ / ₂ °	90° 67 ¹ / ₂ ° 45° 22 ¹ / ₂ °
Zahl der Fälle	6	21	18	12	4	6	1	1	1	1
- " " " " " " " " " " " "	3	8	13	8	In mehreren Röhren bei derselben Blutprobe gleichzeitig.					
- " " " " " " " " " " " "	3	13	5	4	In einem einzigen Röhren bei einer einzelnen Blutprobe.					

In Tabelle I ist die Zahl der Stockungen in den einzelnen Ebenen angegeben, ferner die Zahl jener Fälle, in denen in mehreren Röhren gleichzeitig bei den einzelnen Versuchen diese Erscheinung zu beobachten war. Am häufigsten kommt sie bei den unter einem Winkel von 67,5° aufgestellten Röhren vor. Dann folgen 45 und 22,5°, und am seltensten ist sie bei 90° zu beobachten.

¹⁾ Es liegt uns vollkommen fern, aus diesen Beobachtungen irgendwelche weiteren Schlüsse auf die Geschehnisse im Blutkreislauf zu ziehen, da wir heute die Bedingungen zum Zustandekommen dieser Erscheinungen in vitro viel zu wenig kennen und diese auch sehr stark von äußeren Faktoren beeinflusst werden können. Aus früheren Befunden (Senkung der roten Blutkörperchen in bewegter Blutsäule) und aus direkten mikroskopischen Beobachtungen geht hervor, daß der Verstopfung des peripheren Gefäßsystems durch die roten Blutkörperchen eine wichtige Rolle im Mechanismus des peripheren Kreislaufs zukommt. (Siehe L. Berczeller, diese Zeitschr. 149, 592ff., 1924; Klin. Wochenschr. 1926, Nr. 36.)

Von den insgesamt 39 Blutproben, bei denen eine Verstopfung der Röhren mit segmentierter Senkung beobachtet wurde, zeigen 25 Proben, also 60 Proz., eine Verstopfung *nur in einem* Röhren, während 14 Proben mit insgesamt 32 Einzelbeobachtungen in mehreren Röhren gleichzeitig diese Erscheinung aufwiesen, was auf eine Tendenz der betreffenden Proben zur Verklumpung der roten Blutkörperchen hinweist.

Das Maximum bei 67,5° tritt bei Betrachtung jener Fälle, bei denen diese Erscheinung nur in einem einzigen Röhren beobachtet wurde, bei denen also die Agglutinationsfähigkeit des Blutes weniger im Vordergrund der Wirkung steht, noch schärfer hervor. Sein Zustandekommen kann auf zwei in entgegengesetzter Richtung wirkende Ursachen zurückgeführt werden: Nämlich einerseits auf die schon in den früheren Mitteilungen herangezogene Erklärung, daß es sich bei der Senkung der roten Blutkörperchen um ein getrenntes Strömen von Plasma und roten Blutkörperchen plus den von ihnen eingeschlossenen Plasmamengen handelt, wobei dieses Aneinandervorbeiströmen der strukturierten Phase (Blutkörperchen plus eingeschlossene Plasmaschichten) und der flüssigen Phase (Plasma) um so besser vonstatten geht, je schiefer die Röhren gestellt sind. Je schiefer nun die Röhren gestellt sind, um so weniger besteht für die Klumpen der roten Blutkörperchen die Möglichkeit, das *ganze* Lumen des Rohres zu verschließen. Daher müßte die Zahl der beobachteten Verstopfungen mit der Schiefstellung der Röhren abnehmen. Andererseits bedingt die Schiefstellung der Röhren infolge der erleichterten Trennungsmöglichkeit zwischen den beiden Phasen eine stark beschleunigte Senkung, die eine bessere Vorbedingung für die Verklumpung der roten Blutkörperchen und damit für eine Verstopfung der Röhren bildet. Daher beobachten wir diese Erscheinung häufiger in den schief gestellten Röhren als bei vertikaler Stellung, wobei bei letzterer noch der Umstand ins Gewicht fällt, daß bei 90° rings an der Wand der Röhren eine aufwärts gerichtete Plasmaströmung stattfindet, die einer Verstopfung des Lumens vorbeugt.

II. Der Einfluß der Blutart auf das Zustandekommen der Stockungen.

Aus Tabelle II geht hervor, daß sich die verschiedenen Blutarten diesbezüglich sehr different verhalten. Denn beim Schweineblut ist trotz der sehr großen Anzahl der Versuche in keinem Falle eine Verstopfung der Röhren zu beobachten, und auch beim schnell senkenden Pferdeblut wie beim langsam senkenden Rinder- und Hammelblut spielt sie kaum eine Rolle. Dagegen ist sie verhältnismäßig häufig beim Kaninchen-, Hunde- und Katzenblut und besonders oft bei Entenblut zu beobachten. Die Zahl der Versuche bei Hühnerblut ist zu gering, als

Tabelle II.

Gesamtzahl der Senkungsversuche und Stockungen.

Blut von:	Schwein	Hammel	Rind	Kaninchen	Hund	Katze	Pferd	Mensch
Gesamtzahl der Senkungsversuche	328	220	180	860	440	296	1768	976
Zahl der Stockungen	0	1	1	16	15	5	3	12
Relation	$\frac{0}{328}$	$\frac{1}{220}$	$\frac{1}{180}$	$\frac{1}{54}$	$\frac{1}{29}$	$\frac{1}{59}$	$\frac{1}{584}$	$\frac{1}{81}$

Blut von:	Menschl. Nabelschnur	Ente	Huhn	Esel	Meerschweinchen	Hefe-suspension	Σ
Gesamtzahl der Senkungsversuche	84	56	28	24	8	68	5336
Zahl der Stockungen	0	4	0	0	0	0	57
Relation	$\frac{0}{84}$	$\frac{1}{14}$	$\frac{0}{28}$	$\frac{0}{24}$	$\frac{0}{8}$	$\frac{0}{68}$	—

daß man diesbezüglich etwas über Unterschiede zwischen Säuger- und Vogelblut aussagen könnte. Beim Menschenblut ist die Erscheinung seltener zu beobachten als bei den vorhin erwähnten Blutarten, so daß die Größe der roten Blutkörperchen dabei keine Rolle spielen kann. Im Nabelschnurblut kommt sie überhaupt nicht vor, doch ist die Anzahl der Versuche in diesem vielleicht zu gering.

III. Der Einfluß des Geschlechts auf das Zustandekommen der Stockungen.

Bei Pferd und Katze können bei Blutproben von männlichen Tieren überhaupt keine Verstopfungen der Röhren beobachtet werden und auch

Tabelle III.

	Absolute Zahlen			Relative Zahlen		
	♀	♂	Wallach	♀	♂	Wallach
Pferd	2	0	1	$\frac{1}{286}$	$\frac{0}{260}$	$\frac{1}{284}$
Mensch	8	2	—	$\frac{1}{61}$	$\frac{1}{202}$	—
Katze	5	0	—	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{140}$	—
Hund	5	10	—	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{32}$	—
Kaninchen	10	5	—	$\frac{1}{58}$	$\frac{1}{50}$	—
Ente	3	1	—	$\frac{1}{13}$	$\frac{1}{24}$	—
Σ	33	18	1	—	—	—

bei Mensch und Ente nur in einer verhältnismäßig sehr geringen Zahl von Fällen. Öfters kommt es bei männlichem Kaninchenblut vor, wenn auch hier die Zahl der Fälle beim weiblichen Blut viel größer ist. Nur beim Hunde konnte in der absoluten Zahl (nicht in der relativen Zahl) ein Überwiegen der männlichen Blutproben beobachtet werden, was aber nur darauf zurückzuführen ist, daß beim Hundeblood viel öfter Versuche mit männlichem Blute ausgeführt wurden.

IV. Die Wirkung der gerinnungshemmenden Faktoren auf das Zustandekommen der Stockungen.

Wie sich aus Tabelle IV ergibt, kommt die Verstopfung der Röhren viel seltener im defibrinierten Blute als in den plasmahaltigen Blutproben mit den verschiedenen gerinnungshemmenden Zusätzen vor. Im defibrinierten Blute kam sie nur im Menschenblut, und zwar in einem pathologischen Falle vor. Die Art der gerinnungshemmenden Zusätze spielt eine gewisse Rolle. Besonders auffallend ist, daß im Hirudinblut beim Menschen in drei Fällen von neun die Stockung zu beobachten war, während sie beim Katzenblut in 20 Fällen kein einziges Mal vorkam. Sogar auf die Gesamtzahl der Fälle gerechnet, ist diese Zahl als eine sehr hohe zu bezeichnen.

Tabelle IV.

Blut:	Citrat	Oxalat	Fluorid	Melanin- saurer Na	Hirudin	Defibri- niert	Σ der Fälle
Zahl der Senkungsversuche.							
Pferd	784	360	72	48	—	304	1568
Mensch	48	372	96	16	9	280	821
Katze	64	132	20	—	20	60	296
Hund	108	156	16	—	—	116	396
Kaninchen	64	436	28	—	—	152	680
Ente	8	36	—	—	—	12	56
Σ	1076	1492	232	64	29	924	3817
Zahl der Stockungen.							
Pferd	0	1	0	0	—	0	1
Mensch	0	2	2	1	3	2	10
Katze	2	1	2	—	0	0	5
Hund	4	8	1	—	—	0	13
Kaninchen	1	13	0	—	—	0	14
Ente	1	3	—	—	—	0	4
Σ	8	28	5	1	3	2	47

V. Die Wirkung von CO₂ und O₂ auf das Zustandekommen der Stockungen.

Wie aus Tabelle V ersichtlich ist, übt die Sättigung mit den genannten Gasen gar keinen Einfluß auf das Zustandekommen der Stockungen im 2-mm-Rohr aus. Diese Zusammenstellung kann auch

sehr gut als Kontrolle für die anderen Beobachtungen dienen, da hier die Verhältniszahlen (Zahl der beobachteten Stockungen dividiert durch die Gesamtzahl der verglichenen Fälle) sehr konstant sind.

Tabelle V.

Blut:	Normal (unbeeinflusst)	Mit CO ₂ durchströmt	Mit O ₂ durchströmt
Gesamtzahl der so verglichenen Fälle (G)	1004	552	592
Zahl der Stockungen (S)	35	11	8
S:G	1 : 60	1 : 60	1 : 72

Zusammenfassung.

Bei der Anstellung von Senkungsversuchen kommt es sogar in ziemlich weiten Glasröhrchen (2 mm Durchmesser), wenn auch verhältnismäßig nicht sehr oft, vor, daß diese verstopft werden. Diese Erscheinung ist viel öfter bei den schief gestellten Röhrchen zu beobachten, als bei vertikaler Stellung, wobei das Maximum der Fälle bei 67,5° vorkommt. Bestimmte Blutproben neigen besonders zu dieser Erscheinung. Die verschiedenen Blutarten zeigen eine ganz verschiedene Tendenz zur Verstopfung der Röhren, die weder mit der Größe der roten Blutkörperchen noch mit der Senkungsgeschwindigkeit zusammenhängt. Bei weiblichen Blutproben kommt sie in einer viel größeren Zahl von Fällen vor als bei Blutproben von männlichen Tieren. Das Defibrinieren des Blutes vermindert seine Neigung, die Röhrchen zu verstopfen. Die verschiedenen Plasmaarten verhalten sich diesbezüglich auch different. Sättigung der Blutproben mit O₂ bzw. CO₂ beeinflusst das Auftreten der Verstopfungen nicht.

Über Lebensdauer und einseitige Ernährung mit organischen Nahrungsstoffen.

Von
L. Berczeller und H. Wastl.

(Aus dem physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 2. Dezember 1926.)

Es wurde an anderer Stelle von einem von uns¹⁾ gezeigt, daß Fettzusatz zu einer alleinigen Stärkenahrung die Lebensdauer der weißen Ratten erhöht. Dieselbe Beobachtung hat *Marchand*, Professor der Chemie an der Universität Halle, bereits im Jahre 1844 als einen eigenen Versuch mit Hunden in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie, S. 384²⁾, beschrieben. Da diese Beobachtung nicht nur ein historisches, sondern heute auch ein aktuelles Interesse besitzt und sein Lehrbuch sicherlich auch heute nicht mehr so leicht zugänglich sein dürfte, soll seine Beschreibung wörtlich zitiert werden:

„Es wurden drei Hunde, deren Kräftigkeit ungefähr gleich war, zuerst 1 Woche lang gleichmäßig ernährt, indem ihnen Milch und Brot gereicht wurde. Nach dieser Zeit wurde der eine nur mit Wasser und ganz reinem, raffiniertem Zucker gefüttert; der zweite mit gleichen Teilen Zucker und Gummi, welche ihm abwechselnd, einen Tag um den anderen, gereicht wurden, während der dritte Zucker, Gummi und Olivenöl erhielt. Wasser wurde ihnen gleichfalls in gleicher Quantität gegeben. Das Äquivalent der Nahrung wurde auf den Kohlenstoff berechnet; alle drei erhielten gleichviel Kohlenstoff. Auch hier wurde darauf geachtet, daß die Hunde sich bewegen mußten. Die Hunde befanden sich 12 bis 14 Tage ziemlich wohl, obgleich sie schon in dieser Zeit abmagerten, und zwar war die Abmagerung bei den beiden ersten ziemlich merklich größer, als bei dem dritten. Der erste Hund starb am 34. Tage mit beginnenden Geschwüren auf der Hornhaut, der zweite am 36. Tage, gleichfalls mit ähnlichen Affektionen; der dritte starb etwa erst am 42. Tage. Dieser Unterschied beweist, daß die gemischte Nahrung, insofern sie nur im Zucker und Gummi wechselte, fast gar keinen Einfluß hatte, wohl aber, sobald Öl hinzukam. Betrachtet man diese Stoffe von der chemischen Seite, so sieht man, daß Zucker und Gummi in ihrer Zusammensetzung so überaus übereinstimmen, daß es

¹⁾ L. Berczeller, diese Zeitschr. 129, 232. 1922.

²⁾ R. F. Marchand, Lehrb. d. physiol. Chem. Berlin 1844. 458 S.

sehr erklärlich ist, wie der Wechsel zwischen beiden Substanzen in der Tat so gut ist, wie gar kein Wechsel, daß aber das Öl, als zu einer ganz anderen Klasse von Stoffen gehörend, sowohl was Eigenschaften, als auch was Zusammensetzung anbetrifft, wohl eine Verschiedenheit hervorrufen kann, die wesentlich ist.“

Marchand beobachtet bei den zwei nur mit Kohlehydrat ohne Fett ernährten Tieren Xerophthalmie, bei Olivenölzusatz (kein A-Faktor!) scheinbar nicht.

Besonders beachtenswert ist es nun, daß die quantitativen Daten von *Marchand*¹⁾ beim Hund eine ganz ausgezeichnete Übereinstimmung mit den Daten bei Ratten²⁾ aufweisen. Mit Stärke oder Zucker allein ernährt, leben weiße Ratten von 90 bis 120 g Gewicht (junge Tiere) etwa 3 bis 4 Wochen, ausgewachsene Tiere etwa 4 bis 5 Wochen. Ein Zusatz von 5 bis 20 Proz. Fett erhöht die Lebensdauer der 90 bis 120 g schweren Tiere optimal eben auf die von *Marchand* beobachtete Lebensdauer von 42 bis 44 Tagen, über die hinaus auch erwachsene Ratten nicht leben. Es soll auch darauf hingewiesen werden, daß *Berczeller* und *Billig*³⁾ genau denselben Wert erhielten, wenn erwachsene weiße Ratten mit Stärke allein ernährt bei Körpertemperatur gehalten wurden (42 bis 44 Tage). *Marchand* (l. c.) berichtet S. 382 auch über Versuche von *Magendie*, welche an Hunden mit alleiniger Zuckerfütterung durchgeführt wurden und wobei die Tiere 31 bis 34 Tage, also ebensolange wie die erwachsenen Ratten und die Hunde von *Marchand* lebten. Auch *Magendie* konnte bereits die Xerophthalmie beobachten. *Marchand* weist dabei darauf hin, daß die Lebensdauer der mit Zucker gefütterten Tiere ungefähr ebenso lang ist, wie die der Hungertiere, was tatsächlich beim Hunde zutrifft, aber nicht bei der weißen Ratte, welche bei vollständigem Hunger in einigen Tagen eingeht. Dagegen ist die Lebensdauer bei Kohlehydratnahrung und Kohlehydrat plus Fettnahrung beim Hund und bei der weißen Ratte gleich. Ebendort ist angegeben, daß *Tiedemann* und *Gmelin* bei Gänsen etwas kürzere Lebensdauern bei alleiniger Kohlehydratnahrung beobachtet haben (bei Zuckerfütterung 20 Tage, bei Stärkekütterung 24 bis 27 Tage), die unseren Werten mit nicht ausgewachsenen Ratten entsprechen. Ganz ähnliche Beobachtungen liegen von *Kolmer* und *Schemintzky*⁴⁾ bei Kaulquappen vor. Bei alleiniger Stärkeernährung leben auch diese Tiere etwa 6 Wochen.

Alle diese Beobachtungen zeigen also zusammengefaßt, daß die etwa sechswöchige Lebensdauer bei Tieren, die allein mit „Brenn-

1) R. F. *Marchand*, l. c.

2) L. *Berczeller*, l. c.

3) *Berczeller* und *Billig*, diese Zeitschr. 189, 1923; Wien. med. Wochenschrift 1926.

4) *Kolmer* und *Schemintzky*, Pflügers Arch. 1922.

material“ gefüttert sind, eine von der Tierart unabhängige charakteristische Größe zu sein scheint, wobei die zwei großen Gruppen des Körperbrennmaterials, Kohlehydrate und Fett, sich in ihrer Wirkung ergänzen.

Es wurde bereits in der ersten Mitteilung¹⁾ darauf hingewiesen, daß die mit Kohlehydrat plus Fettahrung erreichbare höchste Lebensdauer der Tiere in allen jenen Versuchen *nicht* überschritten ist, in denen alle organischen und anorganischen Hauptnährstoffe (Eiweiß, Fett, Kohlehydrate, Salze ohne „Vitamine“) dem Tiere geboten werden. Dies geht aus dem Vergleich der eigenen Befunde an Ratten, die mit „Brennstoffen“ allein ernährt werden, mit den Versuchen von *Funk* und *Macallum*²⁾, *Osborne* und *Mendel*³⁾ und *Harden* und *Zilva*⁴⁾ hervor.

In weiteren Versuchen an weißen Ratten konnten wir nun beobachten, daß insbesondere der Zusatz von reinem Eiweiß (Casein usw.) *keine Verlängerung der Lebensdauer* der Ratten gegenüber der Ernährung mit Stärke-Fettmischung hervorruft und ebenso nicht ein *einzig*, dem Tiere *allein* neben reiner Kohlehydrat- plus irgendeiner Fettahrung gebotener Nährfaktor (Vitamin A, B oder C). Sogar die bei langdauernden Ernährungsversuchen benutzten Salzmischungen⁵⁾ verursachen in den benutzten Mengen eine ausgesprochene Verkürzung der Lebensdauer der Tiere. Auch die Mischung der Nährstoffe ohne die akzessorischen Nährfaktoren verursacht keine Lebensverlängerung gegenüber den bei Kohlehydrat und Fettmischungen erhaltenen Lebensdauern.

Diese Versuche bestätigen also vollkommen die aus den eigenen Befunden im Vergleich mit den Resultaten der zitierten Autoren gezogenen Schlüsse. Sie ergänzen jene aber insofern, als damit eindeutig bewiesen erscheint, daß man die Ernährung des Tieres nicht in der Weise auffassen kann, daß sich der Nahrungsbedarf *additiv* aus dem Bedarf an den einzelnen Nahrungsstoffen zusammensetzt, denn sogar die Zufuhr von Eiweiß *allein* bei einseitiger Ernährung mit „Verbrennungsmaterial“ (Kohlehydrat plus Fett) hat auf die Lebensdauer der Tiere gar keinen Einfluß. Dies ist deswegen von Interesse, da man gewohnt ist, das Hungern mit dem Verlust des Reserveeiweißes des Organismus zu erklären.

Bei alleiniger Ernährung mit Verbrennungsstoffen ist selbstverständlich die *Zeit*, auf welche diese Eiweißverluste ausgedehnt sind, viel länger, als wenn dem Tiere jede Nahrung entzogen ist (insbesondere

¹⁾ Diese Zeitschr. **129**, 232, 1922.

²⁾ *Funk*, und *Macallum*, Zeitschr. f. phys. Chem. **92**, 13, 1914.

³⁾ *Osborne* und *Mendel*, Journ. of biolog. Chem. **39**, 39, 1919.

⁴⁾ *Harden* und *Zilva*, Biochem. Journ. **12**, 411.

⁵⁾ Z. B. Salzmischung nach *Mc Collum* und *Sinmonds*, Journ. of biol. Chem. **33**, 55, 1918.

bei den Ratten); dennoch führt eine alleinige Eiweißzusatzfütterung zu keiner Verlängerung der Lebensdauer. Ebenso läßt sich die Lebensdauer der Tiere, die unter reinem, alleinigem Ersatz der Brennstoffe ernährt werden, durch einen *einzig*en Nährfaktor nicht verlängern.

Die Auffassung von einer strengen Trennung und einer darauf aufbauenden Bezeichnung als hauptorganische Nährstoffe und akzessorische Nährstoffe ist biologisch nicht zu halten. Eine solche Trennung bringt Annahmen mit sich, die mit dem Experiment in direktem Widerspruch stehen. Jeder Nahrungsbestandteil wird im lebenden Organismus chemischen und physikalisch-chemischen Einflüssen unterworfen. *Jeder Nahrungsbestandteil übt aber auch größere oder geringere aktive Wirkungen auf den Organismus aus*, die aber keinesfalls *additiv* sind. Es kommen Synergismen und Antagonismen zwischen den Nahrungsbestandteilen ebenso vor wie bei den Arzneimitteln. Beide Gruppen der Wirkungen können für das Tier nützlich oder schädlich sein.

Merkwürdigerweise ist methodologisch die Synthese der „optimalen“ Nahrung in der Vitaminforschung eigentlich eine Analyse, denn man hat von der empirisch gefundenen optimalen Nahrung immer einen Nahrungsbestandteil wegzulassen gesucht und so die einzelnen akzessorischen Nahrungsstoffe gefunden.

In einem komplizierten optimalen Gemisch kann die Wirkung der einzelnen Nahrungsbestandteile sehr leicht verdeckt sein, und aus diesem Grunde muß diese Forschungsrichtung (Vitaminforschung) dahin ergänzt werden, die spezifischen Wirkungen der einzelnen natürlichen Nahrungsmittel zu untersuchen. In Ergänzung der Untersuchungen von *Lavoisier* liegen diesbezüglich vom Anfang des vorigen Jahrhunderts wertvolle Daten vor, von denen einige hier zitiert wurden.

Zur näheren Erkenntnis der Probleme der menschlichen Ernährung ist die letztere biologische Forschungsrichtung wichtiger als unsere Kenntnisse über die Vitamine. Dies muß deswegen betont werden, da heute im allgemeinen eine Tendenz besteht, die Resultate der Vitaminforschung zu überschätzen.

Über das Verhalten des Alanins und der Brenztraubensäure in überlebender diabetischer Leber.

Von

Vilém Laufberger.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Masaryk-Universität in Brünn.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1926.)

Das Verhalten verschiedener Stoffe in überlebender Hundeleber wurde besonders von *Embden* und seinen Mitarbeitern untersucht. Überlebende Hundeleber bildet Milchsäure, wenn das Material dazu geboten ist, entweder aus nativem Glykogenlager oder im Falle künstlich glykogenfrei gemachter Tiere aus folgenden Stoffen: Glykose, Alanin (*Embden* und *Kraus*) oder Brenztraubensäure (*Embden* und *Oppenheimer*). Die Bildung von Milchsäure aus Brenztraubensäure in überlebender Hundeleber ist neuerdings auch durch *Otani* bestätigt worden, indem er Milchsäure kristallinisch isolierte. Die Umformung von Brenztraubensäure ist auch an anderen biologischen Objekten nachgewiesen worden, z. B. durch *Tomita* bei der Autolyse oder bei der Bebrütung des Hühnereies, wobei sich bei Zugabe von Alanin keine Vermehrung der Milchsäure nachweisen ließ. Es steht somit fest, daß die Leber auch ohne Anwesenheit von Zucker aus Brenztraubensäure Milchsäure bildet. In diabetischer überlebender Hundeleber herrschen aber andere Verhältnisse. *Embden* und *Isaac* haben gezeigt, daß diese nicht imstande sind, aus zugegebener Glykolyse Milchsäure zu bilden. Verfasser hat vor kurzer Zeit die Experimente von *Embden* und *Oppenheimer* wiederholt und sie bestätigt gefunden, so daß tatsächlich mit seiner Methode sich nachweisen läßt, daß normale Leber Milchsäure bildet, nicht aber diabetische. Erweiternd hat er gefunden, daß Zugabe von Insulin nicht genügt, der diabetischen Leber die Fähigkeit zurückzugeben, aus Glykose Milchsäure zu bilden. Aber auch wenn die Tiere durch wiederholte Behandlung mit Insulin und Glykose glykogenreich gemacht wurden, bleibt die Fähigkeit von Milchsäurebildung erloschen. Demgemäß scheint ihm die Fähigkeit der Milchsäurebildung unabhängig von der Wirkung des Insulins.

In dieser Arbeit wurde das Verhalten des Alanins und der Brenztraubensäure an diabetischer, überlebender Hundeleber geprüft. Die Technik der Durchblutung war prinzipiell dieselbe, wie sie in der ersten Mitteilung (Versuche über die Insulinwirkung, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 42, 570) beschrieben wurde. Chemisch-analytisch wurde der Blutzucker mittels des kolorimetrischen Verfahrens von *Folin* und *Wu* bestimmt, Aceton nach *Messinger-Huppert*, Glykogen in Mikro-modifikation prinzipiell nach *Pflüger*, Milchsäure nach *Clausen* mit Permanganattitration und Aminosäuren nach der kolorimetrischen Methode von *Folin* und *Wu*. Zugabe von Alanin macht keine Schwierigkeiten im chemisch-analytischen Verfahren, wie das vorauszusehen war. Dagegen ist bekannt, daß gleichzeitige Bestimmung von Milchsäure und Brenztraubensäure ohne vorherige Trennung nicht möglich ist. Es hat sich aber gezeigt, daß Zugabe von Brenztraubensäure zum Blute keineswegs die Milchsäurebestimmung stört, wenn diese nach der *Clausenschen* Methode durchgeführt wird. Brenztraubensäure wird nämlich mittels alkalischer Kupfersulfatlösung, welche Lösung bekanntlich bei der *Clausenschen* Methode zur Entfernung von Glykose angewandt wird, gefällt, so daß zur quantitativen Milchsäurebestimmung neben Brenztraubensäure das Verfahren von *Clausen* sehr geeignet ist und die ältere mühsame Trennung der beiden Säuren durch Extraktion und Isolierung nach *Embden* übertrifft (siehe dazu *Aberhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod.*, Ab. I, Teil VI). Dagegen hat sich mir und meinem Assistenten, Ing. *Drahovzal*, der einen Teil der Analysen durchgeführt hat, keine der angegebenen Methoden zur Bestimmung der Brenztraubensäure (nach *Simon* und *Piauz*, *Simon* und *Abel* oder Reduktion mittels Zink und nachher *Clausensche* Mikromethode) bei kleinen Mengen von Blut als genügend quantitativ erwiesen. Auch mannigfaltige Versuche, die hohe Reaktivität der Brenztraubensäure zum analytischen Verfahren zu benutzen, sind erfolglos geblieben, so daß von einer quantitativen Bestimmung von Brenztraubensäure Abstand genommen werden mußte.

Aus den Daten der sechs Versuche geht deutlich hervor, daß Zugabe von dl-Alanin oder Brenztraubensäure zur Durchblutungsflüssigkeit der pankreasdiabetischen Hundeleber nicht zur Bildung der Milchsäure führt, wie das der Fall bei normaler überlebender Hundeleber ist. Damit ist die alleinstehende Tatsache, daß diabetische Leber aus Glykose Milchsäure nicht bilden kann, erweitert.

Daneben war in drei Versuchen auch beobachtet worden, daß Alanin, wenn es der Durchblutungsflüssigkeit zugegeben ist, rasch verschwindet und sich in der Leber schon in den ersten Minuten des Versuchs anhäuft. Das geht mit Sicherheit daraus hervor, daß die Analyse des Blutes, durchgeführt sofort nach Durchmischen des Blutes

Tabelle.

Nr.	Datum	Gewicht des Hündes	Wieviel Tage nach der Pankreas- extirpation	Gewicht der Leber		Durchblutungsflüssigkeit	Blut- entnahme aus dem Apparat Min.	Milch- säure auf 100 cem Blut mg	Blut- zucker auf 100 cem Blut mg	Aceton auf 100 cem Blut mg	Amino-N auf 100 cem Blut mg
				vor der Durch- blutung g	nach der Durch- blutung g						
1	1. II.	14,7	3	433	836	1500 cem Rinderblut + 7,5 g Alanin in 50 cem Ringerlösung	10 40 85	21,2 21,1 21,4	181 174 200	1,4 5,7 17,0	6,3 5,7 5,7
2	2. III.	8,0	4	297	562	1000 cem Rinderblut + 5 g Alanin in 50 cem Ringerlösung	10 40 80	32,6 27,4 27,2	152 285 333	1,6 — 5,3	8,75 8,75 8,75
3	23. III.	18	3	408	826	1300 cem Rinderblut + 200 cem Ringerlösg. + 5 g Alanin	10 40 75	29,1 28,4 28,2	180 200 221	1,3 — 3,0	18,2 18,2 18,2
4	19. III.	13	4	418	630	1750 cem Rinderblut + 5 g Brenztraubensäure (neutralisiert mit Soda)	10 40 70	27,6 28,6 24,2	192 242 266	4,3 — 10,6	— — —
5	23. IV.	25	3	561	968	1500 cem Rinderblut + 5 g Brenztrauben- säure	10 40 70	35,7 23,2 24,6	133 181 222	3,3 — 19,2	— — —
6	26. IV.	20	4	577	980	2000 cem Rinderblut + 5 g Brenztrauben- säure	10 40 70	30,6 34,5 29,7	181 330 330	4,0 — 13,6	— — —

mit Alaninlösung, ohne in den Durchblutungsapparat eingegossen worden zu sein, die berechnete Menge nachgewiesen hat; dagegen sind die Werte für Blut nach 10 Minuten langer Zirkulation erheblich kleiner. Das steht im Einklang mit *Rosenbaum*, der das rasche Verschwinden der Aminosäuren aus dem Blute am ganzen Tiere bei Injektion von Aminosäuren beobachtete. Auch die überlebende Leber saugt die im Blute zirkulierenden Aminosäuren rasch auf. Beim Zucker ist das Verhalten anders, wie frühere Versuche gezeigt haben. So bildet die letzte Beobachtung eine neuerliche Erweiterung der *Embdenschen* Befunde, wo die Konzentration des Alanins nicht bestimmt worden war.

Drittens sind die in diesen Versuchen beobachteten Acetonwerte ganz niedrig. Es sind zwar die Acetonwerte in überlebender Hundeleber wegen einer Reihe von Umständen nur mit großer Vorsicht zu beurteilen, die zum Teil sicher auch von der Methodik abhängen, aber trotzdem kommt die ketogene Fähigkeit der diabetischen Hundeleber zur Erscheinung. Wenn sie ausgeblieben ist, heißt das, daß Alanin und Brenztraubensäure ihre antiketogenen Eigenschaften auch in diesem Falle beibehalten haben. Das ist ein Zeichen dafür, daß beide Substanzen auch in den intermediären Stoffwechsel von pankreasdiabetischer Leber eingreifen, aber bei ihrer Zersetzung einen anderen Weg einschlagen als zur Bildung von Milchsäure.

Es erübrigt sich, auf die Bedeutung des intermediären Stoffwechsels von Brenztraubensäure und Alanin hier einzugehen, da das von autoritativer Seite durch *C. Neuberger* und *Gottschalk* im Handbuch der Biochemie vor kurzem geschehen ist. Es soll aber mit Nachdruck betont werden, besonders für die Deutung der Insulinwirkung, daß der intermediäre Stoffwechsel der diabetischen Leber von dem der normalen sehr verschieden ist, wie aus meinen vorherigen und auch aus diesen Versuchen klar zu ersehen ist.

Zusammenfassung.

1. In überlebender diabetischer Hundeleber wandeln sich zugesetztes dl-Alanin und Brenztraubensäure nicht in Milchsäure um, wie das der Fall bei normaler Leber ist.

2. Bei dieser Versuchsanordnung zeigen beide Substanzen anti-ketogene Wirkung.

3. Der Durchblutungsflüssigkeit zugesetztes Alanin ist in wenigen Minuten vom Leberparenchym resorbiert.

4. Milchsäure neben Brenztraubensäure kann mit Vorteil mittels *Clausenscher* Methode bestimmt werden.

Literatur.

Emlden und *Oppenheimer*, diese Zeitschr. **45**, 186, 1912. — *Emlden* und *Kraus*, ebendasselbst **45**, 1, 1912. — *Emlden* und *Oppenheimer*, ebendasselbst **55**, 335, 1913. — *Emlden* und *Isaac*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **99**, 297, 1917. — *Simon* und *Piaux*, Bull. Soc. Chim. Biol. VI, S. 476. — *Simon* und *Aubel*, ebendasselbst VI, S. 425. — *Otani*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **148**, 229. — *Tomita*, diese Zeitschr. **116**, 15, 1921. — *Czapski*, ebendasselbst **71**, 167, 1915. — *Rosenbaum*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **42**, 434. — *Laufberger*, ebendasselbst, I. Mitt. **42**, 570; II. Mitt. **50**, 754. — *Neuberg* in *Oppenheimers Handb. d. Biochem.* **9**, 442, 1924.

Über die Cytolyse der Gewebszellen.

Von

Vilém Laufberger.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Masaryk-Universität in Brünn.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1926.)

Gelegentlich der Untersuchungen über den Mechanismus der cytolytischen Reaktion der Krebszellen mittels Normalserums, welche bekanntlich vor mehreren Jahren durch *Freund* und *Kaminer* und durch *C. Neuberg* entdeckt wurde, stießen wir auf die Notwendigkeit, die Cytolyse der Krebszellen mit der von Normalzellen zu vergleichen. Dabei hat sich gezeigt, daß die Cytolyse der normalen Gewebszellen nicht bekannt ist bzw. sich nicht experimentell erreichen läßt. Wohl ist aber die Hämolyse, Bakteriolyse und Autolyse in zahlreichen Arbeiten behandelt worden.

Die Beständigkeit der Gewebszellen ist verwunderlich groß. Wenn man sich eine Suspension von Gewebszellen bereitet, in welcher die Zellen isoliert sind, also losgelöst aus Gewebsverbindung, aber mit erhaltener cytologischer Struktur, hält sich diese je nach der Jahreszeit bis mehrere Wochen lang. Der Suspension muß 0,3 proz. Trikresol zur Verhütung des Fäulnisprozesses zugesetzt werden. Erst nach dieser Zeit kommt es zur allmählichen spontanen Auflösung der Zellen infolge der Autolyse. Ganze Gewebe, wenn unter aseptischen Kautelen aufbewahrt, zeigen dasselbe Verhalten, wie es die Erfahrungen des täglichen Lebens lehren.

Die Erscheinung der Cytolyse läßt sich unter dem Mikroskop gut beobachten. In frischer Suspension sind die Zellen in allen Details ihrer cytologischen Struktur schön sichtbar. Nachdem sich die Zellen gelöst haben, sehen wir im Mikroskop entweder gar nichts oder nur Zellreste in Form von sogenanntem Detritus. Diese Erscheinung kann man in der Zählkammer, die zur Zählung der roten Blutkörperchen benutzt wird, quantitativ verfolgen. Wir haben nun gefunden, daß man die Cytolyse der Normalzellen experimentell immer erzeugen kann, wenn man die Zellen mit verdünnter Cyankaliumlösung vermischt.

Die *Technik* ist folgende: Aus der menschlichen Leiche wird eine Niere genommen und mit einem gewöhnlichen Messer fein geschabt. (Die Verwendung der Fleischhackmaschine ist nicht so ökonomisch.) Dann wird das zerkleinerte Organ durch feste Leinwand gepreßt, verdünnt mit 0,6proz. Kochsalzlösung. Durch die Leinwand dringen nur isolierte Zellen, welche dann wiederholt zentrifugiert und mit genannter Kochsalzlösung gewaschen werden, bis die darüberstehende Flüssigkeit nicht mehr rot gefärbt ist. Dann wird zur Erreichung der 0,3proz. Konzentration Trikresol zugesetzt. Die Suspension wird dann mit Kochsalzlösung so weit verdünnt, daß ihre Zählung in der Zählkammer von *Sahli* oder einer anderen bequem möglich ist. In kleinen Reagenzgläsern wird die verdünnte Zellsuspension mit der betreffenden Untersuchungsflüssigkeit gemischt und nach der Auszählung 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehengelassen, bis die zweite Zählung durchgeführt wird.

Die Zellen können nun entweder alle gelöst werden oder nur zum Teil, was wir in Prozenten ausdrücken. Der Ausfall hängt sehr von den einzelnen Zellemlösungen ab; die eine löst sich mehr, die andere weniger. Ein in dieser Weise durchgeführter Versuch zeigt, daß $\frac{1}{2}$ Proz. Cyankalium nach 24 Stunden durchschnittlich 60 bis 100 Proz. der Zellsuspension löst. Bei längerem Verweilen der Zellen in der untersuchten Lösung schreitet die Cytolyse nicht mehr oder nur ein wenig fort. Wenn man statt bei Zimmertemperatur den Versuch im Thermostat durchführt, ist die Cytolyse auch nicht bedeutend höher. Maßgebend ist die Konzentration der Blausäure. Auch $\frac{1}{4}$ bis 10proz. Konzentration löst die Zellen, und zwar manchmal etwas besser als die halbprozentige Lösung; das hängt von der Zubereitung der Zellsuspension, von der Qualität des Blausäurepräparats, hauptsächlich aber von der Natur der Zellen ab. Im Durchschnitt ist aber die Konzentration von $\frac{1}{2}$ bis 2 Proz. die beste.

Carcinomzellen werden durch Blausäure nicht zerstört, ebenso nicht die Bäckerhefe und einige untersuchte Bakterien, Embryonalzellen werden dagegen gelöst.

Auch löst die Blausäure verschiedene Gewebszellen: Leber-, Nieren-, Pankreas-, Gehirnzellen. Systematische Untersuchungen mit Rücksicht auf verschiedene Strukturfestigkeit mittels dieser Reaktion werden später mitgeteilt werden.

Die beobachtete Erscheinung ist nun aber nicht eine einfache Zerstörung der Zellen. Um den Grund hierfür zu erforschen, haben wir eine Reihe von Substanzen untersucht. Zuerst konnte es sich bei dieser Erscheinung um Quellung oder Entquellung der Zellen handeln. Destilliertes Wasser, hypertonsche und hypotonische Kochsalzlösungen lösen die Zellen nicht. Weiter wurden verschiedene Säuren untersucht, und zwar in der Konzentration, bei welcher sie maximale Quellung herbeiführen. Betreffende Daten sind der Arbeit von *Kuhn* entnommen.

Es wurden untersucht: 0,3 n Ameisensäure, 0,04 n Oxalsäure, 0,08 n Weinsäure, 0,02 n Maleinsäure.

Nachdem wurden Narkotica untersucht: Chloroform, Äther, Petroläther, konzentrierter Äthylalkohol, Methylalkohol, Amylalkohol lösen nicht. Nur Aceton in konzentrierter Lösung löst die Suspension auf.

Die Wirkung der Salze hat sich als negativ erwiesen; es wurden untersucht: Natriumchlorid, Calciumchlorid, Kaliumchlorid, Natriumsulfat, Kupfersulfat, Bariumchlorid, Nickelchlorid, Lithiumchlorid, Natriumbicarbonat, Natriumcarbonat, Natriumnitrit, Kaliumrhodanid, Ferricyanid.

Verschiedene Gifte: Adrenalin, Saponin, Atoxyl, Sublimat, Chinin. Arsensäure.

Verschiedene Stoffe: Glykose, Glykolsäure, Brenztraubensäure. Collargol. Alle Stoffe sind unwirksam.

Starke Säuren: Konzentrierte Salpetersäure, 20proz. Phosphorsäure, 20proz. Schwefelsäure sind unwirksam. Salzsäure bis 10 Proz. ist unwirksam, dann wirksam.

Laugen: n/10 Laugen sind wenig wirksam oder unwirksam, normale Laugen lösen die Zellen. Aus der Zahl von über 50 Substanzen haben sich als unspezifisch lösend erwiesen nur starke Laugen und Säuren und Aceton.

Pepsin und Trypsin lösen die Zellen auch. Man sieht also, daß die Gewebszellen verhältnismäßig sehr feste Struktur besitzen, und daß es nur durch besondere Maßnahmen gelingt, sie zu lösen. Das ist auch begreiflich, sonst wäre die Cytolyse der Gewebszellen nicht unbekannt geblieben.

Aus dem Gesagten sieht man, daß es sich um eine spezifische Reaktion handelt, bei der eine gewisse chemische Substanz auf tierische normale, nicht aber auf carcinomatöse Gewebszellen cytolytisch wirkt. Es ist mir nun der Gedanke gekommen, ob die eigentümliche Eigenschaft der Blausäure nicht vielleicht mit ihrer hohen Dielektrizitätskonstante in Zusammenhang steht. Nach *Landolt-Börnsteins* Tabellen hat Cyanwasserstoff etwa die Dielektrizitätskonstante 95. Die des Wassers ist bekanntlich 81. Nur Cyanwasserstoff und Formamid haben eine höhere DK als Wasser. Es ist nun bekannt, daß, je höher die DK, desto höher die Dissoziation. Auf die große Bedeutung der DK für biologische Fragen haben besonders *R. Keller*, *Reinhold Fürth* und *Hafner* aufmerksam gemacht. Aus den Untersuchungen *Fürths* ist bekannt, daß tierische Flüssigkeiten und Organe eine besonders hohe Dielektrizitätskonstante besitzen. Man konnte sich nun vorstellen, daß die Struktur der Zellen nur in einem Medium haltbar ist, dessen DK nicht viel die des Wassers überschreitet. Von dieser Arbeitshypothese geführt, habe

ich Formamid in der Konzentration von 0,2 bis 1,0 Proz. untersucht und gefunden, daß auch dieser Stoff die Zellen zerstört. Die lytische Kraft des Formamids ist etwas kleiner und beträgt etwa 40 bis 55 Proz. der suspendierten Zellen. Die Dielektrizitätskonstante von Formamid ist > 84 . Die Frage ist aber nicht beantwortet, da wir die wirkliche DK der von uns benutzten Konzentration nicht kennen. Man wird aber kaum fehlgehen, wenn man voraussetzt, daß die DK des gelösten Cyankaliums und Formamids höher sein wird als die DK des Wassers, da beim Vermischen zweier Stoffe mit verschiedener DK die Mischung eine DK hat, welche sich nach der gewöhnlichen oder nach der logarithmischen Mischungsregel richtet.

Nun hat aber *Reinhold Fürth* mittels der zweiten *Drudeschen* Methode verschiedene Konzentrationen vom Saccharin untersucht und dabei folgende Zahlen gefunden:

Konzentration des Saccharins Proz.	Dielektrizitäts- konstante
$\frac{1}{10}$	84,0
$\frac{1}{4}$	89,5
$\frac{1}{2}$	86,0
1	77,0
2	72,5

Man sieht also, daß $\frac{1}{4}$ proz. Konzentration von Saccharin die höchste DK hat und die von Wasser überschreitet.

Der angestellte Versuch mit verschiedener Saccharinkonzentration hat gezeigt, daß in $\frac{1}{4}$ proz. Konzentration menschliche Nierenzellen tatsächlich von 37 bis zu 45 Proz. gelöst werden. Saccharin hat gewirkt nur in der Konzentration, bei welcher die DK höher als die des Wassers ist (beim Erwärmen steigt die DK des Wassers), dagegen haben Cyankalium und Formamid in allen nicht zu konzentrierten Lösungen ihre Lösungskraft gezeigt und wir setzen auch voraus, daß die DK in sämtlichen Konzentrationen dieser beiden Stoffe die DK des Wassers überschreitet. Dadurch läßt sich ein gewisser Zusammenhang mit der DK nicht leugnen, besonders wenn man bedenkt, daß nur ganz starke Laugen und Säuren imstande sind, Zellen zu zerstören, und daß die drei Substanzen alle wenigstens unter bestimmten Bedingungen eine Dielektrizitätskonstante besitzen, die höher ist als die des Wassers.

Weitere Untersuchungen, die den Mechanismus der hier entdeckten Cytolyse der Normalzellen aufklären sollen, sind teilweise beendet, teilweise noch im Gange, worüber später berichtet werden soll (siehe dazu folgende Mitteilung von *F. Hora*).

Zusammenfassung.

Wenn man eine Suspension von normalen Gewebszellen mit verdünntem Cyankalium oder Formamid oder $\frac{1}{4}$ proz. Saccharin vermischt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen läßt, werden die Zellen zum größten Teil cytolysiert.

Es wird auf den Zusammenhang dieser Erscheinung mit erhöhter Dielektrizitätskonstante aufmerksam gemacht.

Literatur.

Freund und *Kaminer*, Biochemische Grundlagen der Disposition für Carcinom. Berlin 1925. — *R. Keller*, Elektrizität der Zelle 1926. — *Hafner*, Biologie und Dielektrizitätskonstante. *Ergebn. d. Physiol.* **24**, 566. — *Kuhn*, *Kolloidchem. Beihefte* **14**, 147.

Über die Bedingungen der Gewebscytolyse.

Von

Franz Hora.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Masaryk-Universität in Brünn.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1926.)

Mit 19 Abbildungen im Text.

Wie aus vorstehender Mitteilung von *Laufberger* zu ersehen ist, löst KCN, Formamid und Saccharin Zellen von menschlichen Organen, die nach der Methode von *Freund-Kaminer* präpariert wurden.

Die lösende Wirkung der genannten Stoffe ist an folgende drei Bedingungen gebunden: es muß eine bestimmte Konzentration, ein passendes Medium und eine richtige Zellemlusion dazu gewählt werden.

Die lytischen Stoffe selbst wirken nur bei bestimmter Konzentration und die Auflösung der Zellen geht nicht mit steigender Konzentration der lytischen Stoffe parallel, sondern die lytische Kurve zeigt Maxima und Minima. Diese Schwankungsdifferenzen bewegen sich nicht in den Grenzen von einigen Prozenten, sondern der Stoff — z. B. KCN, welcher in 0,5proz. Konzentration die Zellen mit 100 Proz. auflöst — ist bei 4proz. Konzentration, also einer viel höheren, unwirksam oder fast unwirksam. Siehe die Kurve der Auflösung der Zellen bei steigender Konzentration der lytischen Stoffe und auch die dazugehörige Tabelle.

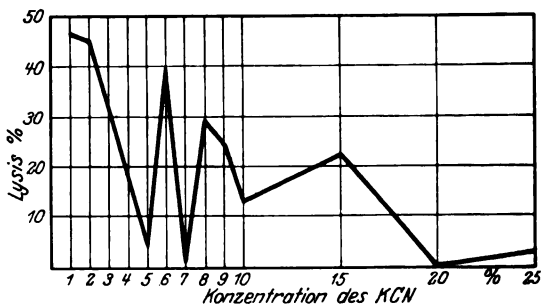


Abb. 1.

Die lytische Kurve des KCN in Konzentrationen von 1 bis 25 Proz.

Tabelle I.

Auflösung der Zellen mit 1- bis 25proz. KCN.

Zellemlusion Tropfen	5 Tropfen KCN Proz.		Nach 16 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	1	70	43	39	41*	42	28*	58	46,5
1	2	53	30	45	30	45	30	45	45
1	4	56	46	17	48	14	41	26	20
1	5	53	51	4	55**	θ	47**	11,2	5
1	6	49	34	31	28*	43	28	43	39
1	7	47	47	θ	51**	θ	45	4	1
1	8	72	58	19,5	51	28	44	40	29,5
1	9	53	37	30	42	20,5	41	22	24
1	10	57	45	20,5	51	11	53**	9	13
1	15	51	40	22	41	20	37	28	23
1	20	45	49	θ	46	θ	46	"	θ
1	25	51	51	θ	51	θ	45	11	3,5

* Nur Schatten der Zellen
 ** Die Zellen sind ganz intakt } auch histologisch nachweisbar.

Tabelle II.

0,25- bis 10proz. KCN. Nierenzellen.

Zellemlusion Tropfen	5 Tropfen KCN Proz.		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	
1	0,25		42	21	50
1	0,5		39	2	96
1	1		42	4	47
1	2		24	10	58
1	3		28	12	62
1	4		18	24	θ
1	5		34	28	17
1	10		39	24	38,5

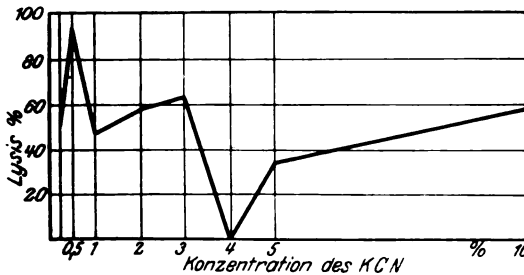


Abb. 2.

Die lytische Kurve des KCN in Konzentrationen von 0,25 bis 10 Proz.
 Eine andere Zellemlusion.

Tabelle III.

Auflösung der Zellen mit 0,25-, 0,5- ... 100proz. Formamid.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Formamid Proz.		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0.25	34	27	19	23	31	25
1	0.5	31	30	2	33	0	1
1	1	46	37	20	30	35	26.5
1	2	41	27	34	30	27	30.5
1	3	40	25	38	28	30	34
1	4	41	31	24	32	20	22
1	5	42	19	55	23	45	50
1	6	37	22	42	24	35	38.5
1	7	47	35	26	37	23	24.5
1	8	41	28	32	24	37	34.5
1	9	52	25	52	27	48	50
1	10	43	24	45	23	35	40
1	15	37	25	31	27	27	29
1	25	42	35	16	33	20	18
1	50	43	44	0	44	0	0
1	100	58	60	0	61	0	0

Die lytische Kurve des Formamids in Konzentrationen von 0,25 bis 100 Proz.

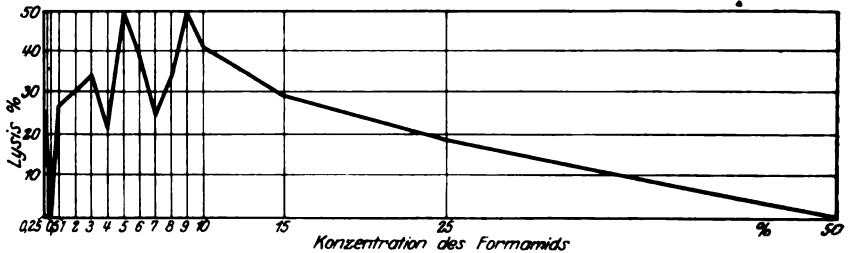


Abb. 3.

0,05- bis 0,25proz. Saccharin. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	0,25proz. Saccharin Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	35	19	48
1	3	3	52	21	52
1	5	0	52	30	38

0,25- bis 0,5proz. Saccharin. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	0,5proz. Saccharin Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	3	3	68	32	52
1	6	—	50	49	0

0,2proz. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	1proz. KCN Tropfen	0,6proz. NaCl Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	42	16	69

0,5proz. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	1proz. KCN Tropfen	0,6proz. NaCl Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	3	3	53	1	98

Da muß gleich gesagt werden, daß viel von der Zellemulsion abhängt. Trotzdem ich mit denselben Organen arbeitete, im Anfang waren es die Leberzellen, später und meistens die Nierenzellen, war die Auflösung der Zellen nicht gleich. Erstens erreichte die Lysis die 100proz. Höhe nur manchmal; am meisten schwankte sie zwischen 40 bis 80 Proz. Dann waren auch die Minima und Maxima der Lysis bei derselben Konzentration der lytischen Stoffe nicht an derselben Stelle (siehe die Tabellen I und II). Weil aber trotzdem die Unterschiede der Zellenlyse bei Zellen derselben Organe nicht so groß waren, verschob ich die Frage, wie die einzelnen Organe in der Auflösung mit KCN, Formamid und Saccharin sich voneinander unterscheiden auf spätere Zeit und wandte meine Aufmerksamkeit darauf, wie das Medium auf die lytische Kraft von KCN und Formamid wirkt.

Zuerst habe ich mich überzeugt, ob ein Unterschied besteht, wenn KCN in destilliertem Wasser oder physiologischer Lösung wirkt. Es hat sich gezeigt, daß KCN in physiologischer Lösung viel schwächer wirkt. Aber man kann auch sagen, daß in physiologischer Lösung KCN höher konzentriert sein muß, um wirksam zu werden. 0,05proz. KCN-Lösung wirkt in destilliertem Wasser mit 52 Proz., in 0,6proz. NaCl ist dieselbe KCN-Lösung fast unwirksam (2 bis 4 Proz., Tabellen IV

Tabelle IV.

Auflösung der Zellen mit 0,05- bis 2proz. KCN in H₂O.

Zellemulsion Tropfen	1 Tropfen KCN Proz.	H ₂ O Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	0,25	5	45	22	52
1	0,5	5	34	12	64
1	1	5	26	1	97
1	2	5	36	2	93
1	3	5	25	#	100
1	4	5	25	#	100
1	5	5	36	1	96
1	10	5	26	2	93

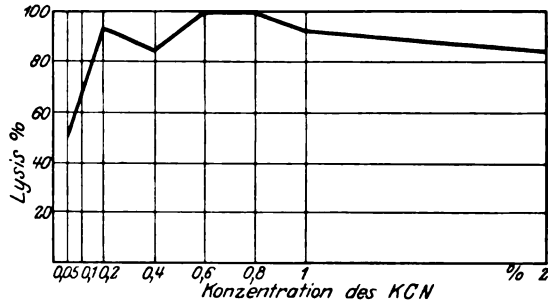


Abb. 4.

Lytische Kurve des KCN in Konzentrationen von 0,05 bis 2 Proz. in destilliertem Wasser.

Tabelle V.

Auflösung der Zellen mit 0,05- bis 2proz. KCN in physiologischer Lösung.

Zellemulsion Tropfen	1 Tropfen KCN Proz.	0,6 proz. NaCl Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	0,25	5	30	30	0
1	0,5	5	22	Agglutination	—
1	1	5	49	"	—
1	2	5	40	1	97
1	3	5	35	0	100
1	4	5	29	4	90
1	5	5	35	2	94
1	10	5	20	3	90

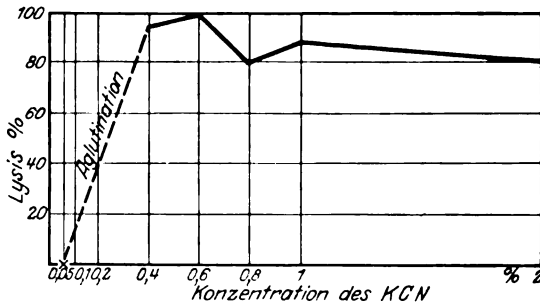


Abb. 5.

Lytische Kurve des KCN in Konzentrationen von 0,05 bis 2 Proz.

und V). Diese Tatsache konnte *nur so erklärt werden*, daß Zugabe des 0,6proz. NaCl zum Wasser die lytische Wirkung des KCN hemmt.

Ich habe nunmehr erwartet, daß Zugabe verschiedener Stoffe auch verschiedenen Einfluß auf die Wirksamkeit des KCN haben wird. Ich habe also zu dem optimal wirkenden KCN solche Stoffe zugegeben, von denen ich mich früher überzeugt hatte, daß sie die Zellen nicht

lösen. Da zeigte sich eine interessante Tatsache, daß Zugabe von indifferenten Stoffen die auflösende Wirksamkeit des KCN hemmt, wie aus folgenden Tabellen zu ersehen ist.

Oxalsäure. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	1proz. Oxal- säure	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Lysis
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			Proz.
1	1	5	1	40	38	θ
1	1	1	5	24	26	θ

Glykose. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	1proz. Glykose	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Lysis
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			Proz.
1	1	5	1	31	33	θ
1	1	1	5	30	23	θ

CHCl₃. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	1proz. CHCl ₃	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Nach 48 Stdn.
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			
1	1	5	1	44	40	39
1	1	1	5	26	26	29

Ac. arsenicum. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	Ac. arsenic.	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Lysis
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			Proz.
1	1	5	1	20	21	θ
1	1	1	5	17	18	θ

Sublimat. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	1proz. Sublimat	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Lysis
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			Proz.
1	1	5	1	29	28	θ
1	1	1	5	23	24	θ

Adrenalin. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion	1proz. Adrenalin	0,6proz. Na Cl	1proz. KCN		Nach 24 Stdn.	Lysis
Tropfen	Tropfen	Tropfen	Tropfen			Proz.
1	1	5	1	42	43	θ
1	1	1	5	41	40	θ

Rhodanid. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	1 proz. Rhodanid Tropfen	0,6 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	1	41	40	θ
1	1	1	5	39	41	θ

Bernsteinsäure. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 Bernsteinsäure Tropfen	0,6 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	θ	1	46	43	6
1	1	5	1	33	36	θ

NaCl. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	1 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen			Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	57	23	58
1	5	θ	—	51	52	—

Bernsteinsäure. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/20 Bernsteinsäure Tropfen	0,6 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	θ	1	43	38	12
1	1	5	1	38	Agglutination	Agglutination

Kontrollen.

Zellemulsion Tropfen		0,6 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	—	5	1	34	7	75
1	—	5	θ	30	33	—

Bernsteinsäure. KCN. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/50 Bernsteinsäure Tropfen	0,6 proz. NaCl Tropfen	1 proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	θ	1	33	21	37
1	1	5	1	56	θ	100

Diesen hemmenden Einfluß auf 1 proz. KCN (nach Verdünnung mit 5 Tropfen 0,6 proz. NaCl und 1 Tropfen der indifferenten Stoffe eigentlich 0,2 Proz.) haben: 1 proz. Oxalsäure, Chloroform, Glykose,

Acidum arsenicum, Adrenalin, Sublimat, Rhodanid und n/10 Bernsteinsäure, dagegen hemmten 1proz. NaCl und n/50 Bernsteinsäure nicht. Und weil auch bei der Lysis der Carcinomzellen Zugabe der jetzt genannten und anderer indifferenten Stoffe zu der wirksamen Lösung diese unwirksam machte, begnügte ich mich mit diesen acht Stoffen und suchte, warum 1proz. NaCl nicht hemmte. Da hat sich gezeigt, daß ich eine zu schwache Konzentration des NaCl wählte, weil die Normallösungen aller Salze, welche ich genommen habe, und zwar: NaCl, NaNO₂, NaHCO₃, Na₂SO₄, KCl, CuCl₂, BaCl₂, LiCl bei gleicher Zugabe zu KCN, dieses in seiner Wirksamkeit hemmen. Die n/10 Lösungen dieser Salze hemmen nicht, sondern es erfolgt bei dieser Konzentration die Auflösung der Zellen. Die Auflösung der Zellen in 1proz. KCN bei Gegenwart von n/10 Lösungen der oben genannten Salze ist fast gleich, nämlich 66 bis 71 Proz., nur bei LiCl betrug sie 14 Proz. BaCl₂ und CuCl₂ eignen sich nicht gut, weil ein Niederschlag entsteht, der die Zählung erschwert. Dasselbe hat sich auch bei Formamid gezeigt, nur die Auflösung der Zellen bei Gegenwart von n/10 Salzlösungen war nicht so hoch und gleichmäßig. Bei BaCl₂ betrug sie 37 Proz., bei CaCl₂ 55 Proz., bei KCl 38 Proz., bei Na₂SO₄ 10 Proz., bei NaHCO₃ 55 Proz., bei Na₂SO₄ 34 Proz., bei LiCl 42 Proz., bei NaCl 54 Proz.

n NaNO₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n NaNO ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	36	35	—
1	5	1	—	31	29	—
1	5	—	1	39	37	—

n/10 NaNO₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 NaNO ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	45	15*)	66
1	5	—	1	41	27**)	34

*) Nur Schatten der Zellen. — **) Die Zellen sind intakt.

n KCl. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n KCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	28	27	—
1	5	1	—	26	26	—
1	5	—	1	26	25	—

n/10 KCl. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 KCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	28	9	68
1	5	—	1	26	19	38

n NaHCO₃. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n NaHCO ₃ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	32	23	—
1	5	1	—	26	25	—
1	5	—	1	30	30	—

n/10 NaHCO₃. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 NaHCO ₃ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	36	3	71
1	5	—	1	36	17	55

n CaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n CaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	20	Agglutination	Agglutination
1	5	1	—	Ndschl. 28	Niederschlag	Niederschlag
1	5	—	1	31	28	—

n/10 CaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 CaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	41	Niederschlag	Niederschlag
1	5	—	1	27	30	—

n Na₂SO₄. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n Na ₂ SO ₄ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	39	37	—
1	5	1	—	43	41	—
1	5	—	1	39	30	—

n/10 Na₂SO₄. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 Na ₂ SO ₄ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	55	16	71
1	5	—	1	34	30	10

n BaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	<i>n</i> BaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	19	20	—
1	5	1	—	Ndschl. 25	Niederschlag 25	Agglutination
1	5	—	1			—

n/10 BaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	<i>n</i> /10 BaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	Ndschl.	Niederschlag	Niederschlag
1	5	—	1	25	16	37

n NaCl. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	<i>n</i> NaCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	29	29	—
1	5	1	—	24	25	—
1	5	—	1	33	31	—

Kontrollen.

Zellemulsion Tropfen	0,6proz. NaCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	34	32	—
1	5	1	—	23	11	52
1	5	—	1	33	15	59

n CaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	<i>n</i> CaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	—	—	26	29	—
1	5	1	—	26	Agglut nat.(16)	—
1	5	—	1	22	23	—

n/10 CaCl₂. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	<i>n</i> /10 CaCl ₂ Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	5	1	—	26	10	66
1	5	—	1	36	17	55

n LiCl. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n LiCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.		Lysis Proz.
1	5	—	—	48	55	—	—
1	5	1	—	38	37	—	—
1	5	—	1	35	33	—	—

n/10 LiCl. 1proz. KCN. 1proz. Formamid. Nierenzellen.

Zellemulsion Tropfen	n/10 LiCl Tropfen	1proz. KCN Tropfen	1proz. Form. Tropfen		Nach 24 Stdn.		Lysis Proz.
1	5	1	—	36	31	14	—
1	5	—	1	35	20	42	—

Diese hemmende Wirksamkeit der normalen Salzlösungen, welche so eng mit der Konzentration verbunden ist, war nicht so merkwürdig, wie folgende Tatsache: Wenn man die Zellen in eine hemmende Lösung von Salzen und anderer indifferenten Stoffe gibt und erst nach 24 Stunden KCN zusetzt, ist ihre hemmende Wirkung fast erloschen (siehe folgende Tabellen).

1proz. Adrenalin. 1proz. KCN nach 24 Stunden. Nierenzellen.

Zell- emulsion Tropfen	1proz. Adrenalin Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	30	31	+ 1	20	33
1	5	1	30	32	+ 1	15	52

1proz. Oxalsäure. 1proz. KCN. Nierenzellen.

Zell- emulsion Tropfen	1proz. Oxalsäure Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	16	18	+ 1	11	40
1	5	1	17	19	+ 1	9	52

1proz. Glykose. 1proz. KCN. Nierenzellen.

Zell- emulsion Tropfen	1proz. Glykose Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	38	34	+ 1	11	68
1	5	1	20	24	+ 1	9	62

1proz. Rhodanid. 1proz. KCN. Nierenzellen.

Zell- emulsion Tropfen	1proz. Rhodanid Tropfen	0,6proz. Na Cl Tropfen		Nach 24 Stdn.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	1	5	18	20	+ 1	14	30
1	5	1	19	21	+ 1	16	27

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen		Nach 24 Stdn.	Zugabe des 1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.
1	n NaHCO ₃	32	28	1	16	38
1	n Na ₂ SO ₄	39	37	1	23	38
1	n KCl	28	27	1	13	52
1	n CaCl ₂	20	Agglutination	1	Agglutination	
1	n BaCl ₂	19	20	1	11	45
1	n CaCl ₄	26	29	1	Lysis mit Agglutination	
1	n NaCl	29	29	1	18	38,5
1	n LiCl	48	55	1	33	40

Aus dem Gesagten sieht man, daß neben der Konzentration der aktiven Stoffe und dem Medium, in welchem der Stoff wirkt, auch der Zeitpunkt der Zusetzung wichtig ist. Diese Erkenntnisse gelten auch für die Auflösung der Carcinomzellen, wie später publiziert werden wird.

Jetzt war noch zu bestimmen, in welcher Konzentration die Stoffe die Auflösung der Zellen zu hemmen beginnen. Als lytischen Stoff wählte ich KCN und als hemmende Substanz nahm ich Salze und in einem Falle Glykose. Die Versuche waren so angeordnet, daß zu den Salzlösungen in steigender Konzentration immer dieselbe Konzentration des KCN zugegeben wurde. Von den Salzen wurden NaCl, KCl, NaNO₂, Na₂SO₄, LiCl geprüft und zur Vergleichung Glykose. Die Salze in Konzentration von 0,2 Proz. bis n Lösung, KCN in Konzentration von 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4 Proz. Da hat sich gezeigt, daß hier die Höhe der Konzentration des Salzes nicht maßgebend ist. Wenn man die Tabellen betrachtet, sieht man, daß die Salze in sehr niedrigen Konzentrationen hemmen, während zehnmal höhere Konzentrationen diese hemmende Wirksamkeit nicht haben. Wenn man die Versuche graphisch ausdrückt, und zwar so, daß man auf die Ordinate die steigenden Konzentrationen der Salze und auf die Abszisse die Größe der Zellenlyse setzt, zeigen die so entstandenen Kurven wieder große Schwankungen. Nur bei schwacher Konzentration des aktiven Stoffes (0,05proz. KCN) sinkt die Auflösung der Zellen bei steigender Konzentration der Salze allmählich herab.

0,6- bis 3proz. NaCl. 0,05proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen NaCl Proz.	0,25proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,6	1	41	13	70	8	83	76
1	1	1	24	14	42	Agglutinat.	—	—
1	1,5	1	30	18	42	12	62	50
1	2	1	35	26	25	19	45	35
1	2,5	1	27	28	θ	17	40	20
1	3	1	32	34	θ	32	θ	θ

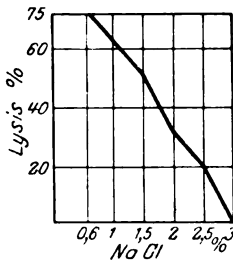


Abb. 6.

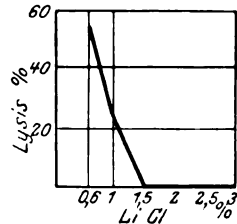


Abb. 7.

0,3- bis 2,5proz. LiCl. 0,05proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen LiCl Proz.	0,25proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	21	24	θ	10	52	26
1	0,6	1	33	37	θ	29	12	6
1	1	1	26	27	θ	30	θ	—
1	1,5	1	23	28	θ	26	θ	—
1	2	1	21	21	θ	23	θ	—
1	2,5	1	20	19	θ	24	θ	—

Am meisten zeigen die Kurven Minima und Maxima. Unter den 72 Versuchen können drei hauptsächliche Typen unterschieden werden:

1. Die Auflösung der Zellen ist bei niedriger Konzentration des Salzes schwach, bei steigender Konzentration steigt sie auch, erreicht ihr Maximum und sinkt allmählich herab (Na₂SO₄, KCN, 0,1proz. Glykose, 0,1proz. KCN).

0,3- bis 3proz. Na₂SO₄. 0,1proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Na ₂ SO ₄ Proz.	0,5proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	51	57	—	49	3,5	2
1	1	1	45	43	4	43	4	4
1	1,5	1	48	36	25	33	31	28
1	2	1	49	39	20	41	16	18
1	2,5	1	43	49	0	43	0	0
1	3	1	44	46	0	45	0	0

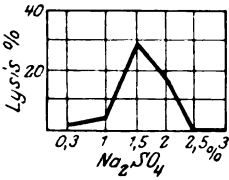


Abb. 8.

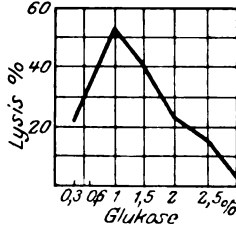


Abb. 9.

0,3- bis 3proz. Glucose. 0,1proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Glucose Proz.	0,5proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	38	29	20	28	25	22,5
1	0,6	1	39	27	31	27	31	31
1	1	1	36	17	52	17	52	52
1	1,5	1	31	20	36	17	45	40,5
1	2	1	20	15	25	16	22	23,5
1	2,5	1	17	50	0	31	33	16,5
1	3	1	35	37	0	33	6	3

2. Die Kurve zeigt mehrere Minima und Maxima, bevor die total hemmende Wirkung eintritt. Aber der Charakter der Kurve bleibt auch bei der wiederholten Zählung nach 48 Stunden derselbe (NaCl—KCN 0,1, 0,4 Proz., NaNO₃—KCN 0,2, 0,4, 0,8 Proz., Na₂SO₄—KCN 0,6 Proz., KCl—KCN 0,1, 0,2, 0,4 Proz., LiCl—KCN 0,4, 0,8 Proz., Glykose—KCN 0,4 Proz.)

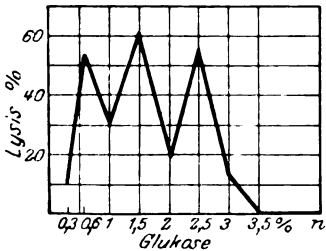


Abb. 10.

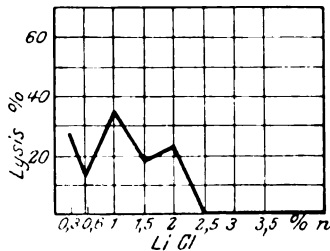


Abb. 11.

Glykose, 0,3proz. bis n Lösung. 0,4proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Glykose Proz.	2proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.		Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.		Mittel Proz.
1	0,3	1	28	30*	θ	21	22	11
1	0,6	1	37	19	49,5	16	58	54
1	1	1	32	22	31,0	23	28	29,5
1	1,5	1	41	17	58,0	17	58	58
1	2	1	26	21	19,0	21	19	19
1	2,5	1	22	12	45,0	8	65	55
1	3	1	28	29	θ	20**	28	14
1	3,5	1	22	25	θ	22	θ	θ
1	n	1	23	27	θ	27	θ	θ

*) Nur Schatten der Zellen. — **) Die Zellen sind intakt.

0,3- bis 4proz. LiCl. 0,4proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen LiCl Proz.	2proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.		Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.		Mittel Proz.
1	0,3	1	28	20	28	20	28	28
1	0,6	1	30	27	10	25	16	13
1	1	1	38	25	34	25	34	34
1	1,5	1	28	22	21	24	14	17
1	2	1	24	19	21	18	25	23
1	2,5	1	25	26	θ	30	θ	θ
1	3	1	24	24	θ	27	θ	θ
1	3,5	1	22	28	θ	22	θ	θ
1	4	1	26	26	θ	26	θ	θ

Na₂SO₄, 0,3proz. bis n Lösung. 0,6proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Na ₂ SO ₄ Proz.	3proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.		Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.		Mittel Proz.
1	0,3	1	61	36	40	35	47	43,5
1	0,6	1	48	34	28	28	42	35
1	1	1	48	32	33	37	22,5	28
1	1,5	1	52	28	47	33	36,5	42
1	2	1	37	24	35	28	24	33,5
1	2,5	1	41	32	31	32	21	21
1	3	1	34	24	28	25	26	27
1	3,5	1	29	30	θ	31	θ	θ
1	4	1	29	32	θ	33	θ	θ
1	n	1	20	19	θ	24	θ	θ

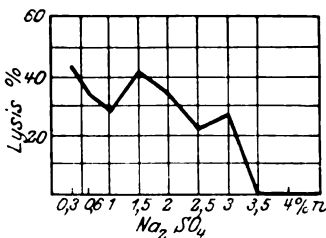


Abb. 12.

3. Die Kurve zeigt auch mehrere Minima und Maxima, aber der Charakter der Kurve ist nach 48 Stunden ein anderer, weil einige von den Konzentrationen des Salzes, welche hemmten, diese Wirksamkeit verlieren. Man kann also sagen, daß solche Konzentrationen der Salze nicht hemmen, sondern nur

die Wirksamkeit des KCN verzögern (NaCl—KCN 0,6 Proz., NaNO₃—KCN 0,05 Proz., Na₂SO₄—KCN 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 Proz., KCl—KCN 0,6, 0,8 Proz., LiCl—KCN 0,1, 0,2, 0,6 Proz., Glykose KCN 0,05 Proz., 0,2, 0,6 Proz.)

Na₂SO₄, 0,3proz. bis n Lösung. 0,2proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Na ₂ SO ₄ Proz.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	48	42	12	41	14
1	0,6	1	47	38	19	38	19
1	1	1	35	34	4	36	2
1	1,5	1	44	39	15	35	20
1	2	1	55	38	31	36	34,5
1	2,5	1	40	32	20	34	16
1	3	1	49	59	0	31	37
1	3,5	1	33	36	0	27	18
1	n	1	33	32	0	36	0

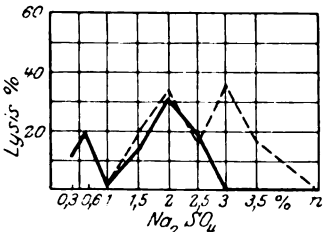


Abb. 13.

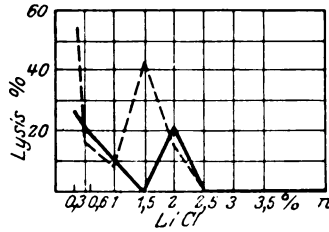


Abb. 14.

LiCl, 0,3proz. bis n Lösung. 0,2proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen LiCl Proz.	1proz. KCN Tropfen	Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	26	19	27	12	55
1	0,6	1	23	18	21	19	18
1	1	1	27	24	11	25	8
1	1,5	1	27	29	0	14	42
1	2	1	28	22	21	24	14
1	2,5	1	20	25	0	21	0
1	3	1	19	23	0	20	0
1	3,5	1	25	29	0	25	0
1	n	1	26	31	0	32	0

Diese Kurven stimmen hierin zusammen:

1. Nur bei bestimmter Konzentration der Salze kann das KCN die Zellen lösen.
2. Die hemmende Wirksamkeit der Salze auf KCN hängt nicht von der absoluten Konzentration der Salze ab.

3. In Konzentration von 2,5 bis 3,5 Proz. hemmen alle Salze vollständig.

Der verschiedene Charakter der Kurven kann teilweise durch verschiedene Qualität der Zellen erklärt werden, wie es die folgenden Tabellen zeigen. Da sieht man, daß die Kurven bei denselben Bedingungen, aber mit zwei verschiedenen Zellemlusionen, auch verschiedenen Charakter zeigen.

LiCl, 0,2proz. bis n Lösung. 0,2proz. KCN (eine andere Zellemlusion).

Zellemlusion Tropfen	5 Tropfen LiCl Proz.	1proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,2	1	27	25	33	15	60	46,5
1	0,4	1	26	25	4	28*	0	2
1	0,6	1	33	22	33	24	27	30
1	1	1	32	18	43	20	38,5	41
1	1,5	1	22	20	9	19	14	11,5
1	2	1	27	19	29	15	45	37
1	2,5	1	32	21	34,5	18	45	40
1	3	1	31	33	0	14	55	22,5
1	n	1	26	26	0	24	4	2

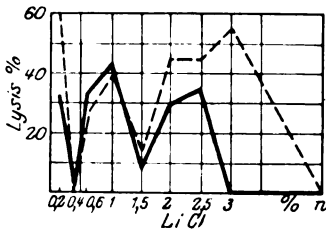


Abb. 15.

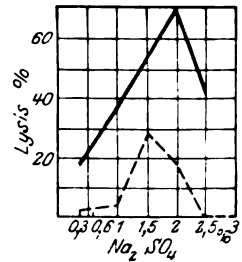


Abb. 16.

Eine andere Zellemlusion.

Na₂SO₄. 0,1proz. KCN. Nierenzellen.

Zellemlusion Tropfen	5 Tropfen Na ₂ SO ₄ Proz.	0,5proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.	Mittel Proz.
1	0,3	1	20	24	0	13	36	18
1	0,6	1	34	32	6	10 (mit Agglutinat.)	—	—
1	1	1	34	26	23	5	90	56
1	1,5	1	31	24	21,5	15 (+ Agglutinat.)	—	—
1	2	1	28	11	60	5	83	71
1	2,5	1	39	32	18	13	66	42

NaCl, 0,6proz. bis n Lösung. 0,25proz. Saccharin. Nierenzellen.

Zell- emulsion Tropfen	4 Tropfen NaCl Proz.	1proz. Saccharin Tropfen		Nach 24 Stdn.	Aggluti- nation Proz.	Nach 48 Stunden	Aggluti- nation Proz.	Mittel Proz.
1	0,6	1	65	5	83	2	96	89,5
1	1	1	64	19	71	11	81	76
1	1,5	1	67	25	62	15	76	69
1	2	1	50	26	49	20	60	54,5
1	3	1	48	22	56	8	81	68,5
1	n	1	48	35	33	37	22	27,5

Über den Mechanismus der Auflösung der Zellen mit KCN, Formamid und Saccharin, also so verschiedenen Stoffen, hat *Laufberger* die Hypothese aufgestellt, daß diese Stoffe durch ihre hohe Dielektrizitätskonstante die Zellen auflösen. Tatsächlich wirken sie nach der Größe ihrer DK: KCN am meisten, Formamid schwächer und Saccharin am wenigsten. Aber es ist hier

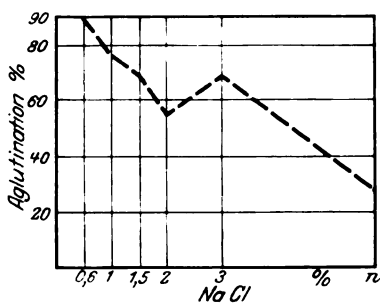


Abb. 17.

noch ein qualitativer Unterschied; KCN verändert in den meisten Versuchen, wenn es auch nicht alle Zellen zu lösen vermag, gründlich die restlichen Zellen, so daß sie wie Schatten aussehen. Diesen Effekt haben Formamid und Saccharin niemals. Die nach Einwirkung dieser Stoffe zurückgebliebenen Zellen sind intakt.

Eine Erklärung der hemmenden Wirkung der Salze und anderer indifferenten Stoffe kann nicht gegeben werden. Das Atomgewicht ist dabei nicht maßgebend (KCl hemmt bei n/3-Lösung, die Citronensäure bei n/7, die Bernsteinsäure bei n/10-Lösung.

Citronensäure. 0,2proz. KCN.

Zell- emulsion Tropfen	5 Tropfen Citronen- säure	1proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.
1	n	1	31	33	0	34	0
1	n/7	1	26	23	11	24	8
1	n/10	1	28	21	25	11	62
1	n/15	1	38	26	30	20	47
1	n/20	1	27	20	25	18	33

KCl. 0,2proz. KCN.

Zell-emulsion Tropfen	5 Tropfen KCl	1proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.
1	n	1	28	28	0	28	0
1	n/3	1	24	24	0	22	8
1	n/7	1	30	20	33	16	47
1	n/10	1	30	16	47	14	53
1	n/15	1	31	22	30	23	29

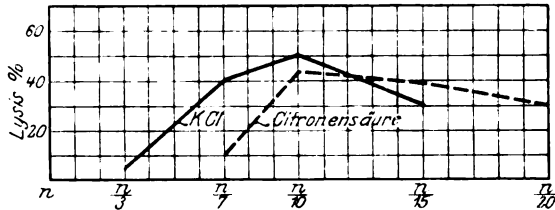


Abb. 18. KCN 0,2 Proz.

Citronensäure. 0,4proz. KCN.

Zell-emulsion Tropfen	5 Tropfen Citronensäure	2proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.
1	n	1	28	34	0	32	0
1	n/7	1	29	20	31	23	21
1	n/10	1	28	17	40	16	45
1	n/15	1	31	17	46	17	46
1	n/20	1	24	11	55	13	45

KCl. 0,4proz. KCN.

Zell-emulsion Tropfen	5 Tropfen KCl	2proz. KCN Tropfen		Nach 24 Stdn.	Lysis Proz.	Nach 48 Stdn.	Lysis Proz.
1	n	1	30	33	0	30	0
1	n/3	1	30	20	33	14	52
1	n/7	1	26	12	55	13	50
1	n/10	1	22	7	72	9	62
1	n/15	1	36	30	19	21	42

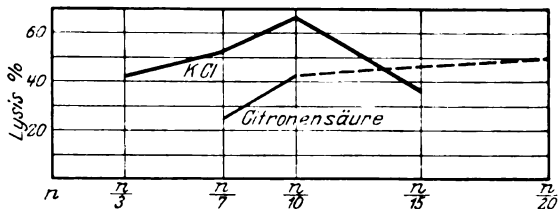


Abb. 19. KCN 0,4 Proz.

Die Adsorptionsregeln sind hier nicht gültig. Die Salze kann man nicht nach der *Hofmeister*-Reihe anordnen und auch mit einer chemischen Wirkung der Salze ist nicht zu rechnen.

In der Literatur sind schon solche hemmende Wirkungen bekannt, namentlich durch die Salze. So geben $ZnCl_2$, $CuCl_2$, $CaCl_2$ einen Schutz gegen das hämolysierende Wirken des Äthers und der Organextrakte. Die Salze der Metalle können die Saponin- und Stafylolysinhämolysen hemmen, aber auch beschleunigen. Anion ist da ohne Bedeutung und auch das Atomgewicht ist nicht maßgebend. Auch andere Stoffe hemmen die Hämolysen (Serum, Proteine, Lecithin, Glykose, Gummose, Tyrosin, Harnstoff, Cholesterin, Ascitesflüssigkeit, weicher Agar, Saccharose).

Zusammenfassung.

1. Die Auflösung der Zellen von menschlichen Organen durch KCN, Formamid und Saccharin ist von der absoluten Höhe der Konzentration unabhängig.

2. Die Auflösung der Zellen kann durch Zugabe verschiedener indifferenten Stoffe gehemmt werden, wobei wieder die hemmende Wirkung von der absoluten Konzentration der Stoffe unabhängig ist. Maßgebend ist da der Zeitpunkt der Zugabe.

3. Die hemmende Wirkung haben alle Substanzen gezeigt, die geprüft wurden.

4. Die Erkenntnisse gelten auch für die Lysis der Carcinomzellen.

Literatur.

Achard, C. r. de Soc. biol. **89**, 69, 1923. — *Bernhard*, ebendaselbst **89**, 225, 1923. — *Brahmachari*, Biochem. Journ. **15**, 463, 1921. — *Joanides*, C. r. de Soc. biol. **90**, 40, 1923. — *Luger*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **36**, 17, 1923. — *Pickering*, Biochem. Journ. **17**, 916, 1923. — *Purdy*, Journ. of Immunology **7**, 35, 1922. — *Testoni*, Kongreßzentralbl. **31**, 428. — *Waternann*, diese Zeitschr. **116**, 165, 1921.

Berichtigung.

Von

E. Rupp und H. Schlee.

(Eingegangen am 27. November 1926.)

Unlängst glaubten wir berichten zu können, daß in wasserstoffperoxydhaltiger Natriumbicarbonatlösung bei Gegenwart von etwas Eisensalz Formaldehydbildung auftritt¹⁾. Hierzu macht uns Herr H. Wieland darauf aufmerksam, daß, seinen „kritischen Versuchen über die Thunbergsche Theorie der CO₂-Assimilation“²⁾ entsprechend, der Formaldehyd aus organischen Stabilisierungszusätzen der verwendeten Hydroperoxydsorten hervorgegangen sein dürfte. Wir wiederholten daher unsere Versuchsreihen mit eigens destilliertem Wasserstoffperoxyd und stellten fest, daß hiermit die Formaldehydfarreaktionen negativ ausfielen. Es vermögen also auch eisenhaltige Hydroperoxydlösungen keine Reduktion von Kohlensäure zu Formaldehyd herbeizuführen.

¹⁾ Diese Zeitschr. **172**, 373, 1926.

²⁾ Ann. d. Chem. **486**, 247.

Über vielleicht durch Bakterienwachstum verursachte Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration natürlicher Wässer.

Von

V. Enevoldsen (Roskilde).

(Eingegangen am 8. Dezember 1926.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Die vorliegende Arbeit teilt sich in folgende Abschnitte:

1. Bakteriologische Untersuchungen, gleichlaufend mit hydrographischen an Bord der „Dana“.

2. Tägliche Untersuchungen der p_H -Werte bestimmter Örtlichkeiten.

3. Tägliche Untersuchungen von Wasserproben im Laboratorium, nachdem die p_H derselben geändert war, und von Wasserproben, in die kein Eingriff stattgefunden hatte.

4. Tägliche Beobachtungen über p_H -Änderungen in sterilisiertem Meerwasser, das durch einige Bakterienstämme infiziert war, welche von Kulturen isoliert waren, die an Bord der „Dana“ von den bakteriologischen Wasserproben aus hergestellt waren.

Im Frühling 1923 stellte ich an Bord des *dänischen Meeresuntersuchungsschiffes* „Dana“ eine Reihe hydrographischer Untersuchungen an (die Tabellen sind veröffentlicht im „Bulletin hydrographique pour les années“ 1920, 1921, 1922, 1923, S. 99). In den hiermit folgenden Anlagen sind einige der Ergebnisse betreffend die Verhältnisse im Oberflächenwasser und am Boden graphisch angegeben (Abb. 1 und 2). Eisstationen sind in der graphischen Darstellung nur mit Nummern angegeben.

Es ist hieraus ersichtlich, daß die Wasserstoffionenkonzentration stark schwankend ist, und daß es augenscheinlich keinen Zusammenhang zwischen p_H und den übrigen untersuchten Verhältnissen, wie z. B. Salzgehalt, O_2 sat. und Temperatur, gibt.

Der Salzgehalt wurde nach *Martin Knudsen* bestimmt, O_2 sat. nach *Jacobsen*, t^0 durch Umkehrthermometer und p_H nach *S. P. L. Sørensen* unter Verwendung hauptsächlich von Naphtholphthalein als Indikator und *Palützschs* Borsäureborat als Vergleichsflüssigkeit.

Meine früheren Untersuchungen hatten mich vermuten lassen, daß die Bakterien im Meerwasser ein mitwirkender Faktor bei Änderungen an der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers sein müssen, und ich unternahm deshalb einige bakteriologische Untersuchungen an Bord der „Dana“ und benutzte später einige der gefundenen und in Reinkultur isolierten Bakterienarten zu später zu besprechenden Versuchen.

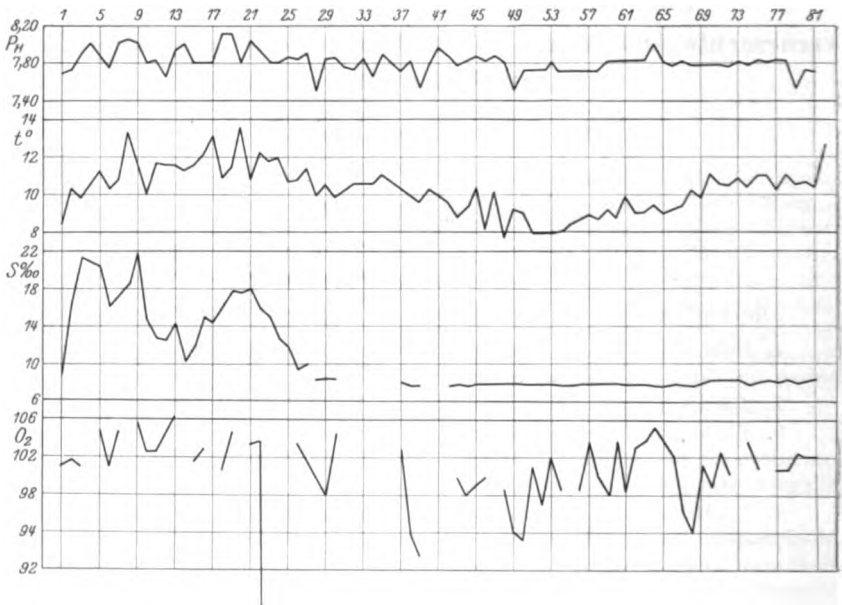


Abb. 1.

Als Substrat bei den Isolierungen wurde nur eine Mannitgelatine folgender Zusammensetzung benutzt: 1,375 Proz. NaCl, 0,09 Proz. K_2SO_4 , 0,075 Proz. $CaSO_4$, 0,029 Proz. $MgSO_4$, 0,165 Proz. $CaCl_2$, 0,04 Proz. KNO_3 , 0,004 Proz. NaH_2PO_4 , 0,002 Proz. $FeCl_3$, 2 Proz. Mannit, 2 Proz. Agar-Agar und 5 Proz. Gelatine. Also N-freies Substrat ist gewählt der Beschränkung wegen.

Diese Salzzusammensetzung entspricht dem von *Allen-Plymouth* für seine Isolierungen von Algen benutzten Salzgehalt des künstlichen Meerwassers, wie in seinem Vortrag in Kopenhagen bei Überreichung der *Emil Chr. Hansen*-Medaille mitgeteilt ist.

Durch dieses Substrat können natürlich nur diejenigen Organismen isoliert werden, die Mannit als Energiequelle verwenden können, und nur aerobe Kultur kann in Frage kommen; wenn einige der Kulturröhren steril geblieben sind und also keine Entwicklung zeigen, so ist

dies nicht damit gleichbedeutend, daß an der Stelle, wo die Probe entnommen ist, keine anderen Bakterien vorhanden sind.

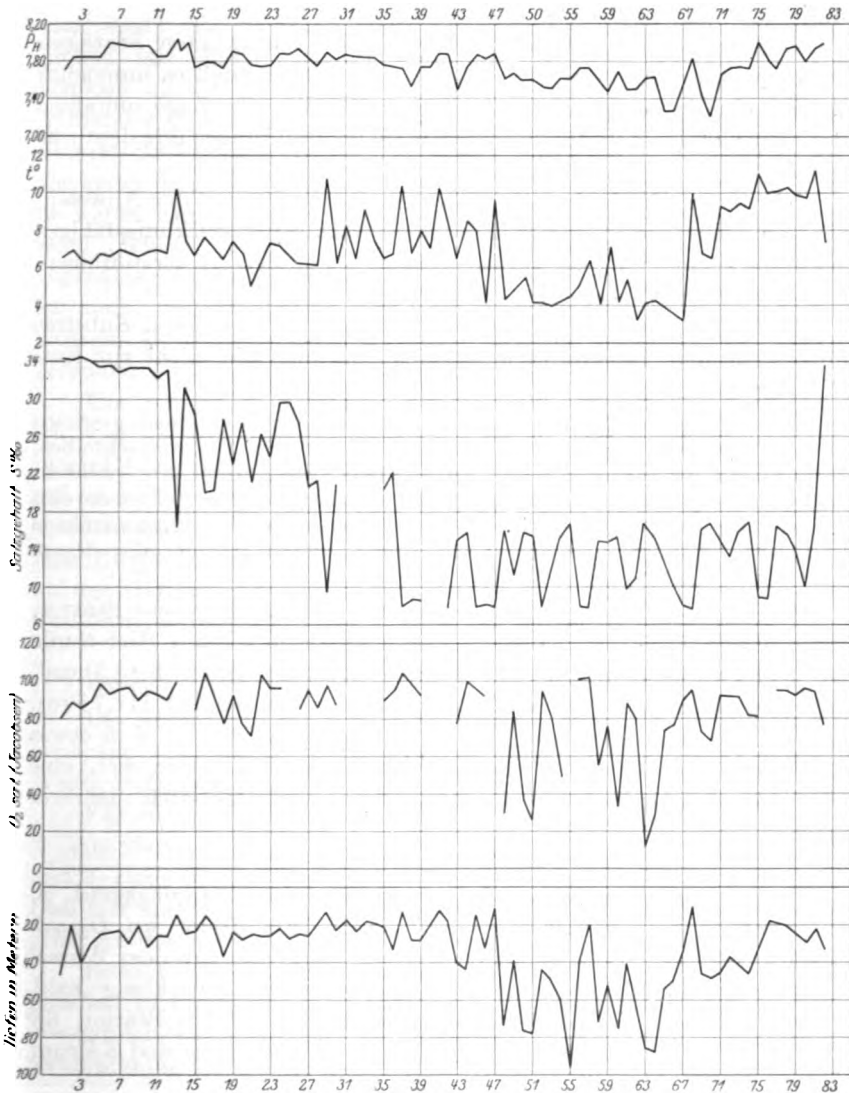


Abb. 2.

Weiter unten in der Abhandlung lege ich Rechenschaft über meine Verwendung von Mannit als C-Quelle ab. Es würde selbstverständlich ein großes Interesse haben, Isolierungen von Bakterien auf Substraten

mit anderen Kohlehydraten zu versuchen; ich wünschte aber, mich auch hier zu beschränken.

Hinsichtlich des Vorkommens von Bakterien an den verschiedenen Stationen wird auf Tabelle I hingewiesen.

Leider sind nur auf den in der Tabelle I erwähnten Stationen Proben genommen, die weiter aufgearbeitet sind, so daß es unmöglich ist, sich eine biologische Übersicht über alle die vom Zuge umfaßten Stationen zu bilden. Indessen sprechen die Beobachtungen ihre deutliche Sprache.

Ich meine, einen gewissen Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von mannitpositiven und in N-freiem Substrat entwicklungsfähigen Bakterien — wenn ich sie so nennen darf — und der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers bemerkt zu haben.

Daß keine anderen Bakterien auf dem oben erwähnten Substrat anwesend waren, behaupte ich gar nicht, sie sind aber nicht zur Entwicklung gekommen.

Meine Verwendung von Mannit als Energiequelle ist zu einem gewissen Grade *Harald Kyhlings* Untersuchungen (Hoppe-Seyler 94) zuzuschreiben. Ich nehme an, daß die im Meere befindlichen Algen, durch ihre vielleicht einer Cellulosegärung zuzuschreibende Verwesung, gewissen Bakterien eine mannithaltige Nahrung geben. Es läßt sich ja denken, daß Phytoplankton bei seinem Hinfallen (Cellulose- oder Pektingärung) Mannit oder dessen Spaltungsprodukte an das Meerwasser abgibt.

Bei der Durchsicht der obenerwähnten Tabelle lenkt eine Station, und zwar $54^{\circ} 37' N - 12^{\circ} 17' E$, die Aufmerksamkeit auf sich. Hier wurde der höchste überhaupt von mir während der Expedition der „Dana“ wahrgenommene Sauerstoffsättigungsgrad gefunden, nämlich 111,7 Proz. O_2 sat., und eine $p_H = 7,56$, was für die geringe Tiefe von 6 m etwas Ungewöhnliches ist. Auf den angestellten Proben zeigte sich eine schätzungsweise ganz überwältigende Anzahl von Bakterien mehrerer Arten.

Stationen mit hoher O_2 sat.

An anderen Stationen mit hohem Sauerstoffsättigungsgrad ist zu erwähnen Station $54^{\circ} 53' N - 13^{\circ} 25' E$, 44 m Tiefe, wo O_2 sat. = 100,4 und $p_H = 7,73$ gefunden wurden. Auf der mit dem Wasser dieser Station infizierten Gelatine wurde eine Entwicklung zahlreicher Kolonien einer Art gefunden. Dasselbe ist auf Station $55^{\circ} 29' N - 15^{\circ} 17' E$ auf 40 m Tiefe wahrgenommen. Hier sind S Prom. = 8,01, O_2 sat. = 100,0 und $p_H = 7,72$.

Stationen mit geringer O_2 sat.

Betrachtet man nun diejenigen Stationen, wo bakteriologische Proben entnommen worden sind, und wo O_2 sat. gering ist, so sind zwei davon durch eine starke Entwicklung von Bakterien gekenn-

zeichnet, und zwar Station 54° 56' N—13° 06' E auf 40 m Tiefe und Station 55° 29' N—15° 02' E auf 76 m Tiefe; hier war der Sauerstoffsättigungsgrad 76,7 bzw. 37,2 Proz. mit einer entsprechenden $p_H = 7,47$ bzw. 7,60. Es sind hier Bakterien isoliert worden, die in Wasserproben mit geringem Sauerstoffgehalt gefunden wurden, die aber dennoch als Oberflächenkulturen bei aerober Zucht sich entwickeln, während z. B. Station 55° 29' N—15° 02' E in 65 m Tiefe mit höherem Sauerstoffsättigungsgrad keine Entwicklung auf Mannitagar gab. Entweder handelt es sich hier um fakultative Anaerobionten, oder es waren mannitnegative Bakterien da, oder aber das Meerwasser ist steril gewesen, indem wir einer, biologisch gesprochen, vorübergegangenen Periode gegenüberstehen (Bakterienwolken). Eigentümlich ist auch, daß Bakterien über der ganzen p_H -Skala gefunden sind, wogegen sie nicht immer an zwei Stellen mit einer und derselben p_H gefunden wurden.

Um ein wenig Klarheit über diese Frage zu bekommen, stellte ich eine Reihe von Versuchen und täglichen Untersuchungen an. Es scheint mir, daß man auf einer Expedition, wo man sich nur so lange auf einer Station aufhält, wie es für die Ausführung der nötigen Arbeiten, wie Bruttrawlen, Bodenschaben und Hydrographie, notwendig ist, nur eine Blitzaufnahme vom hydrographischen und biologischen Zustand auf der Station erzielt. Eine Stunde später sind vielleicht die biologischen Verhältnisse vollständig geändert.

Tägliche Untersuchungen der p_H -Werte bestimmter Örtlichkeiten.

Die Frage ist, ob in eingeschlossenen Gewässern, wo keine Erneuerung oder Ablauf stattfindet, von Tag zu Tag Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration vorgehen.

Für diese Untersuchungen wählte ich 1. einen kleinen Moorsee, 2. ein demselben naheliegendes, gänzlich abgesondertes Moorloch und 3. einen kleinen Teich in der Birthe-Margaretenanlage in Roskilde. Daß hier ein starkes Wechseln in der p_H des Wassers stattgefunden hat, geht aus der Tabelle V und Abb. 5 hervor.

Bezeichnend sind hier die Beobachtungen am siebenten, achten, neunten und zehnten Tage, indem die vorhergehenden drei Tage ungewöhnlich warm (19, 19 und 20°) waren und zu einer zunehmenden Säurebildung im Wasser führten; am siebenten Tage fielen aber einige ungemein heftige Regenschauer mit der Wirkung, daß die p_H an allen drei Beobachtungsstellen vier Tage lang konstant blieb, obwohl die im Regen befindliche Wasserstoffionenkonzentration $p_H =$ etwa 6,5 war. Nach diesen vier Tagen mit einer konstanten p_H , weist der von hohen, schattenden Bäumen umgebene Teich in der Birthe-Margaretenanlage eine starke Neigung zur alkalischen Seite der p_H -Skala auf,

während das Moor erst nach Verlauf mehrerer Tage denselben Alkalinitätsgrad wie der Teich erreichte, und das kleine, abgesonderte Moorloch ebenso wie am Anfang der Beobachtungen keinen so hohen Alkalinitätsgrad erreichte. Nach dem Verlauf von 33 Tagen ist die p_H des Moores und des Teiches stark nach der sauren Seite versetzt, während die Verhältnisse im kleinen Moorloch neben dem Moorteich sich konstanter erhalten und erst nach 37 Tagen eine Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration aufweisen.

Eine Erklärung für diese Verhältnisse zu finden, ist mir bei der jetzigen Sachlage unmöglich; die Annahme liegt aber nahe, daß der gewaltige Regen am sechsten, siebenten, achten und neunten Tage (vgl. die später zu besprechenden Änderungen der p_H des Bachwassers, woraus ersichtlich ist, daß das Bachwasser, dessen p_H plötzlich nach der sauren Seite hin geändert wurde, mehrere Tage hindurch dieselbe tägliche p_H aufweist) trotz des stark sauren Charakters des Regenwassers die schon angefangene Säurebildung im Teiche und im kleinen Moorloch gestört hat, wodurch bei der verhältnismäßig schwachen Lichteinwirkung an diesen beiden Stellen ein Anhäufen von Bedingungen für eine Alkalibildung im Wasser stattgefunden hat, während umgekehrt das Moor mit seinem starken Oberflächenlicht trotz der störenden Einwirkung des Regengusses seine Säurebildung fortsetzt, bis dieselbe ein Säureoptimum erreicht. Darauf fand ich durch meine Analysen eine plötzlich steigende Alkalibildung im Wasser.

Was das kleine Moorloch betrifft, kann ich eine Erklärung darin suchen, daß es erstens den größten Teil des Tages im Schatten liegt, weil seine Wand im Verhältnis zur Wasseroberfläche sehr hoch und schattenbildend war, und daß es zweitens wegen der geringen Wassermenge im Verhältnis zur Größe der erwähnten Wand einen größeren Pufferinhalt besitzt. Es ist anzunehmen, daß das ständige Hinfallen der Pflanzen- und Tierwelt am Boden und an den Seiten des kleinen Moorlochs eine größere Pufferwirkung ergibt.

Tägliche Untersuchungen von Wasserproben im Laboratorium, nachdem die ursprüngliche p_H durch chemische Eingriffe geändert war.

Es taucht hierdurch eine Frage auf, die uns die Lösung des Problems aufzwingt, ob eine plötzliche Änderung der Wasserstoffionenkonzentration auf künstlichem Wege im natürlich vorkommenden Wasser imstande ist, Schwankungen in der p_H -Kurve des Wassers hervorzurufen.

Ich versuchte, diese Frage dadurch zu beleuchten, daß ich mittels Chemikalien die p_H in natürlich vorkommendem, mit nach Hause genommenem Wasser änderte.

Dieses Wasser entstammte teils einem Bache, dem Bistrupbache, in der Nähe von Roskilde, teils einem Graben, der in den genannten Bach ausmündet. Diese beiden verschiedenen Wassersorten wurden auf 18 weiße und sterile Medizinflaschen verteilt, die mit Wattepfropfen geschlossen in zerstreutes Tageslicht hingestellt wurden, um täglich auf p_H untersucht zu werden. Nach dem Auffüllen wurde die ursprüngliche p_H des Wassers durch Zusatz variierender Mengen n/100 Essigsäure oder n/100 kohlenstoffsaures Natron geändert, jedoch so, daß in einer Flasche jeder Wassersorte die p_H nicht geändert wurde, welche Flasche deshalb als Normalflasche bezeichnet wird. Die Ergebnisse der Beobachtungen betreffend die p_H -Änderungen des Inhalts dieser Flaschen sind in den Tabellen II und III verzeichnet, wo „B“ das Bachwasser, „G“ das Grabenwasser bezeichnet. Die ursprüngliche p_H des Bachwassers am Entnahmetag war 8,61, die des Grabenwassers 8,51.

Man kann sich hier denken, daß bei der geringen Menge Essigsäure oder Soda auf rein chemischem Wege und von Temperaturschwankungen begünstigt, kleinere, langsam verlaufende Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration stattfinden können, und dies ist wohl auch der Fall, nicht aber in einem so hervortretenden Grade, wie die Versuche es zeigen. Später angestellte Untersuchungen, die unten besprochen werden sollen, scheinen anzudeuten, daß es nicht allein physische Bedingungen oder langsam verlaufende chemische Prozesse sind, sondern daß andere Faktoren bei den Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration des Wassers (sowohl süßes als salziges) eine Rolle spielen, und hier liegt die Annahme nahe, daß das organische Leben eine Rolle spielt.

In diesen Flaschen konnte bei zunehmender Anwesenheit von z. B. Daphnien und Algen ein Unterschied in der Entwicklung von Organismen schon nach wenigen Tagen beobachtet werden, und es wurde bemerkt, daß die beiden Reihen sich in dieser Beziehung einander entgegengesetzt verhielten. In den Flaschen mit Bachwasser war das Wachstum von Größenorganismen am stärksten in B 1, und in den Flaschen 2, 3, 4 und 5 war es stark abnehmend, während der Wuchs im Grabenwasser in Nr. 4 und 5 am stärksten war.

Von mir in derselben Weise angestellte Versuche mit Wasser aus der Roskilder Förde gaben mit den obigen Versuchen vergleichbare Ergebnisse.

Betrachtet man die Tabellen dieser Versuche mit Graben- und Bachwasser, so entdeckt man, daß die p_H -Werte für B 6, 7 und 8, nachdem sie ungefähr dieselbe Wasserstoffionenkonzentration wie B normal erreicht haben, d. h. nachdem der zugeführte Überschuß an Alkali gebunden worden ist, denselben Verlauf wie das reine Bachwasser aufweisen, während diejenigen Flaschen, die einen Überschuß an Säure erhalten haben, zur normalen p_H des Bachwassers hinaufsuchen, ohne jedoch dieselbe zu erreichen, B 2 ausgenommen. Es ist auch ersichtlich,

daß, je größer der Eingriff in den p_H -Zustand des Wassers gewesen ist, es um so weniger gelingt, die p_H des normalen Bachwassers innerhalb einer kürzeren Zeitperiode zu erreichen.

Dasselbe ergibt sich aus der graphischen Darstellung der Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration im Grabenwasser, wozu eine wechselnde Menge Säure und Alkali ebenso wie beim Bachwasser zugesetzt ist.

Tägliche Beobachtungen über mit Reinkulturen von Bakterien infiziertes Meerwasser.

Es wäre am nächsten zu erwarten, daß diese Kurven nach einigermaßen geraden Linien verlaufen sollten, wenn man annimmt, daß eine Art von Organismen durch Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration in ihrer Vermehrung begünstigt oder gehemmt würde, indem sie dann vielleicht instand gesetzt würde, alle anderen, ungünstiger gestellten zu unterdrücken, oder umgekehrt, und daß die Wasserstoffionenkonzentration sich, wenn dieser Kampf der Individuen beendet wäre, verhältnismäßig konstant erhalten würde und die Organismen absterben würden. Dies geht aus diesen Darstellungen nicht hervor, da der Zeitraum so kurz war, weil das Versuchswasser nach und nach zu Messungen gebraucht wurde.

Um aber kennenzulernen, ob Mikroorganismen überhaupt imstande sind, die Wasserstoffionenkonzentration natürlich vorkommenden Wassers zu ändern, wurde steriles Meerwasser mit Kulturen von Bakterien infiziert, die während „Danas“ Ostseezuges 1923 vom Meerwasser isoliert waren.

Selbstverständlich sind die hier vorgenommenen Versuche nicht geeignet, ein genaues Bild zu geben, da durch dreimal zweistündiges Dampfkochen in Pasteurkolben sterilisiertes Meerwasser nicht dem natürlich vorkommenden Meerwasser mit seinem gewiß sehr komplizierten Inhalt an Mineralsalzen und organischen Verbindungen (z. B. sauren Carbonaten, Salzen organischer Säuren und deren Salzen, Kohlehydraten, Abbauprodukten sowohl animalischen als vegetabilischen Ursprungs) entsprechen kann. Bei einer späteren weiteren Bearbeitung in dieser Richtung muß das Meerwasser durch Chamberlandfilter steril filtriert werden. Jedoch habe ich eine so tief eingreifende Sterilisation vorgenommen, weil ich sporenbildende Bakterien, die ein halbstündiges Kochen vertrugen, im Meerwasser gefunden habe.

Diese Bakterienversuche zeigen indessen ganz merkwürdige Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration, so daß die Annahme berechtigt erscheint, die Bakterien spielen eine Rolle in der Wirtschaft des Meeres, eine Rolle, die vielleicht größer als ursprünglich angenommen ist.

Wir wissen noch nicht bestimmt, inwiefern z. B. die Befruchtung von Eiern von variierenden Wasserstoffionenkonzentrationen beeinflußt wird, oder ob die fertig entwickelten Individuen schon bei der Geburt geschwächt

sind, indem die Eier entweder vom Stoffwechsel der Bakterien oder vom besonderen bakteriologischen Einfluß beeinflußt sind, und soweit mir bekannt ist, wissen wir überhaupt nichts über die Ernährung von Mollusken unmittelbar durch Bakterien (*Sparck*, Dissertation). Man vergleiche Süßwassertierchen, die sich durch in Verwesung begriffene animalische Substanzen stark entwickeln.

Das sterilisierte Meerwasser stand vor der Infizierung etwa 8 Tage unter häufigem Schütteln, wodurch das Wasser etwas Sauerstoff und Stickstoff absorbieren konnte. Die Bakterienkulturen entstammten „Danas“ Zuge 1923 und folgenden Stationen:

Station	Tiefe in m	p _H des Meerwassers an der Entnahmestelle
3076	20	7,76
3105	40	7,72
3074	5	7,93
3098	40	7,73
3098	5	7,82

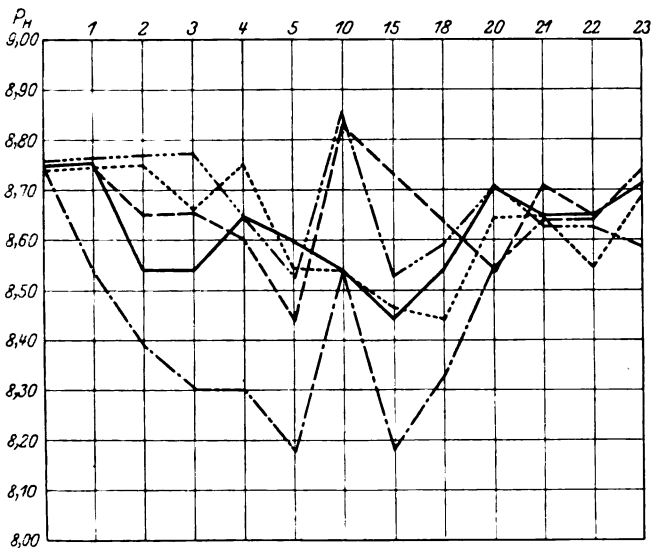


Abb. 3.

- 3076 = 54° 48' N — 10° 07' E 55 m
- 3105 ————— = 55° 29' N — 15° 17' E 40 m
- 3074 - - - - - = 55° 05' N — 9° 38' E 45 m
- 3098-40 - · - · - } = 54° 53' N — 13° 25' E 15 m
- 3098-5 - - - - - }

In der graphischen Darstellung sind die Kontrollkolben nicht angeführt, die nicht infiziert waren, und deren p_H sich während des Versuchs überhaupt nicht geändert hatte.

Durch kleine, sterile, zugeschmolzene Kapillarrohrstücke wurde eine geringe Menge von einer Kultur auf Mannitagar zu 500 ccm sterilen Meerwassers in Pasteurkolben übertragen, und diese Kolben standen einen Monat in einem halbdunklen Zimmer bei Zimmertemperatur. Da alle diese Untersuchungen in meinem kleinen Privatlaboratorium angestellt sind, ist dieses Verfahren verwendet worden. In einem voll ausgerüsteten Laboratorium wäre ich anders verfahren. Während dieses Monats wurde häufig unter Wahrnehmung der nötigen bakteriologischen Technik so viel vom Meerwasser herausgenommen, wie nötig war, um die p_H kolorimetrisch nach S. P. L. Sørensens Verfahrens zu messen.

Die Ergebnisse sind in der Abb. 6 graphisch dargestellt.

Wie ersichtlich, schwankt p_H ziemlich stark, was einige der Kulturen betrifft. Ein ähnliches Verhalten hat auch *Walbum* bei seinen Untersuchungen über die bakteriellen Toxine beobachtet. Bei meinen Versuchen sind die Kulturen bestrebt gewesen, sich auf eine normale p_H einzustellen — das ozeanische Gleichgewicht, wenn man diesen Ausdruck benutzen darf —, die sich der von *Palitzsch* beobachteten p_H an der Oberfläche des Atlantischen Ozeans stark nähert. Hinsichtlich des Meerwassers bedarf dieses Verhalten einer näheren Untersuchung. Besonders wird es von großem Interesse sein, was die N-bindenden Bakterien betrifft.

Aus den obigen Versuchen scheint hervorzugehen, daß die Bestimmung der p_H im Meerwasser unbedingt, was öfter erwähnt ist, sofort vorzunehmen ist, und daß es von Interesse sein wird, jede Probe vom Meerwasser in Zwischenräumen von mehreren Tagen zu untersuchen, um sich ein biologisches Bild vom Zustand des Meerwassers zu bilden. Während des Zuges der „Dana“ 1923 untersuchte ich mehrmals solche Proben einige Tage hindurch, und es stellte sich heraus, daß ein großer Teil der Proben sich überhaupt nicht änderte, während andere entweder zur sauren oder zur alkalischen Seite schwankten.

So änderten sich folgende Proben:

Station	Tiefe in m	p_H	
3106	0	ursprünglich 7,66	nach 4 Tagen 8,08
3106	55	7,66	4 „ 7,36
3107	78	7,66	3 „ 7,66
3107	60	7,66	3 „ 7,51
3110	69	7,66	2 „ 7,78
3110	69	7,66	3 „ 7,36

Es stellte sich auch heraus, daß Wasserproben, die in den Reagenzgläsern von der kolorimetrischen Bestimmung her standen, sich verschieden verhielten, indem Farbenänderungen stattfanden. In der ersten Zeit schenkte ich diesem Verhältnis keine besondere Aufmerksam-

keit, indem ich annahm, daß es der Indikator war, der von den im Meerwasser befindlichen Salzen beeinflußt wurde; als es sich aber zeigte, daß die Farbenänderung nicht immer eintrat, und daß zu anderen Zeiten Farbenänderungen entweder zur sauren oder zur alkalischen Seite stattfanden, so zeichnete ich einige Fälle auf, wie z. B.:

Station 3121 } Oberfläche, p_H 7,88, wird von der Oberfläche aus
 .. 3123 } alkalischer.
 .. 3124 }
 .. 3125 } Oberfläche, p_H 7,78, säuert vom Boden aus.
 .. 3126 }

Diese Änderungen traten nach 1 bis 10 Stunden ein.

Ein anderes Verhältnis spielt stark bei der Beurteilung der p_H -Werte der aus großen Tiefen herausgeholtten Proben mit. Zieht man den kolossalen Unterschied des Druckes am Boden und an der Oberfläche der Ozeane in Betracht, so kann ich mir nicht anders denken, als daß eine aus den tiefsten Wasserschichten der Ozeane heraufgeholtte Bodenprobe ihre Wasserstoffionenkonzentration allmählich mit der Druckverminderung ändern wird. Ich habe Versuche in dieser Richtung angestellt, um womöglich die p_H des Meerwassers in großen Tiefen zu photographieren. Es wird möglich sein, die kolorimetrische Skala unten am Boden des Ozeans zu photographieren. Gewinne ich Zeit und Gelegenheit, meine Versuche in dieser Richtung zu erweitern, so werde ich später die Ergebnisse mitteilen.

Tabelle I.

Datum	Station		Meter	Temperatur ° C	S Prom.	O ₂ sat.	p_H	Bemerkungen
	N	E						
2. VI.	55°02'	10°01'	0	10,9	16,02	101,6	8,16	
			5	10,9	16,02	100,6	7,93	
2. VI.	55 13	9 45	6	10,8	16,76	103,4	8,16	
			23	7,3	23,12	93,4	7,90	
2. VI.	55 05	9 38	5	11,62	16,82	101,3	7,93	
4. VI.	54 52	9 48	5	10,1	17,00	103,3	7,92	
			20	5,2	20,59	80,2	7,77	
4. VI.	54 48	10 07	5	11,3	16,06	103,3	7,93	
			20	6,2	21,29	93,9	7,76	
5. VI.	54 31	11 24	5	10,85	13,5	—	7,75	Zwei Arten
			20	6,4	26,83	—	7,88	
5. VI.	54 37	12 17	6	9,2	8,30	111,7	7,56	Zahlreiche Kolonien mehrerer Arten
			18	6,1	21,42	85,8	7,77	
8. VI.	55°06,5'	12°26,5'	3	10,8	—	—	7,94	Zwei Kolonien
			13	10,2	—	—	7,88	
9. VI.	54°56'	13°06'	40	6,5	14,79	76,7	7,47	Zahlreiche Kolonien einer Art
9. VI.	54 53	13 25	15	8,9	7,97	99,4	7,82	Eine Kolonie Zahlreiche Kolonien einer Art
			44	7,7	15,82	100,4	7,73	
10. VI.	54 39	14 10	10	8,2	7,97	103,5	7,88	
			30	4,3	8,12	91,6	7,82	

Aus den folgenden Stationen gab die bakteriologische Untersuchung sowohl positives als negatives Ergebnis.

Datum	Station		Meter	Temperatur ° C	S Prom.	O ₂ sat.	pH	Entwicklung von Bakterienkolonien		
	N	E								
13. VI.	55° 28'	14° 49'	55	5,4	13,03	84,0	7,47	—		
			73	4,3	15,99	29,7	7,60	—		
14. VI.	55 22	14 38	15	9,1	7,85	94,4	7,53	—		
			55 29	15 02	45	3,7	9,67	89,9	7,51	—
			65	5,4	13,06	84,5	7,49	—		
			76	5,4	15,64	37,2	7,60	+ zahlreiche		
			55 29	15 17	40	5,7	8,01	100,0	7,72	+
			78	4,2	15,44	27,1	7,60	—		

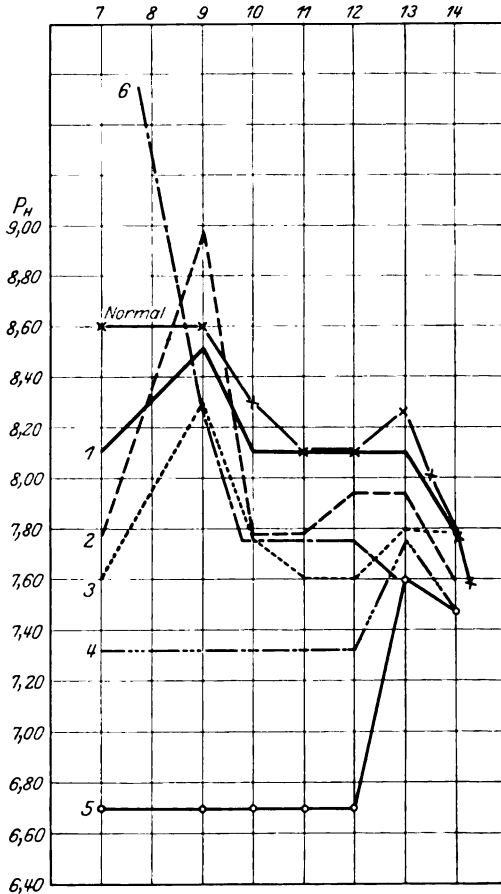


Abb. 4. Bachwasser.

Tabelle II.
Bachwasser. Nach Änderung.

	Tage						
	7	9	10	11	12	13	14
B 1	8,08	8,51	8,08	8,08	8,08	8,08	7,78
B 2	7,78	8,98	7,78	7,78	7,94	7,94	7,60
B 3	7,60	8,31	7,78	7,60	7,60	7,78	7,78
B 4	7,36	7,36	7,36	7,36	7,36	7,78	7,48
B 5	6,70	6,70	6,70	6,70	6,70	7,60	7,48
B 6 stark alkalisch		8,31	7,78	7,78	7,78	7,60	7,60
B 7	" "	8,31	8,08	7,88	7,78	7,60	7,60
B 8	" "	9,11	9,11	8,31	8,20	8,08	7,78
normal	" 8,61 "	8,61	8,31	8,08	8,08	8,31	7,60

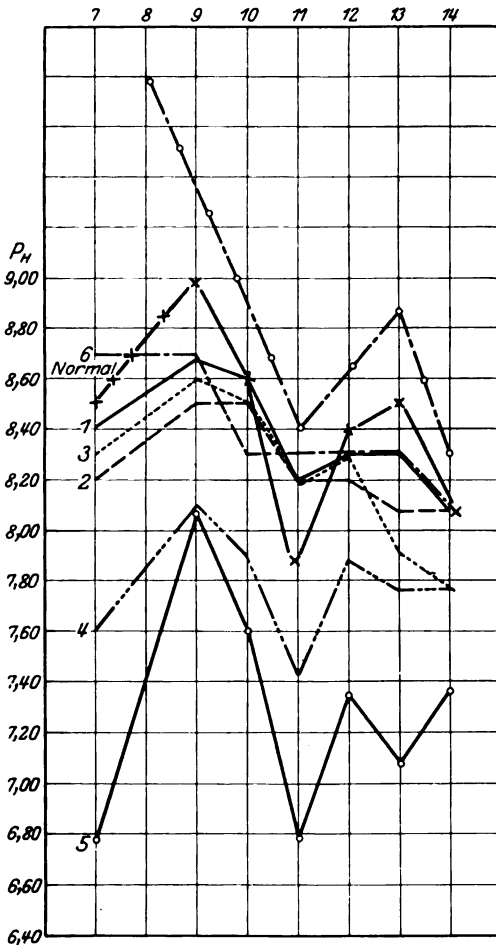


Abb. 5. Grabenwasser.

Tabelle III.
Grabenwasser. Nach Änderung.

	Tage						
	7	9	10	11	12	13	14
G 1	8,41	8,69	8,60	8,20	8,31	8,31	8,08
G 2	8,20	8,51	8,51	8,20	8,20	8,08	8,08
G 3	8,31	8,60	8,51	8,20	8,31	7,94	7,78
G 4	7,60	8,08	7,94	7,43	7,88	7,78	7,78
G 5	6,77	8,08	7,60	6,77	7,36	7,09	7,36
G 6	8,70	8,70	8,31	8,31	8,31	8,31	8,08
G 7	stark alkalisch	stark alkalisch	8,84	8,41	8,69	8,84	8,31
G 8	" 8,51"	" 8,98"	8,51	8,31	8,31	8,51	8,08
normal	" 8,51"	" 8,98"	8,60	7,88	8,41	8,51	8,08

Tabelle IV.

Probe bezeichnet	Tage											
	1	2	3	4	5	10	15	18	20	21	22	23
3076	8,51	8,31	8,31	8,20	7,88	8,69	8,51	8,31	8,08	8,40	8,30	8,40
3105	8,51	8,08	8,08	8,31	8,20	8,08	7,88	8,08	8,30	8,30	8,30	8,40
3074	8,51	8,51	8,31	8,51	8,08	8,08	7,94	7,88	8,30	8,30	8,08	8,40
3098—40	8,51	8,51	8,51	8,31	8,08	8,69	8,08	8,20	8,40	8,30	8,30	8,20
3098—5	8,08	7,78	7,60	7,60	7,36	8,08	7,36	7,66	8,08	8,30	8,30	8,45
	8,51	8,51	8,51	8,51	8,45	8,45	8,51	8,51	8,51	8,51	8,51	8,51

Tabelle V.

Tage	Moorsee	Abgesondertes Moorloch	Teich in der Birthe-Margareten-Anlage
1		7,60	7,88
2	8,08	7,75	7,88
3	8,15	7,88	7,88
4	8,20	7,75	7,80
5	8,05	7,60	7,75
6	7,90	7,50	7,68
7	7,75	7,36	7,60
8	7,60	7,36	7,60
9	7,60	7,36	7,60
10	7,60	7,36	7,60
11	7,58	7,40	7,68
12	7,58	7,43	7,74
13	7,51	7,46	7,80
14	7,48	7,50	7,85
15	7,45	7,52	7,90
16	7,42	7,54	7,95
17	7,40	7,56	8,05
18	7,36	7,50	8,08
19	7,45	7,52	8,08
20	7,53	7,45	8,08
21	7,60	7,36	8,08
22	7,80	7,36	8,17
23	8,00	7,36	8,23

Tabelle V (Fortsetzung).

Tag	Moorsee	Abgesondertes Moorloch	Teich in der Birthe-Margareten-Anlage
24	8,20	7,36	8,32
25	8,20	7,45	8,30
26	8,20	7,60	8,28
27	8,20	7,60	8,22
28	8,20	7,60	8,22
29	8,20	7,60	8,20
30	8,16	7,60	8,24
31	8,14	7,60	8,32
32	8,10	7,60	8,28
33	8,08	7,60	8,00
34	8,02	7,60	8,20
35	7,98	7,60	8,16
36	7,90	7,60	7,90
37	7,85	7,43	7,75
38	7,70	7,40	7,60
39	7,50	7,35	7,45
40	7,45		7,30
41	7,30		7,20
42			7,10

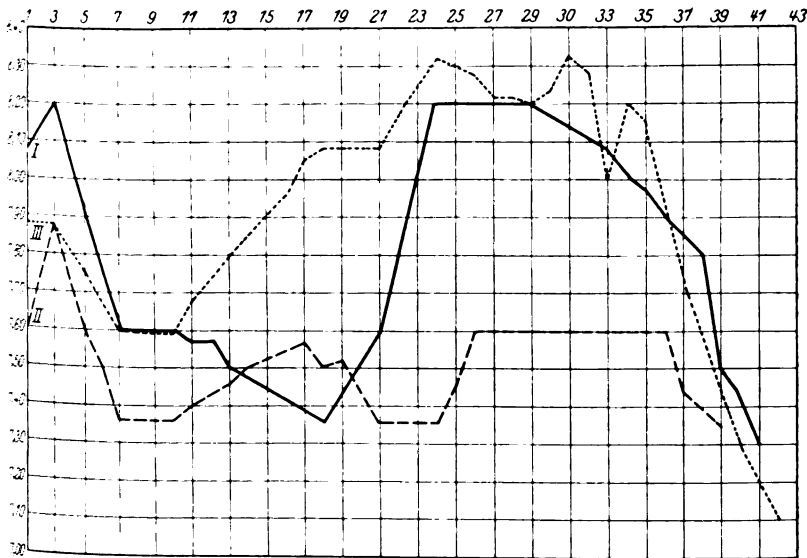


Abb. 6.

I = Moorsee. II = Moorloch. III = Teich.

Zusammenfassung.

1. Starke Schwankungen sind in der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers während des Zuges der „Dana“ im Kattegat

und in der Ostsee 1923, sowie in einigen kleinen Teichen in der Nähe von Roskilde festgestellt worden.

2. Es ist beobachtet worden, daß Meerwasser, Bachwasser und Grabenwasser beim Stehenbleiben ihren p_H -Wert wechseln.

3. Durch Versuche ist nachgewiesen worden, daß eine beliebige Änderung der p_H natürlichen Wassers beim Stehenbleiben zu einem gewissen Grade ausgeglichen wird.

4. Es zeigt sich, daß durch dreimal zweistündiges Dampfkochen sterilisiertes Meerwasser, nachdem es 8 Tage lang unter häufigem Schütteln gestanden hat, nach darauffolgender Impfung mit Reinkulturen von Meerbakterien die p_H der Nährflüssigkeit täglich ändert.

5. Daß an Stellen, die im Beobachtungsaugenblick dieselbe p_H aufweisen, nicht immer dieselben Bakterien vorhanden sind, bedeutet nichts, da auf einer Station mannitpositive Bakterien, aber keine Dextrose vergärende Arten gefunden werden können.

6. Es leuchtet ein, daß eine Verwendung von Nährsubstraten mit verschiedenen C-Quellen ganz interessante Aufschlüsse geben wird.

7. Um die p_H in großen Tiefen des Ozeans, z. B. 8000 m, ganz genau zu bestimmen, schlage ich vor, eine Momentanaufnahme an selbst den tiefsten Stellen des Ozeans vorzunehmen.

Literatur.

S. P. L. Sørensen und *S. Palitzsch*, Meddelelser fra Carlsberg Labor. **9**, 1; **9**, 8; **10**, 222. — *Harald Kyhlin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 337. — *Kurt Buch*, Hydrografi och biologiska undersökningar av Pojoviken 1914. — *L. E. Walbum*, diese Zeitschr. 1912. — *S. Palitzsch*, Bulletin de l'institut océanographique. — Bulletin hydrographique. Conseil permanent Nr. 409, S. 99, 1923. — *P. Spärck*, Dissertation 1924.

Über ein neues kollagen-lösendes Ferment [Kollagenase]¹⁾.

Von

W. S. Ssadirow.

(Aus dem Laboratorium für biologische Chemie der Universität zu Leningrad und dem Staats-Institut für angewandte Chemie.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1926.)

Es ist bekannt, daß die Skleroproteine vom Kollagentypus gegenüber Trypsin widerstandsfähig sind und durch Pepsin gut verdaut werden. Trypsinpräparate in sodaalkalischer Lösung werden z. B. nicht selten angewandt, um die Sehnen von Eiweißstoffen usw. zu reinigen, die gut verdaut werden, ohne daß das Kollagen vom Trypsin angegriffen wird.

Unterwirft man aber Sehnenkollagen einer schwachen Hydrolyse, indem man es z. B. mit verdünnten Säuren behandelt oder mit Wasser auf 70° erwärmt, so erwirbt ein derart hydratisiertes Kollagen oder *Hydrokollagen* die Eigenschaft, durch Pankreassaft verdaut zu werden.

Wahrscheinlich besitzen die Kollagene verschiedenen Ursprungs, aus Sehnen, Knochen, Knorpel, Haut, von diversen Tierarten (Säugetiere, Amphibien, Fische) eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegenüber den hydratisierenden und hydrolysierenden Agenzien, die sich durch den Grad der Glutininierungsgeschwindigkeit kundgibt.

Nach neueren röntgenoskopischen Untersuchungen von *Herzog* und *Gonell*²⁾ scheint das Kollagen in gleicher Weise Kristallstruktur zu besitzen, wie es bei Seide, Cellulose und derartigen „Biokolloiden“ der Fall ist. Das Kollagen ist ähnlich wie die Cellulose befähigt, durch Polymerisation Aggregationen von verhältnismäßig niedrigmolekularen, zyklischen Kernen (Grundkörper, *Proteonen*) zu bilden, und vermag ebenfalls eine Reihe hydratisierter Derivate zu bilden [*Hydrocellulosen* und *Hydrokollagene*]³⁾.

¹⁾ Vorgetragen auf dem IV. allrussischen Physiologenkongreß in Leningrad (Mai 1926).

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 58, 2218, 1925.

³⁾ Collegium 1926, Nr. 356, 676.

Es ist möglich, daß verschiedene Kollagene, die sich durch ihre mehr oder weniger schwierige Glutinerbarkeit voneinander unterscheiden, mannigfaltige Hydrokollagene nativen Ursprungs sind. Wie sich diese natürlichen Hydrokollagene dem Trypsin gegenüber verhalten, ist noch nicht aufgeklärt; von dem sehr widerstandsfähigen Sehnenkollagen wissen wir aber, daß seine Trypsinfestigkeit sogar nach langdauernder Behandlung mit verdünnten Alkalien unverändert bleibt.

Unlängst habe ich festgestellt, daß mehrere Präparate des sehr resistenten, im allgemeinen trypsinfesten Sehnenkollagens unter dem Einfluß von einigen Handelsorten des Trypsins und des Pankreatins verdaut werden.

Besonders wirksam waren die alten Pankreatinpräparate, die wahrscheinlich erepsinhaltig waren. Dagegen verhalten sich die meisten käuflichen und frisch zubereiteten Trypsinpräparate völlig indifferent gegen Tendokollagen.

1. 5 ccm einer 5proz. Lösung von Pankreatin, zu 500 ccm einer 0,25proz. Sodalösung (0,25 Proz. Na_2CO_3) hinzugefügt, lösen während 24 Stunden bei 40° 10 g Sehnen bzw. Sehnenkollagen vollständig.

2. Eine 4proz. Lösung von Kahlbaumtrypsin läßt Sehnen und Sehnenkollagen unter den gleichen Bedingungen unangegriffen.

Ein ähnliches Verhalten zeigen die tierische Haut und das Hautpulver.

Man könnte also erwarten, daß in manchen Handelspräparaten des Trypsins und des Pankreatins irgendeine Beimengung zugegen ist, welche die Lösung des Kollagens beeinflußt, vielleicht derart, daß das trypsinfeste Kollagen in das trypsinlabile Hydrokollagen umgewandelt wird. Die kürzlich erschienenen Arbeiten von *Waldschmidt-Leitz* und *Harteneck*¹⁾ hatten gezeigt, daß sich im Pankreas inaktiviertes Trypsin befindet, das die Eiweißstoffe nicht zu spalten vermag, wohl aber imstande ist, die Peptone anzugreifen. Dieses Trypsin wird wirksam durch einen Aktivator, der im Pankreas selbst vorhanden ist in Form einer inaktiven Enterokinase bzw. Prokinase. Die selbsttätige Aktivierung des Trypsins wird durch die Einwirkung der sich befreienden Enterokinase hervorgerufen.

Außer dem Trypsin enthält die Pankreasdrüse auch Erepsin. Das Erepsin und die Prokinase werden durch Alaun adsorbiert, das Trypsin wird dagegen nicht adsorbiert. Der Vorgang der Trypsinaktivierung läßt sich folgendermaßen veranschaulichen:

1. Prokinase + Erepsin \rightarrow Enterokinase.
2. Inaktives Trypsin + Enterokinase \rightarrow Aktives Trypsin.

¹⁾ H. 149, 203, 1925.

An und für sich wirkt Erepsin nicht auf Pepton, Casein, Fibrin, Glutin, Gliadin, Zein ein. Diese Proteinstoffe werden nur in Gegenwart des Systems (Trypsin + Enterokinase) gespalten.

Es ist aber wenig wahrscheinlich, daß die kollagenolytische Wirkung mancher Pankreatinpräparate durch die Gegenwart von Erepsin bedingt sein könnte.

Um die näheren Beziehungen zwischen dem Kollagen und den pankreatischen Fermenten aufzuklären, haben wir es unternommen, Fermente aus der Pankreasdrüse des Rindes darzustellen. Die Drüse wurde nach ihrer Zerkleinerung fraktionsweise mit Glycerin extrahiert; die Glycerinmenge wurde unter Berücksichtigung des Wassergehalts im Pankreas so bemessen, daß die extrahierte Flüssigkeit einen 20proz. Glyceringehalt aufwies. Auszug I wurde durch 24stündiges Digerieren des Pankreas bei Zimmertemperatur gewonnen. Auszug II erhielt man durch Digerieren des Rückstandes der ersten Extraktion, indem man ihn mit 20proz. Glycerinlösung bei 40° während 24 Stunden behandelte. Beide Auszüge verhalten sich verschieden in bezug auf Fibrin und Tendokollagen.

50 ccm 0,25 proz. Na ₂ CO ₃	Auszug I	Auszug II
Fibrin (1 g und 5 ccm)	wird in 1½ Stunden verdaut	wird in 24 Stunden nicht verdaut
Kollagen (2 g und 5 ccm)	wird gelöst	wird gelöst

Somit kann man in der Pankreasdrüse zwei verschiedene Fermentarten unterscheiden:

1. Die eine verdaut Fibrin und das Kollagen (*Fibrinase*).
2. Die andere verdaut nur das Kollagen und greift das Fibrin nicht an (*Kollagenase*).

Im Auszug I könnte die kollagenolytische Wirkung durch Beimengung von Kollagenase hervorgerufen worden sein. Zwecks Isolierung und näherer Charakterisierung des kollagenolytischen Ferments wurden daher Versuche zur Trennung angestellt, in denen das Ferment mit Hilfe chemischer und physikalischer Adsorptionsmittel vom Trypsin befreit werden sollte.

I. Die Trennung mit Hilfe des Saphranins.

Holzberg¹⁾ zeigte im Jahre 1913, daß eine Trypsinlösung nach dem Versetzen mit $\frac{3}{8}$ Volumina 0,8proz. Saphraninlösung einen Niederschlag bildet, der das gesamte Trypsin mitreißt; das Filtrat besitzt keine proteolytischen Eigenschaften mehr.

¹⁾ Journ. of biol. Chem. 14, 335, 1913.

*Marston*¹⁾ schlägt gleichfalls vor, die Fermente mit Saphranin und mit anderen Azinen voneinander zu trennen; dabei wird angegeben, daß Azine Trypsin, Pepsin, Papayotin, Chymosin fällen, daß aber Lipasen und Diastasen in Lösung bleiben.

Der Niederschlag, den wir beim Zufügen der Saphraninlösung zum Glycerinauszug der Pankreasdrüse erhalten haben, erwies sich jedoch inaktiv gegenüber Fibrin und Kollagen. Dagegen verdaut das Filtrat der Saphraninfällung die beiden Stoffe sehr gut. Die Gegenwart des Saphranins stört keinesfalls die Fermentwirkung. In ähnlicher Weise verhält sich Saphranin auch gegenüber Pepsin und Pankreatin; beide Fermente verdauen Kollagen und Fibrin trotz der Anwesenheit des Saphranins.

Die mangelhafte Übereinstimmung mit den Angaben von *Holzberg* und *Marston* ist vielleicht darin zu suchen, daß in unserem Falle irgendwelche kolloide Begleitstoffe fehlen, die durch das Saphranin niedergeschlagen werden und dabei die proteolytischen Fermente mitreißen können. Vielleicht ist auch die Anwesenheit des Glycerins von Bedeutung, obwohl bei einigen Versuchen mit Pepsin und Pankreatin, die ohne Glycerin angestellt worden waren, das Saphranin keinen störenden Einfluß ausübte.

II. Adsorption der pankreatischen Fermente mit Kohle und mit Kaolin.

Schüttelt man 25 ccm des pankreatischen Auszugs I mit 3 g Kaolin, läßt sodann einige Zeit im Thermostaten bei 37° stehen und trennt das Adsorbat „Kaolin-Trypsin“ von der Lösung durch Filtration, so ergibt sich nach der Prüfung beider Fraktionen mit Kollagen und mit Fibrin folgendes:

Verhalten gegen Kaolin (Na₂CO₃, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kaolin-Trypsin	Filtrat von Kaolin-Trypsin
Kollagen.	wird verdaut	wird nicht verdaut
Fibrin . .	wird nicht verdaut	wird verdaut

Mit Hilfe des Kaolins läßt sich die Trennung der Fermente ausführen: *Die Kollagenase wird von Kaolin adsorbiert, die Fibrinase bleibt in Lösung.*

Analoge, aber umgekehrte Verhältnisse werden bei der Kohlenabsorption beobachtet.

Verhalten gegen Kohle (Na₂CO₃, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kohle-Trypsin	Filtrat von Kohle-Trypsin
Kollagen.	wird nicht verdaut	wird verdaut
Fibrin . .	wird verdaut	" "

¹⁾ Biochem. Journ. 17, 851.

Kohle adsorbiert die Fibrinase nur teilweise und läßt die Kollagenase gänzlich unadsorbiert.

III. Adsorption des Pepsins mit Kohle und mit Kaolin.

Das Pepsin zeigte nach der Trennung mit Kohle oder mit Kaolin folgendes Verhalten gegenüber Kollagen und Fibrin.

Verhalten gegen Kaolin (HCl, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kaolin-Pepsin	Filtrat von Kaolin-Pepsin
Kollagen .	Glutiniierung	Verdauung
Fibrin . .	Verdauung	"

Verhalten gegen Kohle (HCl, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kohle-Pepsin	Filtrat von Kohle-Pepsin
Kollagen .	Glutiniierung	Verdauung
Fibrin . .	Verdauung	"

Kaolin- und Kohleadsorbate des Pepsins enthalten ein eigenartiges Ferment, das imstande ist, in saurer Lösung das Kollagen in Leim umzuwandeln und das gebildete Glutin nicht weiter zu verdauen vermag.

Nach dem Herausnehmen der Proben aus dem Thermostaten und nach dem Erkalten erstarrt die Flüssigkeit zu einer konsistenten Gallerte, die mit klebenden Eigenschaften versehen ist. Ein derartiges Ferment könnte man als *Glutinase* bezeichnen; es ist verschieden von der *Kollagenase*, die eine andersartige Umwandlung des Kollagens hervorruft, indem dieses in sodaalkalischem Medium ohne Gallertenbildung gelöst bzw. verdaut wird. *Nur die Pepsin-Glutinase wird von Kaolin und Kohle adsorbiert.*

IV. Adsorption des Pankreatins durch Kohle und Kaolin.

Ein altes Pankreatinpräparat, das deutlich kollagenolytisch war, wurde mit Kaolin und mit Kohle adsorptionsweise fraktioniert.

Verhalten gegen Kaolin (Na₂CO₃, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kaolin-Pankreatin	Filtrat von Kaolin-Pankreatin
Kollagen .	nicht angegriffen	nicht angegriffen
Fibrin . .	wird teilweise verdaut	wird vollständig verdaut

Verhalten gegen Kohle (Na₂CO₃, 0,25 Proz.).

	Adsorbat Kohle-Pankreatin	Filtrat von Kohle-Pankreatin
Kollagen .	wird verdaut	wird verdaut
Fibrin . .	" "	" "

In diesem Falle sehen wir, daß Kohle zu keiner selektiven Adsorption des Ferments führt, beide Fraktionen verhalten sich gleich gegenüber Fibrin und Kollagen. Was den Einfluß des Kaolins auf das Pankreatin betrifft, so ist festzustellen, daß Kaolin die kollagenolytische Wirkung des ursprünglichen Ferments vernichtet. Infolge dieses Verhaltens ist es leicht möglich, das Trypsin von der Kollagenase zu reinigen, weil dabei keine wesentliche Schädigung des Trypsins stattfindet; man beobachtet nur eine Verlangsamung der Fibrinverdauung.

V. Eluierung von Adsorbaten.

In allen obenerwähnten Fällen hatten wir die Adsorbate, d. h. die Niederschläge auf ihre Aktivität geprüft, ohne die fixierten Fermente als solche von Kohle oder Kaolin zu trennen. Versuche, die Fermente zwecks Reinigung oder Isolierung zu eluieren, hatten folgendes Ergebnis:

1. Pankreasauszug I wurde mit Kohle behandelt. Adsorbat Kohle-Trypsin I wird mit 20proz. Glycerinlösung digeriert. Der Glycerinextrakt verdaut nicht Fibrin und Kollagen. Die Restkohle verdaut nach der Glycerinbehandlung nur das Kollagen.

Die Kollagenase wird also aus dem Kohleadsorbat mit 20proz. Glycerin nicht eluiert. Das gleiche zeigt sich, wenn man für die Digestion des Kohleadsorbats 90proz. Glycerin anwendet.

2. Etwas andere Resultate beobachten wir beim Adsorbat Kohle-Trypsin II. Pankreasauszug II (100 ccm) wurde mit 10 g Tierkohle 3 Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt.

	Kollagen		Fibrin	
Adsorbat Kohle-Trypsin II	wird gelöst	+	wird nicht gelöst	0
Filtrat von demselben	" "	+	wird gelöst	+
Elution des Adsorbats mit 20proz. Glycerin	wird nicht gelöst	0	" "	0
Die Kohle nach der Elution	wird gelöst	+	wird nicht gelöst	0
Elution des Adsorbats mit 90proz. Glycerin	" "	+	" " "	0
Die Kohle nach der Elution	wird nicht gelöst	0	" " "	0
Filtrat von Kohle-Adsorbat mit Alkohol versetzt; der Niederschlag.	wird gelöst	+	wird gelöst	+

Die Kohle fixiert die Kollagenase, die das Fibrin nicht angreift. Die Adsorption der Kollagenase ist trotz längeren Schüttelns mit einem Überschuß an Kohle eine unvollständige; ein Teil der Kollagenase bleibt im Filtrat, zusammen mit der Trypsase; aus dem Filtrat wird

diese Kollagenase mit Alkohol niedergeschlagen. Alkohol fällt aber auch die Fibrinase, und auf diese Weise wird keine Trennung der beiden Fermente erreicht.

Das Adsorbat wird mit 90proz. Glycerin hinreichend erschöpft (eluiert); die Elution enthält nur die Kollagenase und der Rest ist ganz fermentfrei (inaktiv).

3. 80 ccm des Pankreasauszugs II werden mit Soda bis zu einem Gehalt von 0,25 Proz. versetzt; ursprünglich hatte der Auszug II eine schwach saure Reaktion. Man schüttelt $3\frac{1}{2}$ Stunden mit 12 g Kohle oder mit Koalin.

	Kollagen	Fibrin
Adsorbat Kohle-Trypsin II	langsam verdaut (+)	nicht verdaut 0
Das Filtrat davon	nicht verdaut 0	verdaut +
Elution des Adsorbats mit 0,25proz. Sodalösung. Dige- riert 2 Stunden	" " 0	nicht verdaut 0
Rückstand nach Eluierung	" " 0	" " 0

4.

	Kollagen	Fibrin
Adsorbat Kaolin-Trypsin II	nicht verdaut 0	langsam verdaut (+)
Das Filtrat davon	verdaut +	verdaut +
Elution des Adsorbats mit 0,25proz. Sodalösung, 2 Stunden	nicht verdaut 0	nicht verdaut 0
Rückstand nach Eluierung	" " 0	" " 0

Aus der schwach alkalischen Lösung adsorbiert Kohle die Kollagenase. Kaolin dagegen adsorbiert sie nicht. Eluierung mit wässriger Sodalösung bewerkstelligt keine Extraktion von Fermenten, aber diese erleiden eine Inaktivierung; sie lassen sich in den Rückständen nach der Eluierung nicht mehr nachweisen.

5. 80 ccm des Auszugs II werden neutralisiert und mit 10 g Kohle oder mit 10 g Kaolin 4 Stunden geschüttelt.

	Kollagen	Fibrin
Ads. Kohle-Trypsin II	wird nicht verdaut 0	wird nicht verdaut 0
Filtrat davon	langsam verdaut (+)	" " " 0
Ads. Kaolin-Trypsin II	wird gut " +	" " " 0
Filtrat davon	langsam " (+)	" " " 0

Die Adsorption der Kollagenase durch Kohle und durch Kaolin verläuft verschieden, in saurer und in alkalischer Lösung einerseits und in neutraler Lösung andererseits.

VI. Das Verhalten der Fermente gegen Alkohol.

Wir haben oben erwähnt, daß die Fällung des Auszugs II mit Alkohol nicht zur Abscheidung entweder von Kollagenase oder von Tryptase führt, beide werden durch Alkohol zusammen niedergeschlagen. Läßt man aber den Niederschlag unter dem Alkohol längere Zeit (7 bis 10 Tage) stehen, so bleibt im Niederschlag ausschließlich Kollagenase zurück; die Tryptase wird unter dem Einfluß des Alkohols vernichtet bzw. inaktiviert.

	Kollagen	Fibrin
Alkoholische Fällung: Na ₂ CO ₃ , 0,25 proz. . .	vollständig verdaut binnen 1½ Stdn. +++	nicht verdaut 0
Filtrat davon: Na ₂ CO ₃ , 0,25 proz.	wird nicht verdaut 0	" " 0
Alkoholische Fällung: HCl, 0,2 proz.	Glutinerung [+]	Quellung [0]

Im Gegensatz zum Trypsin scheint die Kollagenase unter dem Einfluß des Alkohols nicht geschädigt worden zu sein. Sie kann auf diese Weise vom Trypsin gereinigt werden.

Die Kollagenase bewirkt in sodaalkalischer Lösung die Verdauung des Kollagens, und in saurer Lösung die Glutinerung des Kollagens; in letzterem Falle wird der leimliefernde Komplex nicht zersetzt. Die Wirkungsweise des Ferments ist ganz verschieden im alkalischen und im sauren Medium. Eine derartige Glutinerung des Kollagens kommt auch unter dem Einfluß des adsorptionsweise fraktionierten Pepsins zustande, wie oben bereits angeführt wurde.

VII. Verhalten der pankreatischen Fermente gegen Säuren.

Am günstigsten für die Tätigkeit der pankreatischen Fermente ist ein sodaalkalisches Milieu in einer Konzentration von 0,25 Proz. Die tryptische Verdauung erfolgt aber auch in neutraler Lösung. Saure Reaktion vernichtet die Trypsinwirkung.

In der folgenden Tabelle sind die Beobachtungen über den Einfluß der Reaktion auf die Aktivität des pankreatischen Auszugs im Hinblick auf das Kollagen und das Fibrin zusammengestellt.

	Kollagen	Fibrin
Auszug II: neutral . . .	verdaut langsam und unvollständig (+)	verdaut gut +
Pepsin: neutral	ebenso (+)	verdaut nicht 0
Auszug II: HNO ₃ , 0,25 proz.	verdaut unvollständ. (+)	verdaut unvollständ. (+)
Pepsin: HNO ₃ , 0,25 proz.	verdaut vollständig +	verdaut gut +
Auszug II: HCl, 0,25 proz.	verdaut +	verdaut +
Pepsin: HCl, 0,25 proz.	" +	" +

Es ergibt sich, daß die pankreatischen Fermente das Kollagen und das Fibrin auch in saurer Lösung, wenn auch langsamer und unvollständig, zu verdauen vermögen. Die Natur der Säure scheint von Bedeutung zu sein, in Gegenwart von HCl verläuft die Verdauung z. B. besser als bei Anwesenheit von HNO_3 . In neutraler Lösung wird das Kollagen schlechter durch Trypsin II verdaut als das Fibrin; entgegengesetzte Verhältnisse werden bei Pepsin angetroffen.

VIII. Behandlung des Kollagens und des Fibrins mit Salpetersäure.

Kollagen und Fibrin werden mit 5proz. wässriger Salpetersäure bei Zimmertemperatur während 3 Stunden digeriert. Nach dem Waschen mit kaltem Wasser, mit Sodalösung und wieder mit Wasser werden beide Substanzen mit den Fermenten in Berührung gebracht. Sie färben sich wegen teilweiser Nitrierung gelb.

	Kollagen- NO_2	Fibrin- NO_2
Auszug II: Na_2CO_3 , 0,25proz.	verdaut unvollständ. (+) verdaut + verdaut nicht 0	Quellung [0]
Pepsin: HNO_3 , 0,25proz.		verdaut +
Auszug II: neutral. .		„ +

Nitriertes Kollagen wird, wenn auch ziemlich unvollständig, von Tryptase in alkalischer Lösung verdaut; nitriertes Fibrin erleidet dagegen nur eine Quellung. Bei neutraler Reaktion wird Nitrokollagen gar nicht verdaut, während Nitrofibrin gut verdaut wird.

Die Nitrogruppe, die in das Molekül des Proteins eingetreten war, wurde auf irgend eine Weise mit den koordinierenden Gruppierungen des Ferments eng verbunden; dabei traten bei Kollagen und bei Fibrin ganz verschiedenartige Erscheinungen auf. Die Anwesenheit von Soda scheint beim Kollagen teilweise die *hemmende Wirkung der Nitrogruppe* aufzuheben, daher findet eine, wenn auch unvollkommene, Verdauung des Nitrokollagens statt. Beim Fibrin dagegen wirkt die Gegenwart von Soda *kondensierend* auf den nitrierten Komplex; die locker sitzende Nitrogruppe wird anscheinend leicht von der Tryptase angegriffen.

IX. Fixierung von enzymotropen Gruppierungen.

Bei der Untersuchung von Koordinationsbeziehungen zwischen angreifbaren Bindungen oder Gruppierungen im Proteinkomplex und zwischen aufschließenden Konfigurationen des Fermentsubstrats erscheint als eine der wichtigsten Methoden die Fixierung von enzymotropen Gruppierungen verschiedener organischer Verbindungen. In dieser Richtung sind zwei Wege möglich:

1. Entweder wird die Enzymwirkung unter Hinzufügen verschiedener organischer Verbindungen hervorgerufen, welche die enzymotrope Gruppierung des Proteins oder die haptophore Gruppierung des Ferments zu beeinflussen vermögen; oder

2. das Protein selbst wird einer Vorbehandlung unterworfen bzw. es wird ein bestimmtes Proteinderivat dargestellt und dasselbe mit verschiedenen Fermenten geprüft.

Beim Studium der Kollagenase wurden beide Richtungen eingeschlagen.

1. *Versuche mit dem Hinzufügen von organischen Verbindungen.*

Es wurden solche organische Verbindungen ausgewählt, die, wie man vermuten könnte, mit enzymotropen oder mit haptophoren Gruppierungen des Systems: (Substrat + Enzym) zu reagieren imstande waren. Zu derartigen Verbindungen gehören z. B.: Trinitrophenol, Benzaldehyd und Phenylendiamin.

	Kollagen	Fibrin
Trinitrophenol		
Trypsin II	nicht verdaut 0	nicht verdaut 0
Pankreatin	" " 0	verdaut +
Pepsin	" " 0	nicht verdaut 0
Benzaldehyd		
Trypsin II	nicht verdaut 0	verdaut +
Pankreatin	" " 0	" +
Pepsin	" " 0	" +
Phenylendiamin		
Trypsin II	nicht verdaut 0	langsam verdaut (+)
Pankreatin	" " 0	verdaut +
Pepsin	verdaut +	" +

Die Anwesenheit einer kleinen Menge Pikrinsäure stört die Verdauung des Kollagens durch Trypsin II, Pankreatin und Pepsin, sowie auch die Verdauung des Fibrins durch Trypsin und Pepsin. *Pikrinsäure beeinflusst nicht die Verdauung des Fibrins durch Pankreatin.* Auch der Benzaldehyd hemmt die Wirkung des Trypsins, Pankreatins und Pepsins auf Kollagen, er beeinflusst aber nicht die Verdauung des Fibrins durch die genannten Fermente.

Endlich zeigt das Phenylendiamin keine störende Wirkung auf die Verdauung des Fibrins durch Trypsin, Pankreatin und Pepsin, aber es setzt die Wirkung der ersten beiden Fermente auf Kollagen herab, während die Pepsinwirkung gar nicht verändert wird.

2. Versuche mit Kollagen und Fibrin nach Behandlung derselben mit verschiedenen organischen Verbindungen.

Tendokollagen, Fibrin und Tierhaut (Blöße, Krupon des Rindes oder des Kalbes) wurden einige Stunden geschüttelt mit Lösungen von den unten aufgezählten Stoffen; dann wurden sie sorgfältig ausgewaschen, entwässert, getrocknet und die gewogenen Proben gegen Fermente geprüft. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Die Wirkung der Fermente auf die substituierten Proteine.

	Kollagen		Haut		Fibrin	
1. Trinitrophenol						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pankreatin . . .	nicht verdaut	0	" "	0	" "	+
Pepsin	" "	0	" "	0	nicht verdaut	0
2. Nitrotoluol						
Trypsin II . . .	verdaut	+	verdaut	+	verdaut	+
Pankreatin . . .	"	+	"	+	"	+
Pepsin	"	+	"	+	"	+
3. Trinitrotoluol						
Trypsin II . . .	verdaut	+	verdaut	+	verdaut	+
Pankreatin . . .	"	+	"	+	"	+
Pepsin	"	+	"	+	"	+
4. Benzaldehyd						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pankreatin . . .	"	+	" "	0	"	+
Pepsin	nicht verdaut	0	" "	0	"	+
5. Anisaldehyd						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pankreatin . . .	"	+	" "	0	"	+
Pepsin	"	+	" "	0	"	+
6. Formaldehyd						
Trypsin II . . .	nicht verdaut	0	nicht verdaut	0	nicht verdaut	0
Pankreatin . . .	" "	0	" "	0	" "	0
Pepsin	" "	0	" "	0	" verdaut	+
7. Naphthalinsulfochlorid						
Trypsin II . . .	verdaut	+	leicht gequollen	(0)	verdaut	+
Pepsin	"	+	gelockert	(0)	"	+
8. Phenylhydrazin						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pepsin	nicht verdaut	0	" "	0	nicht verdaut	0
9. Phenol						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pepsin	"	+	verdaut	+	"	+
10. Resorcin						
Trypsin II . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Pepsin	"	+	gequollen	[0]	"	+

Die nähere Zusammenstellung der Beobachtungen gestattet folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Kollagen, das mit Trinitrophenol vorbehandelt war, wird widerstandsfähig gegen Pepsin und Pankreatin, wird aber angegriffen von Kollagenase (Trypsin II).

2. Pikriniertes Fibrin wird pepsinfest.

3. Nitrotoluol und Trinitrotoluol üben keinen Einfluß auf Fibrin und Kollagen in bezug auf ihr Verhalten gegen Fermente aus.

4. Bemerkenswert ist die Wirkung von Aldehyden. Mit Formaldehyd vorbehandeltes Kollagen und Fibrin sind völlig resistent gegenüber Kollagenase und Pankreatin; mit Formaldehyd behandeltes Fibrin wird von Pepsin angegriffen.

Die enzymotropen Gruppierungen sind im Fibrin und im Kollagen verschieden.

5. Fibrin, das mit Benzaldehyd vorbehandelt war, ist dem Angriff der Kollagenase, des Pepsins und des Pankreatins zugänglich. Kollagen wird nach Vorbehandlung mit Benzaldehyd *pepsinfest*.

6. Anisaldehyd übt keinen Einfluß auf Fibrin und Kollagen aus. Dasselbe gilt von der Wirkung des β -Naphthalinsulfochlorids; die von dieser Substanz geschützten Amino- und Imidogruppen nehmen keinen Anteil an enzymotropen Komplexen. Ähnlich verhalten sich Phenol und Resorcin. Vorbehandlung mit Phenylhydrazin ruft erhöhte Resistenz des Kollagens und Fibrins gegenüber Pepsinwirkung hervor.

Wir haben bis jetzt das Verhalten der Haut, die mit oben erwähnten Substanzen vorbehandelt wurde, hinsichtlich der Fermente nicht besprochen. Es ist festzustellen, daß der *Hautstoff* etwas andere Eigenschaften als das Sehnenkollagen (*Sehnenstoff*) besitzt. Die Haut ist von vornherein mehr resistent gegen Trypsin II und Pankreatin; sie ist mit Pepsin leicht verdaulich in saurer Lösung und verdaulich durch Kollagenase in sodaalkalischer Lösung; von Kollagenase wird sie in saurer Lösung glutiniert.

Pikrinsäure, Ameisensäure, Benzaldehyd, Anisaldehyd, sowie auch β -Naphthalinsulfochlorid, Phenylhydrazin und Resorcin blockieren die pepsinotropen und trypsinotropen Gruppierungen des Hautstoffs.

Nitrotoluol und Trinitrotoluol begünstigen die Wirkung von tryptischen Fermenten.

Phenol und Resorcin bewirken eine erhöhte Resistenz gegenüber den Fermenten.

Die vorstehenden Versuche wurden mit nicht getrennten Fermenten ausgeführt. Zurzeit werden sie mit adsorptionsweise fraktionierten Fermenten wiederholt.

X. Untersuchung der Fermente aus verschiedenen Organen.

Wir haben die Fermente aus Pankreas, Leber und Milz des Rindes dargestellt.

Herauspräparierte und zerhackte Organe eines frisch geschlachteten Tieres wurden entweder mit Sodalösung oder mit Glycerin 20 Stunden bei 26 bis 28° digeriert. Auf 440 g Leberbrei nimmt man z. B. 400 ccm 0.25proz. Sodalösung und 50 ccm Chloroform; oder auf 440 g Material nimmt man 400 ccm 50proz. Glycerinlösung und 50 ccm Chloroform.

Die Wirkung der Auszüge auf Kollagen, Fibrin und Haut ist in folgender Tabelle angegeben:

	Kollagen		Hautstoff		Fibrin	
1. Pankreas						
Sodauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	verdaut	+	nicht verdaut	0	verdaut	+
Glycerinauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	"	+	" "	0	"	+
2. Milz						
Sodauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	nicht verdaut	0	nicht verdaut	0	nicht verdaut	0
Glycerinauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	verdaut	+	" "	0	verdaut	+
Sodauszug, HCl	glutiniert	[+]	" "	0	nicht verdaut	0
Glycerinauszug, HCl	"	[+]	" "	0	verdaut	+
3. Leber						
Sodauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	nicht verdaut	0	fällt auseinander	0	nicht verdaut	0
Glycerinauszug, Na ₂ CO ₃ . . .	"	"	wird locker	0	"	"
Sodauszug, HCl	"	"	" hart	0	"	"
Glycerinauszug, HCl	"	"	" "	0	"	"

Soda- und Glycerinauszüge aus Pankreas verdauen gleich gut Kollagen und Fibrin. Aus Milz kann man einen fermenthaltigen Glycerinauszug gewinnen, welcher Kollagen und Fibrin in sodaalkalischer Lösung angreift; aber der Sodauszug aus Milz enthält noch ein Ferment (*Glutinas*), welches das Kollagen in saurem Medium glutiniert und indifferent gegen Fibrin ist. Der Glycerinauszug aus Milz enthält ebenfalls die Glutinas und außerdem ein Ferment, welches das Fibrin in Gegenwart von Säure verdaut.

Sowohl Sodauszug wie Glycerinauszug aus Leber lassen Kollagen und Fibrin in alkalischer und in saurer Lösung unangegriffen, aber sie wirken eigenartig auf die Haut ein; ohne die Haut zu lösen, machen sie sie entweder locker, daß sie auseinanderfällt (in alkalischer Lösung), oder sie machen sie hart (in saurer Lösung).

XI. Untersuchung des Pankreassaftes.

Es war von Interesse aufzuklären, ob im Pankreassaft von Hunden, welche nach *I. P. Pawlow* operiert worden waren, die kollagenlösenden und kollagenverleimenden Fermente vorhanden sind. Wir haben untersucht: Pankreassaft ohne Kinase und mit Kinase, und die Kinase allein auf Fibrin und Kollagen in alkalischen und sauren Lösungen.

Versuche mit dem Pankreassaft des Hundes.

	Kollagen	Fibrin
	1. Pankreassaft Nr. 1 ohne Kinase	
Na_2CO_3 . .	fast unverändert	verdaut in 24 Stunden
HCl	" " "	" " 24 "
	2. Pankreassaft Nr. 1 mit Kinase	
Na_2CO_3 . .	verdaut in 1 Stunde	verdaut in 1 Stunde
HCl	" " 1 "	nur gequollen
	3. Pankreassaft Nr. 2 ohne Kinase	
Na_2CO_3 . .	unvollständig verdaut	vollständig verdaut in 2 $\frac{1}{2}$ Stdn.
HCl	" " "	" " " 24 "
	4. Pankreassaft Nr. 2 ohne Kinase, mit dem Hinzufügen der Kinase	
Na_2CO_3 . .	unvollständig verdaut	vollständig verdaut
HCl	" " "	" " "
	5. Kinase aus Darm	
Na_2CO_3 . .	unvollständig verdaut	nicht verdaut
HCl	" " "	" " "

Der Pankreassaft des Hundes ist imstande, auch ohne Zusatz von Enterokinase Fibrin gut zu verdauen, sowohl in alkalischer, als auch in saurer Lösung; dieser Pankreassaft wirkt nur sehr schwach auf Kollagen. In Gegenwart von Kinase wird das Kollagen sehr schnell verdaut in alkalischer und in saurer Lösung; in diesem Falle wird Fibrin nur in alkalischer Lösung angegriffen, in saurer Lösung erleidet das Fibrin nur eine Quellung.

Kinase allein wirkt gar nicht auf Fibrin in saurer und in alkalischer Lösung. In bezug auf Kollagen ruft Kinase in alkalischer Lösung nur langsame und unvollkommene Verdauung hervor; in saurer Lösung erfolgt eine verlangsamte Leimbildung, d. h. *die Kinase besitzt schwach ausgeprägte Eigenschaften der Kollagenase und der Glutininase, die in Organauszügen angetroffen wurden.*

XII. Untersuchungen von Fermenten der Darmflora.

Glycerinauszüge aus den Fäkalien verschiedener Tiere¹⁾ wurden auf die Anwesenheit von Tryptase, Kollagenase und Glutininase geprüft.

¹⁾ Das Material wurde aus dem Zoologischen Garten in Leningrad genommen.

Tierart	Kollagen		Fibrin	
1. Tiger				
Na ₂ CO ₃	verdaut	+	unvollständig verdaut	(+)
HCl	"	+	nicht verdaut	0
2. Löwe				
Na ₂ CO ₃	fast unverändert	(0)	verdaut	+
HCl	nicht verdaut	0	"	+
3. Pavian				
Na ₂ CO ₃	fast unverändert	(0)	verdaut	+
HCl	Quellung	(0)	Quellung	(0)
4. Hyäne				
Na ₂ CO ₃	<i>Glutiniierung</i>	[0]	Quellung	0
HCl	"	[0]	unverändert	0
5. Kornrabe				
Na ₂ CO ₃	nicht verdaut	0	nicht verdaut	0
HCl	verdaut	+	Quellung	[0]
6. Fasan				
Na ₂ CO ₃	verdaut	+	verdaut	+
HCl	"	+	"	+

In der Darmflora verschiedener Tierarten konnte man die Gegenwart folgender Fermente feststellen:

- Fermente, welche das *Kollagen* in saurer und alkalischer Lösung *verdauen* (Nr. 1).
- Fermente, welche das *Fibrin* in saurer und alkalischer Lösung *verdauen* (Nr. 2).
- Fermente, welche das *Fibrin* nur in alkalischer Lösung *verdauen* (Nr. 3).
- Fermente, welche das *Kollagen* nicht nur in saurer, sondern auch in sodaalkalischer Lösung *glutinieren*.

Der letzte Fall ist von besonderem Interesse, weil er zwei Arten der Glutinasen zu unterscheiden gestattet. Die eine ruft die Glutiniierung des Kollagens in saurer Lösung hervor (*α-Glutinase*); die andere glutiniert das Kollagen in sodaalkalischer Lösung (*β-Glutinase*). Die beiden Glutinasen spalten nur bis zur Gallertenbildung; sie sind nicht imstande, auch bei beliebig langer Einwirkungsdauer das Kollagen weitergehend zu spalten.

Es wurden noch Fermente aufgefunden, die das Kollagen in saurer oder in alkalischer Lösung ohne Gallertenbildung bzw. ohne Glutiniierung lösen; im ersten Falle haben wir es mit pepsinartigen Fermenten (Peptasen) zu tun, im zweiten Falle mit Kollagenase.

Wir haben ferner Diphtherietoxin auf das Vorhandensein dieser Fermente geprüft. Es hat sich ergeben, daß Diphtherietoxin befähigt

ist, das Kollagen in saurer Lösung zu glutinieren, es enthält also α -Glutinase; das Toxin verändert das Fibrin nicht in saurem und in alkalischem Medium: es greift das Kollagen in alkalischer Lösung nicht an. Das Diphtherietoxin enthält also keine Kollagenase, Peptase und Tryptase.

Das eigenartige Verhalten des Kollagens in saurer und in alkalischer Lösung in Gegenwart von verschiedenen Fermenten gestattet uns, an die Frage nach dem Wesen des Glutinierungsvorgangs etwas näher heranzutreten. Ist die Stufe der Glutinbildung unumgänglich notwendig bei jeder fermentativen Zersetzung des Kollagens oder braucht sie nicht durchlaufen zu werden, wenn sich die tryptischen und peptischen Zerlegungen des Kollagens auf verschiedenen Wegen vollziehen? Es steht fest, daß das Glutin sowohl in saurer Lösung (α -Glutinase) als auch in alkalischer Lösung (β -Glutinase) entstehen kann, und daß saure oder alkalische Reaktion allein keine weitere Hydratation des Glutins hervorrufen kann unter Verlust des gallertigen Zustands und der leimenden und klebenden Eigenschaften. Andererseits hatte es sich gezeigt, daß bei Anwesenheit von andersartigen Fermenten (Kollagenase und Peptase) das Kollagen die Stufe des Glutins umgehen kann. Alle diese Umstände und Erscheinungen führen zu der Ansicht, daß man das Glutin (Leim) als ein sekundäres Produkt der fermentativen Kondensation oder Synthese (Reversion) betrachten kann, das aus irgendwelchen primären Umwandlungsstufen im Verlauf der Hydrolyse entstanden ist.

Röntgenoskopische Beobachtungen von *Herzog* und *Gonell* (l. c.) hatten gezeigt, daß das Kollagen eine micellar-kristallinische Struktur aufweist und ein verhältnismäßig niedriges Molekulargewicht (600) aufweist, während das Glutin keine Interferenzen liefert, die für die kristallinischen Körper eigentümlich sind und ein sehr hohes Molekulargewicht aufweist (bis 30000). Die Glutinierung des Kollagens kann man sich als einen synthetischen Vorgang vorstellen, bei dem ein viel komplizierterer Körper als Kollagen gebildet wird. Die Bildung desselben erfolgt auf Kosten von Substanzen, die bei der Spaltung von zyklischen Grundkernen (Proteonen) im ersten Stadium der Hydrolyse entstehen. Gespaltene Kerne führen infolge gegenseitiger Kombinationen und Kondensationen zu den hochmolekularen kolloiden Systemen.

Ein ähnlicher Vorgang spielt sich auch bei längerem Kochen des Kollagens mit Wasser ab oder bei biologischen Temperaturen unter Mitwirkung eines eigentümlichen Ferments, der Kollagenase, wie von uns nachgewiesen worden ist.

Betrachten wir die oben entwickelte Vorstellung über die sekundäre, synthetische Natur des Glutins als recht wahrscheinlich, so muß man annehmen, daß bei der fermentativen Bildung des Glutins bzw. bei

der Glutininierung des Kollagens zwei besondere Faktoren mitspielen; ein spaltendes und ein kondensierendes Agens. Die Natur des Spaltungsvorgangs könnte aber derart sein, daß die Spaltungsprodukte eine selbständige Kondensation einer bestimmten Art erfahren und Kondensationskomplexe liefern, welche eine Widerstandsfähigkeit gegen schwache Säuren und Alkalien, sowie gegen Wasser und Fermentwirkungen aufweisen.

Auf Grund der vorgebrachten Ansichten sei es uns gestattet, die Glutininase als ein synthetisches Ferment zu betrachten, während die Kollagenase als ein hydrolytisches, aber nur sehr oberflächlich spaltendes Ferment peptischer Art aufzufassen ist. Es wäre ebenfalls nicht ausgeschlossen, daß die Glutininase und Kollagenase als zwei verschiedene Wirkungen eines und desselben Ferments erscheinen, das je nach den Bedingungen in einem Falle spaltend, im anderen Falle aufbauend fungiert.

Beim experimentellen Teile dieser Arbeit unterstützte mich Fräulein *M. K. Tschigelskaya*.

Über das Vorkommen des Plasmalogens.

I. Mitteilung:

Über das Vorkommen des Plasmalogens in Körperflüssigkeiten¹⁾.

Von

W. Stepp, R. Feulgen und K. Voit.

(Aus der Medizinischen Klinik und dem Physiologischen Institut, Chemische Abteilung der Universität Gießen.)

(Eingegangen am 23. Oktober 1926.)

Vor einiger Zeit haben *R. Feulgen* und *K. Voit*²⁾ in zahlreichen tierischen Geweben mit Hilfe einer ebenso empfindlichen wie charakteristischen mikrochemischen Reaktion eine Substanz nachgewiesen, die *Plasmalogen* genannt wurde. Dieser Körper war in Wasser unlöslich, in organischen Lösungsmitteln aber löslich und konnte den Geweben durch Alkohol entzogen werden. Durch Säuren oder auch durch die Einwirkung von Sublimat lieferte das Plasmalogen eine andere Substanz, die sich von dem Plasmalogen wesentlich unterschied. Dieser Stoff war ebenfalls in Wasser unlöslich, in organischen Lösungsmitteln löslich, mit Wasserdämpfen aber flüchtig, was zu seiner präparativen Darstellung diente. Er zeichnete sich ferner von dem Plasmalogen durch die Anwesenheit einer freien Aldehydgruppe aus, wodurch er wegen der Seltenheit dieser Gruppe in der Biochemie ein besonders charakteristisches Gepräge bekam. Dieser Stoff wurde *Plasmal* genannt und zunächst stillschweigend angenommen, daß die durch Quecksilberchlorid und durch Säuren aus dem Plasmalogen entstehenden Körper identisch seien, wofür ein strikter Beweis indessen noch nicht vorliegt, was aber bisher belanglos war und im Zusammenhang unserer jetzigen Ausführungen auch noch unerheblich ist. Bei der Entstehung von *Plasmal* aus *Plasmalogen*, die vielleicht unter Abspaltung einer bisher noch unbekanntenen Komponente erfolgt, wirken Säuren nach Maßgabe der Wasserstoffionenkonzentration, der Temperatur und Zeit [*Voit*³⁾],

¹⁾ Diese Befunde lagen schon im Jahre 1924 vor, sind aber aus äußeren Gründen noch nicht veröffentlicht worden.

²⁾ *R. Feulgen* und *K. Voit*, *Pflügers Arch.* **206**, 389, 1924.

³⁾ *K. Voit*, *Zeitschrift f. Biologie* **88**, 223, 1925.

während Sublimat auch bei sehr geringer Konzentration in einer bisher noch nicht gemessenen sehr kleinen Zeit wirksam ist.

Das Plasmal färbt sich, entsprechend seiner Aldehydnatur, in fuchsinschweflicher Säure sofort intensiv violett, das Plasmalogen, das keine freie Aldehydgruppe enthält, an sich nicht, wohl aber bei längerer Einwirkung des Reagenzes, weil dieses stets sauer reagiert, und daher aus Plasmalogen Plasmal frei macht. Der aus fuchsinschweflicher Säure und Plasmal entstehende Farbstoff ist außerordentlich ergiebig, worauf die große Empfindlichkeit der Reaktion zurückzuführen ist.

Unter „Plasmalreaktion“ wurde die Violettfärbung mit fuchsinschweflicher Säure verstanden, welche von selbst nach längerer Zeit, in Gegenwart von Sublimat oder nach Vorbehandlung mit Sublimat aber sofort eintritt. So bewirkt Sublimat eine sehr ausgeprägte Verschiebung in der Zeit, in der die mit und ohne Sublimat angestellten Reaktionen sichtbar werden, und diese bevorzugte Wirkung des Sublimats macht die Reaktion zu einer außerordentlich charakteristischen. Sie eignet sich nicht nur zur Erkennung des Plasmalogenes in Körperflüssigkeiten, sondern vor allem auch zum mikrochemischen Nachweis in mikroskopischen Präparaten. Wird z. B. ein plasmalogenhaltiger Gefrierschnitt in fuchsinschwefliche Säure eingetaucht und gleichzeitig auch ein solcher, der vorher kurze Zeit in Sublimatlösung gestanden hatte und dann ausgewaschen worden war, so entsteht in dem mit Sublimat vorbehandelten Schnitt nach wenigen Augenblicken eine intensiv violette Färbung, während der andere Schnitt erst nach Stunden eine Farbstoffbildung entstehen läßt.

Mit dieser Methode haben *Feulgen* und *Voit* das Plasmalogen in zahlreichen *tierischen Zellen*, so in Muskelgeweben und in parenchymatösen Organen nachgewiesen. Es fragt sich, ob dieser Stoff auch in *Körperflüssigkeiten* vorkommt.

Versetzt man *Serum* mit sehr wenig fuchsinschweflicher Säure, so entsteht sofort ein roter Farbstoff, der aber nichts mit einer Plasma-reaktion zu tun hat, sondern auf einer Zersetzung des Reagenzes beruht. Da man also beim Arbeiten mit fuchsinschweflicher Säure in biologischen Flüssigkeiten das Opfer grober Täuschungen werden kann, so ist es wichtig, zu wissen, daß sich die fuchsinschwefliche Säure unter Bildung eines roten Farbstoffs zersetzt, wenn eine Verarmung an freiem SO_2 eintritt. So kann man schon starke Rotfärbungen hervorrufen, wenn man etwa 100 ccm Wasser mit 2 Tropfen einer fuchsinschweflichen Säure von der bei uns gebräuchlichen Zusammensetzung vermischt. Der rote Farbstoff entsteht nicht sofort, sondern nach einigen Minuten. Diese Zersetzung wird begünstigt, wenn die Flüssigkeit, die mit der fuchsinschweflichen Säure vermischt wird, Säuren bindet. Aus dem

Gesagten geht hervor, daß man unter ein gewisses Minimum Reagens zweckmäßig nicht herunter geht, und daß es beim Vorliegen von säurebindenden Flüssigkeiten geboten ist, die Flüssigkeit zuvor mit Mineralsäuren bis zu einer geeigneten Acidität anzusäuern.

Hieraus ergibt sich die Arbeitsweise, mit der wir Plasmalogen in Körperflüssigkeiten nachweisen; sie ist im übrigen identisch mit dem Verfahren, mit dem *Feulgen* und *Voit* das Plasmalogen in einer aus Geweben hergestellten Lipoidemulsion nachgewiesen haben:

Es werden zwei Reagenzgläser mit je 2 ccm Serum beschickt, und in das eine Glas 2 ccm 0,3 n HCl, in das andere aber 2 ccm 0,3 n HCl, welche 1 Proz. Sublimat gelöst enthält, hineingegeben. Darauf vermischt man den Inhalt beider Reagenzgläser mit je 2 ccm fuchsinschwefliger Säure. Der Erfolg ist folgender: Der Inhalt des sublimathaltigen Reagenzglases färbt sich in wenigen Minuten blauviolett, während der Inhalt des anderen Glases vollkommen ungefärbt bleibt, innerhalb einer Zeit, welche für die maximale Ausbildung des Farbstoffs in dem sublimathaltigen Reagenzglase erforderlich ist. Nach etwa 1 Stunde entsteht auch in dem sublimatfreien Glase der Farbstoff, und es dauert einige Stunden, bis sich dieser zu seiner maximalen Stärke entwickelt hat. Die Geschwindigkeit, mit der die Farbstoffe in den einzelnen Proben entstehen, ist abhängig von der Menge des vorhandenen Plasmalogens; stets aber erscheint der Farbstoff in dem sublimathaltigen Glase sehr viel früher als in dem sublimatfreien. Auf diesen Unterschied kommt es bei einer scharfen Erkennung des Plasmalogens an; zu einer Plasmalreaktion mit Plasmalogen gehören also stets zwei Proben. Versetzt man Serum nur mit Säure, läßt über Nacht stehen und gibt dann fuchsinschweflige Säure hinzu, so entsteht der Farbstoff schnell, etwa in derselben Weise, als ob das Serum mit sublimathaltiger Salzsäure versetzt und dann sofort mit dem Reagens vermischt worden wäre. Das Sublimat und die Säure wirken eben in bezug auf das Manifestwerden der Aldehydgruppe in gleicher Weise, aber verschieden schnell.

Bisher gab es in der Biochemie der höheren Tiere nur zwei Stoffe, welche mit der fuchsinschwefligen Säure unter Farbstoffbildung reagieren können, nämlich die *Thymonucleinsäure*, wenn aus ihrem Molekül durch milde Säurewirkung die Purinkörper abgespalten worden waren (Nuclearreaktion, Nuclealfärbung), und der *Acetaldehyd*. Beide kommen hier nicht in Betracht. Der Acetaldehyd ist ein Stoffwechselprodukt, das zwar in tierischen Geweben entsteht, aber nur *intermediär*, so daß es des „Abfangverfahrens“ bedarf, um seiner habhaft zu werden (*C. Neuberg*), und wenn Acetaldehyd auch von *Stepp* und *Feulgen* aus dem Harn isoliert worden ist, so kommt er doch nur in so geringen Mengen vor, daß er nicht unmittelbar mit fuchsinschwefliger Säure

nachgewiesen werden kann; das gleiche gilt für Blut. Ganz abgesehen davon ist der Farbton des aus Acetaldehyd und der fuchsinschwefligen Säure entstehenden Farbstoffs ganz verschieden von dem bei der Plasmalreaktion entstehenden; er ist viel rotstichiger, während der aus Plasmal und der fuchsinschwefligen Säure entstehende Farbstoff ausgesprochen blautstichig ist. Die Differentialdiagnose zwischen Plasmalogen und der Thymonucleinsäure ist leicht mit vollkommener Eindeutigkeit zu stellen; sie liegt schon in dem Wesen der „Plasmalreaktion“ begründet; denn Sublimat ist nicht imstande, die Thymonucleinsäure so zu verändern, daß mit fuchsinschwefliger Säure unter Farbstoffbildung reagierende Gruppen frei würden. Durch Säuren werden allerdings aus der Thymonucleinsäure solche Gruppen frei, wenn auch weniger leicht als aus Plasmalogen, und das ist auch der Grund, weshalb zur Erkennung des Plasmalogens Sublimat zum Freimachen jener Gruppen verwandt wird.

Aus den mitgeteilten Überlegungen und Befunden ziehen wir den Schluß, daß auch im *Serum* Plasmalogen vorkommt.

Die Intensität der Reaktion war bei verschiedenen Seren verschieden groß, doch soll hierauf erst später an Hand einer inzwischen von *Feulgen* und *Imhäuser*¹⁾ ausgearbeiteten Methode zur quantitativen Bestimmung des Plasmalogens im Serum eingegangen werden, es sei aber schon jetzt mitgeteilt, daß die Plasmalreaktion mit *Nabelschnurblut* sehr viel schwächer ausfiel als mit *Placentablut*.

Die *Stromata* der roten Blutkörperchen, dargestellt nach *Pascucci*²⁾, gaben ebenfalls eine starke Reaktion.

Ganz außerordentlich intensiv fiel die Plasmalreaktion aus in einer Probe dicken gelben *Eiters* (aus einem Emyem der Gallenblase gewonnen). Es war dies die stärkste bis jetzt an Körperflüssigkeiten beobachtete Reaktion. Schon beim Einfließenlassen der fuchsinschwefligen Säure entstand die violette Farbe. Eine getrennte Untersuchung von Eiterkörperchen und Eiterserum zeigte, daß das Plasmalogen vorwiegend in den zelligen Bestandteilen des Eiters enthalten ist.

Fruchtwasser war in zwei Fällen deutlich positiv, *Liquor cerebrospinalis* aber und *Kammerwasser* des Auges negativ. Desgleichen haben wir beim *Harn* eine positive Reaktion noch nicht beobachten können, auch nicht, als Harn im Vakuum eingengt war. Bei *Hühner-eiern* gibt das *Weiß*e nur eine sehr schwache Reaktion, während das *Eigelb* reich an Plasmalogen ist. *Milch* gibt eine deutliche Plasmalreaktion, wobei ein wesentlicher Unterschied zwischen Frauen- und Kuhmilch nicht aufgefallen ist. *Colostrum* ist sehr viel reicher an

¹⁾ Diese Zeitschr. 181, 30, 1927.

²⁾ *Pascucci*, Hofmeisters Beitr. 6, S. 546.

Plasmalogen als Milch, und so scheint es, daß Körperflüssigkeiten dann besonders reich an diesem Stoff sind, wenn sie viel zellige Elemente enthalten (s. oben beim Eiter), und daß in solchen Fällen das Plasmalogen vorwiegend in den Zellen sitzt. Körperflüssigkeiten, welche zellarm sind, können dann reich an Plasmalogen sein, wenn sie auch eiweißreich sind; denn das Plasmalogen ist an sich in Wasser unlöslich, kommt in Flüssigkeiten also kolloidal gelöst vor und bedarf zu seiner stabilen Suspension wohl eines Schutzkolloids. Daher kann Serum erhebliche Mengen von Plasmalogen enthalten, Cerebrospinalflüssigkeit und Kammerwasser dagegen nicht, und so ist es auch wohl zu erklären, daß *Speichel* zwar eine deutliche Reaktion gibt, daß aber hier die Farbstoffbildung und damit das Plasmalogen auf die zelligen Bestandteile beschränkt ist.

**Das Lithiumcitrat als allgemeines koagulationshemmendes
Mittel in der minimetrischen Blutuntersuchung.
Zugleich ein Beitrag
zur Systematisierung der Blutmikroanalyse.**

Von
G. De Toni.

(Aus dem Laboratorium des städtischen Kinderspitals „Cesare Arrigo“
zu Alessandria, Italien.)

(Eingegangen am 8. Dezember 1926.)

Die Anzahl der Mikromethoden, die uns gestatten, die Schwankungen der meisten organischen und anorganischen Blutbestandteile — bei normalen oder pathologischen Zuständen — selbst im Verlauf experimenteller Versuche mit genügender Genauigkeit festzustellen, ist heutzutage sehr groß.

Es stehen uns bereits zwei brauchbare analytische Methoden zur Verfügung: die erste verdankt man *Folin* und *Wu* (1); sie ermöglicht, die wichtigsten organischen Blutbestandteile zu ermitteln; die zweite wurde von *Kramer* und *Tisdall* (2) ausgearbeitet und erlaubt die Bestimmung der meisten anorganischen Stoffe.

Verwendet man beide Methoden zur Untersuchung desselben Blutes, so läßt sich über dessen chemische Zusammensetzung ein ziemlich vollständiges Bild gewinnen (3).

Ich beschäftige mich seit einigen Jahren mit diesen zwei Verfahren, die ich gleichzeitig zum Studium der chemischen Konstitution des kindlichen Blutes verwende.

Bekanntlich ist bei der *Folin-Wu*-schen Methode Oxalatblut erforderlich, während bei der Bestimmung nach *Kramer-Tisdall* koagulationshemmende Stoffe nicht zu verwenden sind; das Blut soll sofort mit destilliertem Wasser hämolysiert und abgewogen werden. „Diese Operationen sind selbstverständlich äußerst unbequem und zeitraubend; erstens muß der Blutspender stets in der Nähe des Laboratoriums sein, was in der Praxis nicht immer möglich ist; zweitens erhält man am Ende der Berechnung Werte, die nicht auf das Blutvolumen, sondern auf das Gewicht bezogen werden und infolgedessen nicht gänzlich mit denen von *Folin-Wu* zu vergleichen sind. Schließlich möchte ich noch

bemerken, daß man bei der Blutgewinnung nicht immer weiß, eine wie große Blutmenge erhalten werden kann. So resultierte mitunter bei meinen Versuchen eine nur für das eine Verfahren ausreichende Blutmenge und eine zu geringe für das andere.

Alle diese Schwierigkeiten würden natürlich wegfallen, wenn es gelänge, eine blutgerinnungshemmende Substanz zu finden, bei deren Anwendung die Bestimmung der organischen und anorganischen Einzelbestandteile ungestört bliebe.

Ein derartiger Stoff darf selbstverständlich weder ein Ammonium- noch ein Natrium- noch ein Kaliumsalz sein, da dann die Bestimmung des Reststickstoffs bzw. der beiden eben erwähnten Metalle falsche Werte liefern würde. Auch die Verwendung eines Oxalats ist wegen der Ausfällung des Calciums nicht möglich.

Von diesen Erwägungen ausgehend, habe ich das Lithium, das als Oxalat bereits von *Folin* verwendet worden ist (4), in Betracht gezogen; ich habe Versuche mit Lithiumfluorid und Lithiumcitrat angestellt, schließlich letzteres vorgezogen.

Das dreibasische, zitronensaure Lithium ist im Handel erhältlich; man kann es sich aber selber ganz leicht auf folgende Weise darstellen:

In einen großen Becher gibt man 10 g reines Lithiumcarbonat, 20 g reine Citronensäure und 150 bis 200 ccm heißes destilliertes Wasser, verrührt alles langsam und vorsichtig, verdampft bis zur Trockne und bewahrt es in gut verschlossener Flasche auf.

Soviel ich weiß, ist dieses Salz in der Mikromethodik bisher noch nicht verwendet worden. Bei einigen Vorversuchen konnte ich feststellen, daß 14 mg des neutralen wasserfreien Salzes ausreichen, um die Gerinnung von 10 ccm Blut zu verhindern. In der Praxis ist es vorteilhafter, sich einer etwas größeren Menge zu bedienen, jedoch 20 mg nicht zu überschreiten, weil ein Überschuß von Citraten (wie auch andererseits von Oxalaten) die Harnstoffbestimmung stört.

Bevor ich die Ergebnisse meiner Versuche mitteile, will ich noch erörtern, ob der Gebrauch eines alkalischen Citrats im allgemeinen die Bestimmung des Calciums gestattet.

Bei Zusatz eines Citrats zum Blute bildet sich eine Form des zitronensauren Kalks, die nicht ausfällt, sondern in Lösung bleibt [*Sabbatani* (5)]. Diese bekannte Tatsache veranlaßte einige Biochemiker, das Citratblut für die Calciumbestimmung auszuwählen. Ich erwähne z. B. *Jansen* (6), nach dessen Methode das Citratblut verascht und nachher das Calcium titrimetrisch bestimmt wird.

Gegen eine derartige Methode läßt sich theoretisch kein Einwand erheben; das gleiche gilt aber nicht für die Methode von *Denis* (7), die schon von *Denis* und *Talbot* (8) angewandt wurde; bei diesem Verfahren wird zum Citratblut direkt das Ammoniumoxalat hinzugefügt und nachher das ausgefallene Calciumoxalat in üblicher Weise bestimmt.

Diese Methodik wurde bereits von *Kramer, Tisdall* und *Howland* (9) einer Kritik unterzogen; meines Erachtens mit vollem Rechte, da bei Gegenwart eines alkalischen Citrats die Ausfällung des Calciums durch Oxalsalze niemals vollständig ist (*Sabbatani*). Beide Anionen stehen in Konkurrenz gegenüber dem Calcium. Selbst nicht bei Zusatz des Oxalats in größtem Überschuß ist man sicher, das Calcium quantitativ auszufällen.

Diese Einwände fallen aber fort, wenn man ein alkalisches Citrat bei der *Kramer-Tisdallschen* Methode anwendet, weil bei dieser das hämolysierte Blut mit Trichloressigsäure behandelt, das eiweißfreie Filtrat eingedampft und schließlich der Rückstand mit verdünnter Salzsäure versetzt wird.

Das Calcium wird in dieser schwach sauren Ausgangslösung mit Ammoniumoxalat ausgefällt. Wahrscheinlich bleibt in einem derart sauren Milieu die schwache Citronensäure nicht mehr an das Calcium gebunden, so daß dieses Metall quantitativ ausgefällt wird.

Meines Erachtens liegen also keine theoretischen Bedenken vor, ein alkalisches Citrat anzuwenden, um die Blutgerinnung bei der Ausführung der Methode nach *Kramer-Tisdall* zu verhindern.

Im folgenden gebe ich einige Protokolle der von mir ausgeführten Versuche wieder. Zu bemerken ist, daß die ursprüngliche Methode von *Kramer-Tisdall* insoweit etwas abgeändert wurde, als ich der gravimetrischen Natriumbestimmung die viel genauere und weniger zeitraubende *Kramer-Gittlemannsche* titrimetrische Methode (10) vorgezogen habe. Ebenso wurde das Magnesium bei Ausführung der *Briggschen* Methode (11) ermittelt, welche bessere Ergebnisse als die Bestimmung nach *Kramer* und *Tisdall* zeitigt.

Für die Kaliumbestimmung gebrauchte ich 0,01 n Permanganatlösung an Stelle der 0,02 n Lösung. Zur Calciumbestimmung verwandte ich 5 ccm der Ausgangslösung anstatt 4 ccm, um nicht, wie bei der ursprünglichen Methode, einen Teil unbenutzt zu lassen. Selbstverständlich wurden auch die Berechnungen der Calcium- und Magnesiumwerte entsprechend modifiziert. Schließlich bestimmte ich auch den Phosphor in 5 ccm des eiweißfreien Filtrats nach der Methode von *Bell-Doisy-Briggs*. Ich bediente mich eines Kolorimeters nach *Dubosq*.

I. Protokoll.

C. G., gesunder Knabe, 5 Jahre alt, 21. September 1926. Blutgewinnung im nüchternen Zustande. Ein Teil des Blutes wird sogleich aus einer graduierten Spritze in einen 50 ccm fassenden gewogenen Kolben, der 25 ccm destilliertes Wasser enthält, unter langsamer Bewegung hineingegossen und wieder abgewogen. Das Gewicht des Blutes beträgt 5,825 g. Ein anderer Teil des Blutes wird so rasch wie möglich in ein trockenes Reagenzglas gegeben, in das zuvor eine genügende Menge feinpulverisierten neutralen Lithiumcitrats gebracht worden war. Um gleiche Bedingungen zu erzielen, wird ein Teil dieses Citratblutes in einen Meßkolben gegossen und abgewogen. Das Gewicht beträgt 5,614 g. Auch dieses Citratblut

wird wie oben hämolysiert. Nach Enteiweißung beider Blutproben mit Trichloressigsäure und Filtration durch aschefreie kleine Filter [9 cm Durchmesser¹⁾] werden zwei wasserklare Filtrate erhalten, von denen je 5 ccm für die Phosphorbestimmung gewonnen werden. Der Rest wird mit volumetrischen Vollpipetten in zwei Porzellanschalen gebracht und auf dem Wasserbad eingedampft. Das Volumen beider Filtrate beträgt 34 ccm.

Anorganischer Phosphor.

A. Citratblut. Die Vergleichslösung wird auf 20 eingestellt; für die unbekannte Lösung wird 22,3 gefunden (Mittelwert von zehn Ablesungen). Die Berechnung ergibt: 4,81 mg P auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Die Vergleichslösung wird auf 20 eingestellt; für die unbekannte Lösung wird 21,3 (Mittelwert von zehn Ablesungen) gefunden. Die Berechnung ergibt: 4,82 mg P auf 100 g Blut.

Natrium.

A. Citratblut. Die Vorberechnung ergibt $5,614 \times \frac{34}{50} = 3,817$ g Blut, die den 10 ccm der Ausgangslösung entsprechen. Durch Multiplikation mit 0,4 bzw. 0,02, 0,5 oder 0,3125 wird diejenige Menge Blut erhalten, die bei der Natrium- bzw. Kalium-, Calcium- und Magnesiumbestimmung angewandt worden ist. Im vorliegenden Falle beträgt das Gewicht des Blutes 1,527 g. In die Reaktion treten 2,53 ccm einer 0,01 n Natriumthiosulfatlösung ein (Faktor 1,035). Die Berechnung ergibt 197 mg Na auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Bei der Vorberechnung erhält man 3,961 g Blut, von denen 1,584 g zur Natriumbestimmung verwendet werden. Es treten in die Reaktion 2,64 ccm Natriumthiosulfatlösung ein. Die Berechnung ergibt 198 mg Na auf 100 g Blut.

Kalium.

A. Citratblut. Nach Abrechnung des Farbenerzielungsfaktors bleiben 1,81 ccm der 0,01 n Kaliumpermanganatlösung übrig; das entspricht 0,128 mg K. Die Blutmenge beträgt 0,076 g. Die Berechnung ergibt 168 mg K auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Es bleiben 1,95 ccm Permanganatlösung übrig; das entspricht 0,138 mg K. Das Gewicht des Blutes beträgt 0,079 g. Die Berechnung ergibt 174 mg K auf 100 g Blut.

Calcium.

A. Citratblut. Nach Abzug des Farbenerzielungsfaktors bleiben 0,87 ccm der 0,01 n Permanganatlösung übrig; das entspricht 0,174 mg Ca. Das Gewicht des Blutes beträgt 1,908 g. Die Berechnung ergibt 9,1 mg Ca auf 100 g Blut.

¹⁾ In der Originalvorschrift von *Kramer* und *Tisdall* wird geraten, die Flüssigkeit zu zentrifugieren; die Lösung bleibt aber hierbei manchmal nicht ganz klar. Ich ziehe die Filtration durch kleine aschefreie Filter vor (*Schleicher* und *Schüll*); der Trichter muß mit einem Uhrglas bedeckt werden.

B. Citratfreies Blut. Es bleiben 0,93 ccm Permanganatlösung, entsprechend 0,186 mg Ca. Das Gewicht des Blutes = 1,98 g. Die Berechnung ergibt 9,4 mg Ca auf 100 g Blut.

Magnesium.

A. Citratblut. Vergleichslösung auf 20 eingestellt, unbekannte Lösung (Mittelwert wie oben) = 19,2. Blutgewicht = 1,193 g. Berechnung 4,1 mg Mg auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Vergleichslösung auf 20 eingestellt, unbekannte Lösung (Mittelwert) = 17,4. Blutgewicht = 1,238 g. Berechnung: 4,3 mg Mg auf 100 g Blut.

II. Protokoll.

P. D., Knabe, 11 Jahre alt. 24. September 1926. Blutgewinnung und Bearbeitung wie oben. Das Gewicht des Citratblutes beträgt 5,965 g; das Filtrat, das eingedampft wird, 35 ccm. Das citratfreie Blut wiegt 5,063 g, das Volumen des gleichfalls eingedampften Filtrats beträgt 34 ccm.

Anorganischer Phosphor.

A. Citratblut. Vergleichslösung auf 20 eingestellt, unbekannte Lösung (Mittelwert aus zehn Ablesungen) zeigt 18,3. Die Berechnung ergibt 5,5 mg P auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Vergleichslösung auf 20 eingestellt, Mittelwert der unbekanntenen Lösung 20,9. Berechnung: 5,8 mg P auf 100 g Blut.

Natrium.

A. Citratblut. Die Vorberechnung ergibt 3,937 g; zur Natriumbestimmung werden also 1,575 g Blut verwendet, bei der Reaktion treten 2,20 ccm Thiosulfatlösung ein. Berechnung: 166 mg Na auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Die Vorberechnung ergibt 3,443 g; zur Natriumbestimmung werden also 1,377 g verwendet. In die Reaktion treten 1,95 ccm der Thiosulfatlösung ein. Berechnung: 168 mg Na auf 100 g Blut.

Kalium.

A. Citratblut. Nach Abrechnung des Farbenerzielungsfaktors bleiben 2 ccm der Permanganatlösung übrig; das entspricht 0,142 mg K. Das Gewicht des Blutes beträgt 0,0787 g. Berechnung: 180 mg K auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Es bleiben 1,82 ccm Permanganatlösung, was 0,129 mg K entspricht. Gewicht des Blutes = 0,0689 g. Berechnung: 187 mg K auf 100 g Blut.

Calcium.

A. Citratblut. Nach Abzug des Farbenerzielungsfaktors bleiben 0,99 ccm Permanganatlösung; das entspricht 0,198 mg Ca. Blutmenge = 1,968 g. Man erhält 10,1 mg Ca auf 100 g Blut.

B. Citratfreies Blut. Es bleiben 0,91 ccm Permanganatlösung, entsprechend 0,182 mg Ca. Blutmenge = 1,72 g. Man erhält 10,6 mg Ca auf 100 g Blut.

Magnesium.

A. *Citratblut.* Vergleichslösung auf 20 eingestellt; Mittelwert der unbekanntem Lösung 22,5. Blutgewicht 1,23 g. Die Berechnung ergibt 3,4 mg Mg auf 100 g Blut.

B. *Citratfreies Blut.* Vergleichslösung auf 20 eingestellt; Mittelwert der unbekanntem Lösung 24,4. Blutgewicht = 1,076 g. Die Berechnung ergibt 3,6 mg Mg auf 100 g Blut.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle.

Ordnungs- zahl der Versuche	Blut	Anorg. P.	Natrium	Kalium	Calcium	Magnesium
		in Milligrammen auf 100 g Blut				
1	mit Lithiumcitrat ver- setzt	4,81	197	168	9,1	4,1
	ohne Lithiumcitrat .	4,82	198	174	9,4	4,3
2	mit Lithiumcitrat ver- setzt	5,5	166	180	10,1	3,4
	ohne Lithiumcitrat .	5,8	168	187	10,6	3,6

Die Unterschiede zwischen den Werten bleiben innerhalb der Fehlergrenzen, welche mir die Erfahrung in den einzelnen Methoden festzustellen erlaubt hat.

Es ist wohl besonders bemerkenswert, daß die Natriumwerte am besten übereinstimmen; die chemische Verwandtschaft zwischen Lithium und Natrium ist ja bekannt. Diese Ergebnisse sind auch ein erneuter Beweis für die Genauigkeit der Natriumbestimmung nach *Kramer-Gittleman*, die ich für eine der sichersten und vortrefflichsten Methoden in der ganzen Mikroanalyse halte.

Mit den oben angeführten Versuchen glaube ich das Problem eines allgemeinen gerinnungshemmenden Mittels gelöst zu haben. Es ist vielleicht angebracht mitzuteilen, in welcher Weise die einzelnen Bestimmungen ausgeführt worden sind, um mit der kleinsten Blutmenge zu arbeiten, dabei aber auch die sichersten Ergebnisse zu erzielen.

Die optimale Citratblutmenge, durchaus genügend für alle 15 Bestimmungen, beträgt 17 bis 18 ccm. von denen 10 ccm nach *Folin-Wu* und 7 bis 8 ccm nach *Kramer-Tisdall* enteiweißt werden.

Der Proteinniederschlag, der bei der Filtration nach *Folin-Wu* erhalten wird, wird in der von mir angegebenen Weise (13) zur Cholesterin- und Lecithin-(Phosphorlipoid-)bestimmung verwendet. Das eiweißfreie Filtrat dient für folgende acht Bestimmungen: 1. Reststickstoff (ich ziehe der *Folin-Nessler*-Methodik die exaktere titrimetrische Bestimmung nach *Pregl* vor (14), 2. Harnstoff [nach *Pincussen* (15)], 3. Aminosäuren [*Folin* (16)], 4. Harnsäure [am besten nach *Benedict* (17)].

5. Kreatinin (*Folin und Wu*), 6. Kreatin (*Folin-Wu*), 7. Traubenzucker (*Folin-Wu*). 8. Chloride [*Whitehorn* (18)].

Mit dem Filtrat nach *Kramer-Tisdall* wird die Bestimmung des Phosphors, Natriums, Kaliums, Calciums und Magnesiums in der oben angeführten Weise ausgeführt. Bei unzureichender Blutmenge muß man natürlich auf einige Bestimmungen der einen oder anderen Gruppe verzichten.

Literatur.

- 1) *O. Folin* und *H. Wu*, Journ. of biol. Chem. **38**, 81, 1919; **41**, 367, 1920. — 2) *B. Kramer* und *F. F. Tisdall*, ebendasselbst **48**, 223, 1921. — 3) *G. De Toni*, La Clinica Pediatrica **8**, 449, 1926. — 4) *O. Folin*, Journ. of biol. Chem. **54**, 153, 1922. — 5) *L. Sabbatani*, Arch. italien. de Biol. **36**, H. 3, 1901; **43**, 1905; Atti della R. Accad. d. Scienze di Torino **36**, 18 nov. 1900; Memorie della R. Accad. d. Scienze d. Torino **51**, 26. Mai 1901; **54**, 1904. — 6) *W. H. Jansen*, H. S. **101**, 176, 1918. — 7) *Denis*, Journ. of biol. Chem. **41**, 363, 1920 — 8) *Denis* und *Talbot*, Amer. Journ. of Dis. of Child. **21**, 29, 1921. — 9) *Kramer, Tisdall* und *Howland*, ebendasselbst **22**, 560, 1921. — 10) *B. Kramer* und *J. Gittleman*, Journ. of biol. Chem. **62**, 353, 1924. — 11) *A. P. Briggs*, ebendasselbst **59**, 255, 1924. — 12) *R. D. Bell* und *E. A. Doisy*, ebendasselbst **44**, 55, 1920; *Briggs*, ebendasselbst **53**, 13, 1922; **59**, 255, 1924. — 13) *G. de Toni*, Journ. of biol. Chem. **70**, 207, 1926. — 14) *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse, S. 113. Berlin, Springer, 1923. — 15) *L. Pincussen*, Mikromethodik, S. 95. Leipzig, Thiene, 1925. — 16) *O. Folin*, Journ. of biol. Chem. **51**, 377, 1922. — 17) *S. R. Benedict*, ebendasselbst **52**, 187, 1922. — 18) *J. C. Whitehorn*, ebendasselbst **45**, 449. 1920/21.

Zur Kenntnis der Kinetik der Carboxylasewirkung.

Von

Erik Hägglund und Truls Rosenqvist.

(Aus dem chemischen Institut der Akademie Åbo.)

(Eingegangen am 10. Dezember 1926.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen über die alkoholische Gärung haben wir die Spaltung der Brenztraubensäure mit Hefesaft bei optimaler Wasserstoffionenkonzentration studiert. Um solche Versuche ausführen zu können, erwies es sich zunächst als notwendig, einen möglichst wirksamen Saft zu bekommen. In einer vorhergehenden Arbeit¹⁾ wurde bereits die Methodik kurz erwähnt. Wir berichten hier eingehender darüber.

30 g Trockenhefe werden mit 90 ccm wässriger Na_2HPO_4 -Lösung und 0,9 ccm Toluol versetzt und dann in einem Thermostaten bei 30° während 4 Stunden dauernd geschüttelt. Der Saft wird abgenutscht, wobei zweckmäßig das Filtrierpapier auf einer Stoffunterlage ruht. Im Verlauf einer Stunde wurden etwa 55 ccm Saft erhalten. Unter Umständen ist es notwendig, den Saft durch Zentrifugieren zu klären.

Die Abhängigkeit der Gärkraft des Saftes von der Phosphatkonzentration ist unten tabellarisch zusammengestellt.

Bei jedem Gärversuch wurden 5 ccm Saft auf ein Gesamtvolumen der Gärflüssigkeit von 25 ccm verwendet. Die Gärungen wurden in 100-ccm-Glaskolben, die mit Tropftrichter versehen waren, ausgeführt. Im übrigen wurde dieselbe Apparatur wie in unseren früheren Versuchen benutzt.

Der auf 30° vorgewärmte Hefesaft wurde durch den Tropftrichter in die Gärlösung eingetragen, hierbei setzte die Kohlensäureentwicklung sofort ein.

Die p_{H} -Bestimmung wurde mit Indikatoren ausgeführt, da die elektrometrische Methode, wie schon früher angegeben wurde, nicht angewandt werden kann. Wie wir früher nachgewiesen haben, hat die Carboxylase ein recht flaches p_{H} -Optimum bei $p_{\text{H}} = 5$ bis 6. Um die Spaltung der Brenztraubensäure bei möglichst derselben Wasserstoff-

¹⁾ E. Hägglund und L. Ahlbom, diese Zeitschr. 181, 158, 1927.

ionenkonzentration ausführen zu können, wurde die Lösung mit Phosphat stark gepuffert, da es sich erwiesen hatte, daß diese keine Einwirkung auf die Spaltung ausübt. Das ergibt sich aus folgendem Versuch.

3 ccm Hefesaft aus trockener Unterhefe mit 0,45 mol. Na_2HPO_4 -Lösung extrahiert. 22 ccm Phosphat-Brenztraubensäuremischung.

- Versuch 1. Phosphatkonzentration = 0,33 mol.
 Brenztraubensäurekonzentration . . = 0,09 „
- Versuch 2. Phosphatkonzentration = 0,15 mol.
 Brenztraubensäure = 0,09 „

	Zeit in Minuten					
	10	20	30	40	50	60
	ccm Kohlensäure					
I	12,8	25,7				
II	10,3	25,1				
I	13,8	22,6	29,6	39,4		
II	10,1	16,9	21,4	37,5		
I	12,9	21,7	28,2	33,5	37,3	41,7
II	10,8	17,2	21,8	25,1	27,4	42,5

Die Kursivziffern geben die Kohlensäuremengen an, die nach dem Ansäuern der Gärlösung mit Schwefelsäure (also die *Gesamtmenge* der Kohlensäure) erhalten wurden.

Die Ursache, weshalb die direkt entweichenden Mengen Kohlensäure in den Versuchsreihen 2 geringer sind als in den Reihen 1 beruht zweifellos auf der stärkeren Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration, dadurch wird ein Teil der Kohlensäure zurückgehalten. Dies wurde auch durch Feststellung der H^+ -Ionenkonzentration, nach Beendigung der Gärung, bestätigt. Diese betrug in 1 entsprechend $p_{\text{H}} = 6,3$ und in 2 entsprechend $p_{\text{H}} = 6,8$. Auf Grund unserer Messungen über den Verlauf der p_{H} -Aktivitätskurve für Carboxylase tritt schon bei letzterer Reaktion eine merkbare Hemmung der Carboxylasewirkung ein. Daß nichtsdestoweniger die nach 60 Minuten nach Ansäuerung erhaltenen Zahlen praktisch gleich groß sind, beruht darauf, daß die Gärung dann in beiden Fällen beendet ist; bei 40 Minuten Gärdauer merkt man den Unterschied aber deutlich.

Die Phosphatkonzentration ist für die Saftbereitung von erheblicher Bedeutung, wobei es weniger auf die Phosphationenkonzentration als auf die Aufrechterhaltung der Alkalinität der Lösung ankommt. Sauer reagierendes Phosphat wirkt auf die Extraktion nicht begünstigend. Statt Na_2HPO_4 -Lösung können andere alkalisch reagierende Lösungen, wie *Glykokoll-Natriumhydroxyd*, benutzt werden. Aus folgenden Zahlen geht dies hervor:

75 g lebender *Unterhefe* wurden mit 40 ccm Glykokoll-Natriumhydroxydlösung von der fünffachen Stärke, wie *S. P. L. Sörensen*¹⁾ für die betreffende Puffermischung angibt, in der angegebenen Weise extrahiert. Nach 4 Stunden war die $p_H = 6,4$. Mit diesem Saft wurden folgende Gärversuche ausgeführt.

Ansatz. 5 ccm Saft + 5 ccm 3n Na-Acetat + 15 ccm 0.15 mol. Brenztraubensäure.

	Zeit in Minuten							
	5	10	15	25	30	35	55	60
	ccm Kohlensäure							
Versuch 1. . .	9,9	17,1	22,6	31,4	35,7	39,1	41,4	41,4
Versuch 2. . .	9,1	16,4	22,1	30,7	34,8	37,8	40,8	41,0

Die Abhängigkeit der Wirkung des Hefesaftes von der Phosphatkonzentration ergibt sich aus folgender Tabelle.

Ansatz. Wie früher 25 ccm Flüssigkeitsvolumen, 0,09 mol. in bezug auf Brenztraubensäure und 0,5 mol. in bezug auf Phosphat, sofern keine andere Konzentration angegeben wird. In allen Versuchen 5 ccm Hefesaft mit Ausnahme von Versuch 9, in dem 3 ccm Saft angewandt wurden. Gärung bei 30°.

Versuchs-Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Kohlensäure in ccm										
Phosphatkonzentration bei der Extraktion mol.	0	0.1	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	1.0
Phosphatkonzentration bei der Gärung molar .	0.5	0.5	0.33	0.4	0.34	0.5	0.36	0.33	0.33	0.5	0.5
Na-Acetatkonzentration molar .	—	—	—	—	0.09	—	0.09	—	—	—	—
Zeit											
5'	2.0	7.3	—	8.2	9.3	—	13.0	9.4	—	10.4	6.5
10	4.0	13.6	18.5	15.2	16.8	20.9	22.0	18.8	12.8	18.5	13.0
15	5.6	18.6	—	20.0	22.3	—	28.8	26.4	—	24.7	17.0
20	7.1	22.7	27.8	24.6	27.0	32.4	33.3	32.5	25.7	30.1	20.0
30	9.7	29.6	35.3	32.3	34.7	39.2	37.8	42.5	—	39.1	24.8
40	11.9	35.6	39.2	36.7	37.4	43.2	39.3	45.2	39.4	44.8	—
p_H	6.1	6.0	6.4	6.2	6.2	5.7	6.8	5.9	6.4	6.0	6.8

Durch Vergleich der Versuchsreihen 1, 2, 6 und 10, in denen die Phosphatkonzentration während der Gärung dieselbe war, die Phosphatkonzentration sich aber bei der Hefeextraktion zwischen 0 und 0.5 mol.

¹⁾ Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

bewegte, ergibt sich, daß die optimale Wirkung der Phosphatkonzentration für die Extraktion 0,30 bis 0,35 mol. war. Die Wirkung dieses Saftes ist etwa viermal so groß wie die des durch Wasserextraktion erhaltenen.

Wir haben auch versucht, aus Trockenoberhefe einen gärkräftigen Hefesaft zu erhalten. Das ist auch gelungen. Aus lebender Oberhefe gelang dies zwar nicht, während lebende Unterhefe einen guten Saft lieferte. Es ist bemerkenswert, daß es uns nicht möglich war, aus Acetonhefe von Ober- und Unterhefe einen Saft zu erhalten, der Brenztraubensäure spaltete.

In der folgenden Tabelle ist eine Zusammenstellung von Gärungen mit verschiedenen Säften gegeben.

Ansatz. 5 ccm Saft in 25 ccm Lösung, 0,09 mol. in bezug auf Brenztraubensäure und 0,33 mol. in bezug auf Natriumphosphat. $p_H = \sim 6,4$ nach beendeter Gärung.

Hefe	Phosphat- konzentration bei Extraktion molar	10'	20'	30'	40'	50'	60'
		Kohlensäure in ccm					
Trockenunterhefe	0,15	18,5	27,8	35,3	39,2	39,9	39,9
	0,30	20,9	32,4	39,2	39,9	40,1	—
Lebende Unterhefe	0,15	13,4	22,2	28,5	32,9	36,6	38,7
	0,30	17,7	27,0	34,7	37,8	37,9	—
Trockenoberhefe	0,15	8,4	14,4	18,6	22,2	25,5	27,9
	0,30	7,6	13,1	17,8	21,5	24,6	27,1

Zwischen den Säften aus lebender Unterhefe und daraus hergestellter Trockenhefe besteht kein wesentlicher Unterschied. Aus trockener Oberhefe gewonnener Saft hat eine etwa halb so große Gärkraft wie der aus Unterhefe hergestellte.

Die Tatsache, daß es durch Extraktion mit alkalisch reagierenden Mitteln gelingt, eine bedeutende Steigerung der Carboxylasemenge im Hefesaft zu erzielen, hat in dem Verhalten gewisser anderer Enzyme ihr Analogon. So fand *R. Willstätter* und Mitarbeiter, daß Emulsin aus bitteren Mandeln und Peroxydase aus Getreidekeimlingen durch Wasser nur in geringer, durch verdünnte Alkalien aber in hoher Ausbeute extrahiert wird¹⁾. Nach Ansicht von *R. Willstätter* sind die Enzyme in den Zellen vielfach durch Adsorption gebunden. Durch das Alkali werden aber die Adsorptionsaffinitäten aufgehoben. Dies scheint auch für Carboxylase, nach unseren Ergebnissen, der Fall zu sein.

¹⁾ *R. Willstätter* und *W. Csanyi*. H. 117, 172, 1921; *R. Willstätter* und *A. Pollinger*: *E. Waldschmidt-Leitz*, Die Enzyme, S. 79. Braunschweig 1926.

Was die Kinetik der Carboxylasewirkung betrifft, so haben wir zunächst die Reaktionsgeschwindigkeit bei verschiedener Substratkonzentration gemessen, wobei folgende Resultate erhalten wurden.

Ansätze. 10 ccm Hefesaft, 0,25 mol. in bezug auf Phosphat. Brenztraubensäurelösung: 1 Mol. Brenztraubensäure + 1 Mol. Na_2HPO_4 im Liter; von der Lösung so große Mengen genommen, daß die Konzentration den unten angegebenen Zahlen für Brenztraubensäure entspricht, und darauf mit 1 mol. KH_2PO_4 -Lösung auf 50 ccm aufgefüllt. $p_{\text{H}} = 5,6$.

Temperatur 17°.

Zeit in Minuten	Molare Konzentration der Brenztraubensäure					
	0,5	0,3	0,08	0,05	0,03	0,01
	Kohlensäure in ccm					
2	1,5	1,1	—	1,1	1,7	—
4	4,0	3,1	2,8	2,8	3,9	1,1
6	6,0	5,5	5,2	4,7	6,0	2,2
8	7,7	7,2	7,1	6,6	7,7	3,3
10	9,1	9,5	8,7	8,4	9,1	4,2
12	10,5	—	10,1	—	10,5	4,8
14	12,0	—	12,0	—	12,1	5,3
15	—	13,8	—	12,4	—	—
20	15,5	17,6	15,4	15,7	15,5	6,0
30	20,2	24,3	20,5	21,5	19,4	—
40	24,4	29,7	24,9	27,3	—	—
60	32,3	38,0	33,5	32,7	—	—

Die Zahlen der erwähnten Tabelle sind in der Abb. 1 graphisch dargestellt. Um bei möglichst gleicher Wasserstoffionenkonzentration zu bleiben, darf man nur den ersten Teil, etwa bis zu einer Zeit von

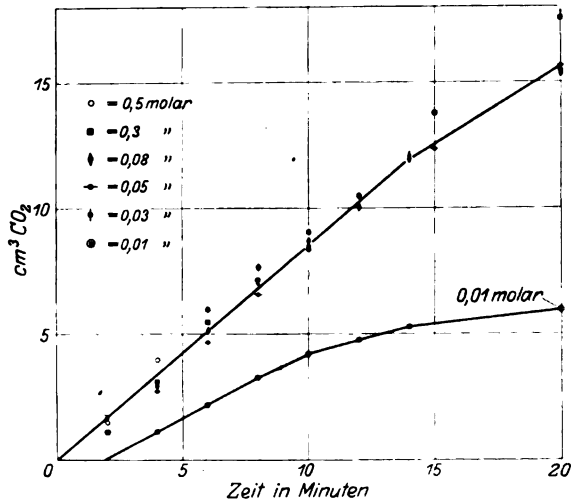


Abb. 1.

15 Minuten berücksichtigen. Die Kurven verlaufen geradlinig, d. h. die Reaktion ist *null-molekular*. Was den Einfluß der Substratkonzentration betrifft, so bleibt die Kohlensäureentwicklung in weiten Grenzen davon unabhängig, so daß man den Schluß ziehen kann, daß die Affinität zwischen Enzym und Substrat sehr groß sein muß. Erst bei einer Brenztraubensäurekonzentration entsprechend 0,01 mol. geht die Anfangsgeschwindigkeit deutlich zurück.

Auch haben wir untersucht, in welcher Weise die Reaktionsgeschwindigkeit von der Enzymmenge abhängig ist, und zwar für verschiedene Hefesäfte. Die Resultate sind in den nachstehenden Tabellen zusammengestellt.

Ansätze. 25 ccm Gesamtvolumen in bezug auf

Brenztraubensäure 0,09 mol.

Phosphat 0.33 „

Zeit in Minuten	Trockenhefe aus Unterhefe						Lebende Unterhefe						Trockenoberhefe		
	Mit 0,15 mol. Phosphat extr.			Mit 0,30 mol. Phosphat extr.			Mit 0,15 mol. Phosphat extr.			Mit 0,30 mol. Phosphat extr.			Mit 0,15 mol. Phosphat extr.		
	5 ccm Saft	3 ccm Saft	2 ccm Saft	5 ccm Saft	3 ccm Saft	2 ccm Saft	5 ccm Saft	3 ccm Saft	2 ccm Saft	5 ccm Saft	3 ccm Saft	2 ccm Saft	5 ccm Saft	3 ccm Saft	2 ccm Saft

Kohlensäure in ccm.

10	18,5	12,4	8,9	20,9	15,2	11,2	13,4	9,3	6,5	17,7	12,4	9,4	8,4	5,9	3,8
20	27,8	20,1	14,9	32,2	24,5	18,4	22,2	16,0	11,6	27,0	19,9	15,8	14,4	10,2	7,0
30	35,3	26,3	19,8	39,2	31,8	23,6	28,5	21,0	15,5	34,7	25,9	20,8	18,6	13,3	9,6
40	39,2	31,3	24,1	39,9	37,0	28,7	32,9	24,3	18,6	37,8	30,7	24,9	22,2	15,9	11,5
50	39,9	34,9	27,5		39,1	32,3	36,6	27,9	21,2	37,9	34,6	28,0	25,5	18,7	13,4
60		37,9	30,6		39,4	35,5	38,7	30,6	23,4		36,2	31,0	27,9	20,6	15,3

Prozent gespaltener Brenztraubensäure

10	46,4	31,0	22,3	52,5	38,0	28,5	34,4	23,8	16,7	46,6	32,7	24,7	21,0	14,8	9,5
20	69,5	50,3	37,3	80,5	61,3	46,0	57,0	41,0	29,8	71,2	52,4	41,5	36,0	25,5	17,5
30	88,2	65,8	50,0	98,0	79,5	59,0	73,0	54,0	40,0	91,4	68,0	55,0	46,5	33,3	24,0
40	98,0	78,4	60,0	100	92,6	72,0	84,5	62,5	48,0	100	81,0	65,6	55,5	40,0	28,8
50	100	87,4	69,0		98,0	81,0	94,0	72,0	54,5		91,0	74,0	64,0	47,4	33,5
60		95,0	76,5		100	89,0	100	79,0	60,0		96,0	81,5	70,0	51,5	38,0

Es ist ersichtlich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit den Enzymmengen nicht proportional ist. Wir werden darauf gelegentlich zurückkommen.

Ein Beitrag zur Mikrobiologie des Waldbodens.

Von
R. Bokor.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des botanischen Instituts der k. ung. Hochschule für Berg- und Forstingenieure in Sopron.)

(Eingegangen am 14. Dezember 1926.)

Gelegentlich der Untersuchungen, die Prof. *Fehér* im Sommer des Jahres 1926 auf der ökologischen Station Hallands Väderö in Südschweden (Kattegat) bezüglich der CO₂-Produktion des Waldbodens durchgeführt hat¹⁾, hat sich die Notwendigkeit ergeben, die Böden der drei zur Untersuchung gelangten Waldtypen auch mikrobiologisch zu untersuchen. Diese Aufgabe wurde mir von Prof. *Fehér* übertragen.

Die Bodenproben entstammen je einem Erlen-, Buchen- und Kiefernwald mittleren Alters, dessen CO₂-Produktion sowie Luftkohlensäuregehalt von Prof. *Fehér* durch längere Zeit, vom 19. April bis 11. September 1926, beobachtet und mit den *Lundegardhschen* Apparaten gemessen wurde. Von den drei Typen sind der Buchen- und Kiefernwald auf Sand, der Erlenwald auf humusreichem Sumpfboden plaziert.

Die Entnahme der Proben erfolgte am 10. September 1926, 5 Uhr nachmittags mittels steriler Gläser, die nach der Füllung sogleich luftdicht verschlossen und nach Ungarn versendet und hier am 14. September d. J. empfangen wurden. Die Untersuchung wurde dann sogleich in Gang gesetzt. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte nach physiologischen Gruppen auf Grund des von mir erprobten Verfahrens, das die selektiven und elektiven Methoden gleichmäßig vereinigt¹⁾.

Die Resultate enthält Tabelle I.

Wenn man nun die von mir gewonnenen Resultate mit den Daten der Kohlensäureproduktion²⁾ des Waldbodens vergleicht, so gelangt man nach einigen Überlegungen zu folgenden Resultaten.

¹⁾ *Fehér*, diese Zeitschr. 180. 201. 1927.

²⁾ *Bokor*, Erdészeti Kisérletek (Forstliche Versuche 1926).

Tabelle I.

Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung dreier Bodenproben
von Hallands Väderö (Schweden).

Keimzahlen pro Gramm feuchter Erde.

Nr.	Biogene Eigenschaften der Bodenaktengruppen	Buchenwald (Humusboden)	Erlenwald (Humusboden)	Kiefernwald (Sandboden)
1	Reaktion des Bodens	mäßig sauer	sauer	sauer
2	Austauschacidität p_H	5,2	4,0	4,2
3	Aktive Acidität p_H	6,2	4,3	5,2
4	Wassergehalt in Gew.-Proz.	34	56	2,1
5	Humusgehalt	4,2	8,6	0,5
6	Auf Agarplatte gedeihend	5 500 000	3 200 000	1 650 000
7	Auf Gelatineplatte gedeihend	6 000 000	2 500 000	1 300 000
8	Anaerober Zuckeragar hoher Schicht	3 000 000	5 000 000	500 000
9	Aerobe stickstoffbindende Bakterien	10	θ	θ
10	Anaerobe stickstoffbindende Bakterien	10 000	1000	100
11	Nitrifizierende Bakterien	10	10	θ
12	Denitrifizierende Bakterien	10 000	10000	10 000
13	Anaerobe cellulosevergärende Bakterien	10 000	1000	1000
14	Aerobe cellulosevergärende Bakterien	1000	100	1000
15	Aerobe eiweißzersetzende Bakterien	100 000	10 000	10 000
16	Aerobe pektinvergärende Bakt. Bakterien	100 000	10 000	10 000
17	Anaerobe pektinvergärende Bakterien	1 000 000	100 000	10 000
18	Harnstoffvergärende Bakterien	1 000 000	100 000	10 000
19	Anaerobe Buttersäurebacillen	1 000 000	100 000	10 000
20	CO ₂ -Produktion pro Std. und qm in g	8,7	2,37	2,98

Versuchsdauer vom 21. September bis 20. Oktober 1926.

1. Die größte Intensität der CO₂-Produktion wird bei der größten Bakterienzahl erreicht, wenn zwischen diesen die aeroben Bakterien vorherrschen.

2. Es ist unbedingt notwendig, daß auch bei hoher Bakterienzahl der Boden gut durchgelüftet wird und O in genügender Menge erhält. Der sumpfige Erlenwald zeigt zwar hohe Bakterienzahl, aber der Wert der CO₂-Produktion bleibt ungenügend, weil infolge des relativ hohen Wassergehalts (56 Proz.) die anaeroben Bakterien vorherrschen.

3. Der Kiefernwaldboden ist reiner Sand. Dementsprechend sind hier die Verhältnisse wesentlich anders geartet. Hier findet man ziemlich intensivere CO₂-Produktion bei relativ geringer Gesamtzahl der Bakterien. Dieser Umstand zeigt auf den raschen Verwesungsprozeß im Boden. Der Gehalt an organischem Material bleibt gering, weil zu

dem Verwesungsprozeß Luft bzw. O in genügender Menge zur Verfügung stehen und das Wasser von den Bodenpartikelchen nur in geringem Maße zurückgehalten wird. Charakteristisch ist für diesen Boden die intensive Bakterienarbeit, die sich in der verhältnismäßig hohen CO₂-Produktion äußert und allmählich zur Verminderung des Humusgehalts führt.

4. Die Anzahl der aeroben cellulosezersetzenden Bakterien ist proportional mit der CO₂-Produktion des Bodens.

5. Bei der Beurteilung der biologischen Wirkung der Bakterientätigkeit müssen wir daher zwischen den leichten Sand- und den humusreichen Böden scharfen Unterschied machen.

6. Für die CO₂-Produktion des Waldbodens ist daher im Interesse der Produktionserhöhung der Wälder von großer Bedeutung, bei der Anwendung der praktischen wirtschaftlichen Maßnahmen die gute Durchlüftung der Böden zu berücksichtigen und dieselbe möglichst mit entsprechender Bodenbearbeitung zu steigern.

Zur Biochemie des Carcinoms. II.

Von

Fritz Silberstein, Johann Freud und Tibor Révész.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Universität in Wien.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Die Arbeitshypothese, von der wir bei unseren Versuchen ausgingen, war, daß maligne Tumoren keine Lokalerkrankungen im eigentlichen Sinne sind, die mit der lokal nachweisbaren Geschwulst entstehen und mit ihrer radikalen Entfernung beseitigt werden. Wir glaubten vielmehr Ursache zu der Annahme zu haben, daß es sich um eine Allgemeinerkrankung mit tiefgreifenden Veränderungen im intermediären Stoffwechsel handle und daß diese Veränderungen dem Auftreten der Geschwülste vorausgehen müßten. Darum haben wir unser Augenmerk zunächst auf Untersuchungen des präcancerösen Stadiums bei der Maus gelenkt. Über einen Teil derselben wollen wir im nachstehenden berichten.

I. Respiratorischer Stoffwechsel im präcancerösen Stadium.

Als präcanceröses Stadium im engeren Sinne betrachten wir bei geteerten Mäusen die Zeit vom Ende des ersten Monats nach Beginn der Teerpinselung bis zum Auftreten der ersten Knötchen. (Zur Orientierung wurden aber wiederholt auch kürzere Zeit gepinselte Mäuse in die Versuche mit einbezogen.) Bei Impftumoren bezeichnen wir als präcanceröses Stadium die ersten Tage nach der Impfung, bevor die Geschwulst tastbar wird.

Teermäuse.

Zu diesen Versuchen wurden vier Serien von je 60 geteerten Mäusen herangezogen. Serie IV war ungefähr seit 4 Wochen, Serie III seit 8 Wochen, Serie II seit 12 Wochen, Serie I¹⁾ seit fast 4 Monaten in Behandlung. Es wurden stets vier bis sechs Mäuse einer Serie gleichzeitig unter eine 20 Liter

¹⁾ Einzelne Tiere hatten bereits Würzchen. Diese wurden zu diesen Versuchen nicht verwendet.

fassende, vollständig dicht (mittels eines Schliffes) auf einer Glasplatte aufsitzende Glasglocke gebracht. Gleichzeitig wurde als Kontrolle die gleiche Zahl gleich schwerer, gleich ernährter, gesunder Mäuse in einer anderen, ebensolchen Glocke untersucht. Wir haben die auf 0° und 760 mm reduzierten Zahlen aller Analysen der gleichen Serien zusammengezogen und auf diese Weise den durchschnittlichen Sauerstoffverbrauch, die Kohlensäureproduktion und den respiratorischen Quotienten der einzelnen Serien, sowie der gesunden Kontrollserien berechnet. Während der Versuche standen die Glocken in einem ruhigen, verdunkelten Raume, die Tiere wurden während der 1 bis 2 Stunden dauernden Versuche sorgfältig beobachtet. Verwendet wurden nur jene Versuche, während welcher sich die Tiere ruhig verhielten. Wählt man zu den Versuchen Tiere, die aneinander gewöhnt sind, so bleiben sie, wenn sie im verdunkelten Raume ungestört sind, relativ ruhig. Zur Absorption der Feuchtigkeit stand unter der Glocke eine breite Schale mit Chlorcalcium an einer für die Mäuse unerreichen Stelle. Die Analysen der unter allen Kautelen entnommenen Gasproben wurden im Haldaneapparat vorgenommen.

Tabelle I.

Geteerte Mäuse bei gemischter Ernährung. 6 Stunden ohne Futter.

Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R. Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	4,91	4,1	0,84
II	5,04	4,23	0,84
III	5,58	4,79	0,85
IV	5,75	5,01	0,87

Tabelle Ia.

Gesunde Kontrollmäuse unter gleichen Bedingungen, wie Teermäuse aus Tabelle I.

Kontrolle zu Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R. Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	4,58	4,11	0,89
II	4,81	4,34	0,90
III	4,78	4,35	0,91
IV	4,88	4,42	0,90

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß in den ersten Monaten der Teerpinslung der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureproduktion bei gewöhnlicher gemischter Ernährung (Hafer, Brot, Wasser) erhöht ist. Die Erhöhung bewegt sich in mäßigen Grenzen, die Werte kehren nach länger dauernder Behandlung oft wieder in den Bereich des Normalen zurück. Letzteres gilt besonders für die Kohlensäurewerte. Der respiratorische Quotient ist bei den geteereten Mäusen niedriger als bei den Kontrolltieren, und zwar scheint diese Senkung mit der Behandlungszeit deutlicher zu werden.

Tabelle II.

Geteerte Mäuse nach 40stündiger Nahrungskarenz.

Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R.-Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	4,38	3,63	0,83
II	5,51	4,7	0,84
III	5,28	4,44	0,83
IV	5,6	4,5	0,80

Tabelle IIa.

Gesunde Kontrollmäuse unter den gleichen Bedingungen wie Teermäuse aus Tabelle II.

Kontrolle zu Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R.-Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	4,82	3,63	0,75
II	4,54	3,58	0,79
III	5,27	4,13	0,78
IV	5,44	4,24	0,78

Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion der hungernden, geteerten Tiere schwankt in weiten Grenzen (wie auch bei den normalen Kontrollmäusen), nicht so der respiratorische Quotient. Bei den erst kurze Zeit gepinselten Mäusen ist er noch relativ niedrig (0,80), bei den längere Zeit vorbehandelten dagegen liegt er um 0,83 bis 0,84 und ist somit nicht niedriger als bei den gleichen Tieren ohne Nahrungskarenz. Bei den in den Parallelversuchen untersuchten gesunden Mäusen drückt sich die Nahrungskarenz deutlich im respiratorischen Quotienten aus, der von 0,90 bis 0,76 heruntergeht.

Tabelle III.

Geteerte Mäuse nach Traubenzuckerfütterung.

Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R.-Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	5,00	4,33	0,87
II	5,52	4,82	0,87
III	5,45	4,85	0,89
IV	5,82	5,24	0,90

Tabelle IIIa.

Gesunde Kontrollmäuse unter den gleichen Bedingungen wie die geteerten Mäuse in Tabelle III.

Kontrolle zu Serie	Pro 1 g und 60 Min.		R.-Q.
	verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
I	5,04	4,95	0,98
II	5,27	5,00	0,95
III	5,18	4,98	0,96
IV	5,15	4,96	0,96

Die nächsten Versuche wurden so angestellt, daß Mäuse, die etwa 12 Stunden ohne Futter gehalten wurden, in konzentrierter Traubenzuckerlösung in der Art gebadet wurden, daß etwa das hintere Drittel ihres Körpers mit dem Sirup beschmutzt war. Die Mäuse begannen sogleich sich zu lecken und waren gewöhnlich nach einer halben bis dreiviertel Stunden rein. Dann wurden sie unter die Glocke zur Gasanalyse gebracht. Während nun die gesunden Mäuse den üblichen Anstieg des respiratorischen Quotienten bis auf 0,95 bis 0,98 — in einigen Versuchen selbst bis auf 1,0 — zeigten, änderte sich dieser bei den Teermäusen nicht wesentlich.

Geimpfte Mäuse.

Tabellé IV.

Mäuse in den ersten Tagen nach der Impfung mit einem in 100 Proz. angehenden Ca-Stamm.

Tage nach der Impfung	Nahrung	Pro 1 g und 60 Min.		R.-Q.
		verbraucht O ₂ ccm	produziert CO ₂ ccm	
3	10 ^a Karenz	5,51	4,52	0,82
3	Traubenzuckerfütterung	5,63	4,89	0,87
2	18 ^b Karenz	5,13	4,26	0,83
2	Traubenzuckerfütterung	5,45	4,90	0,90
1	18 ^b Karenz	5,68	4,55	0,80
1	Traubenzuckerfütterung	5,92	5,45	0,92

Auch die mit einem in 100 Proz. angehenden Ca-Stamm geimpften Mäuse zeigen im präcancerösen Stadium eine auffallend geringe Beeinflussung ihres respiratorischen Stoffwechsels durch die Ernährung. Einerseits ist der respiratorische Quotient nach kurzdauernder Nahrungskarenz relativ hoch, andererseits wird er — vom zweiten Tage nach der Impfung an — durch Traubenzuckerzufuhr nicht wesentlich gesteigert.

Die in den Tabellen angeführten Zahlen sind durch Untersuchungen an etwa 200 geteerten, 150 geimpften und 300 normalen Mäusen gewonnen. Die einzelnen Tiere wurden mehrmals in Versuch genommen. Die Schwierigkeit dieser Versuche liegt darin, daß die Mäuse während der Versuchszeit oft nicht ruhig bleiben. Verwertbar sind nur jene

Versuche, in deren Verlauf die Tiere sich ganz oder mindestens fast ganz ruhig verhielten. Einige Versuche wurden mit Mäusen gemacht, die durch kleine Urethanmengen in einen schlafähnlichen Zustand gebracht waren. Wir haben aber dann von dieser Versuchsanordnung abgesehen, um einerseits keine neue unbekannte Komponente einzuführen und um andererseits die Zuckerfütterungsversuche mit den übrigen vergleichen zu können. So haben wir denn dadurch, daß wir die Durchschnittszahlen aus einer so großen Zahl von Versuchen genommen haben, getrachtet, die durch das ungleichmäßige Verhalten der Versuchstiere gegebenen Schwankungen in ein einheitliches Bild zusammenzufassen. Mit Rücksicht auf die eben geschilderten großen Schwierigkeiten solcher Versuche muß man wohl die erzielte Übereinstimmung in den einzelnen Reihen als befriedigend bezeichnen. Jedenfalls kann man aus ihnen schließen, daß der Stoffwechsel schon im präcancerösen Stadium verändert ist und daß namentlich der Kohlehydratumsatz alteriert zu sein scheint. Studien über den Eiweißstoffwechsel in diesem Stadium haben zu keinem eindeutigen Ergebnis geführt.

II. Verhalten des Blutzuckers nach Injektion von Traubenzucker im präcancerösen Stadium.

Einen weiteren Hinweis auf die schon im präcancerösen Stadium nachweisbare Alteration des Kohlehydratstoffwechsels fanden wir im Verhalten lange Zeit geteeter Hunde, denen Traubenzucker injiziert worden war. Aus einer Reihe gleichsinniger Versuche geben wir in Tabelle V einige typische Beispiele:

Tabelle V.

Subkutane Injektion von 50proz. Traubenzuckerlösung. Injizierte Menge 0,3 Proz. des Körpergewichts.

	Numer:	Geteerte Hunde			Gesunde Hunde		
		1	5	7	2	6	8
Blutzucker vor der Injektion . . .		0,098	0,088	0,079	0,080	0,089	0,069
" 40' nach der Injektion .		0,240	0,319	0,202	0,142	0,155	0,132
" 80 " " " .		0,236	0,270	0,192	0,101	0,104	0,114
" 180 " " " .		0,128	0,140	0,142	0,075	0,078	0,070

Nach subkutaner Injektion von Traubenzucker zeigen lange Zeit (über ein halbes Jahr) intensiv geteerte Hunde eine viel länger anhaltende Hyperglykämie als normale Tiere. Der Blutzucker erreicht dabei auch viel höhere Werte als es bei gesunden Hunden der Fall ist. Diese Unterschiede

erinnern an die Differenzen, die *Friedmann* und *Grove* und nach ihnen mehrere andere Autoren nach peroraler Zuckergabe zwischen Carcinompatienten und nicht Tumorkranken festgestellt haben. Injiziert man dagegen Hunden kleine Mengen (0,25 Prom. des Körpergewichts) Traubenzuckers intravenös, so sind diese Unterschiede zwischen normalen und geteerten Hunden nicht wahrnehmbar. Man sieht vielmehr in den meisten Fällen ein rascheres Verschwinden des intravenös einverleibten Zuckers aus dem Blute des geteerten Hundes.

In diesem Zusammenhang möchten wir übrigens eine Beobachtung erwähnen, welche wir bei unseren diesbezüglichen Versuchen an normalen Kontrollhunden gemacht haben. Es zeigte sich nämlich, daß nach intravenöser Injektion von Traubenzucker (0,25 Prom. des Körpergewichts) die Steigerung der Reduktionswerte bei ganz gesunden Hunden einen ganz anderen Verlauf — protrahierter und unregelmäßiger — nimmt als bei anderen Tieren und beim Menschen.

Es besteht ein gewisser Gegensatz im Verhalten des subkutan bzw. intravenös injizierten Zuckers bei geteerten Hunden. Wir werden darauf noch später zurückkommen, möchten aber schon jetzt betonen, daß für diesen Gegensatz wenigstens teilweise die Verschiedenheit der injizierten Menge verantwortlich sein dürfte (subkutan 0,3 Proz., intravenös 0,25 Prom. des Körpergewichts).

Aus diesen Versuchen kann wohl auf eine tiefgreifende Veränderung im Kohlehydratstoffwechsel geschlossen werden. Es war also nahelegend, zu untersuchen, wie sich präcanceröse und Tumortiere Insulin gegenüber verhalten. Wie bereits aus den Versuchen der Wertbestimmung des Insulins an Mäusen bekannt ist, schwankt das Verhältnis zwischen krampferzeugender Kaninchendosis und der für Mäuse letalen Dosis bei den einzelnen Insulinpräparaten beträchtlich. Wir konnten an selbsthergestelltem Insulin beobachten, daß die Empfindlichkeit der Mäuse gegen verschiedene Insulinpräparate sehr verschieden ist und anscheinend von der Natur der die wirksame Substanz begleitenden Stoffe abhängt. Je reiner die Präparate werden, desto gleichmäßigere Resultate erhielten wir. Dabei war allerdings auffallend, daß es immer noch einzelne Tiere gab, die sich durch eine besondere Resistenz, und andere, die sich durch eine besondere Empfindlichkeit gegen Insulin auszeichneten.

Die ersten Versuche an präcancerösen und Tumormäusen wurden mit relativ wenig gereinigten Präparaten vorgenommen, während uns später ganz ausgezeichnete zur Verfügung standen. Wir haben in allen Versuchen an größeren Serien von Mäusen von etwa 15 g die Dosis letalis minima mit den verschiedenen, im Kaninchenversuch scharf ausgewerteten Insulinpräparaten bestimmt. Es ergab sich dabei, daß von zwei Lösungen desselben — damals noch nicht weit-

gehend gereinigten — Trockeninsulins diejenige, welche in warmem Wasser (von etwa 50 bis 60°) hergestellt war, für Mäuse viel weniger giftig war, trotzdem im Kaninchenversuch sich kein Unterschied gezeigt hatte. Wir haben daher in der Folge wiederholt die gewöhnlichen Insulinlösungen unverändert und nach Erwärmen auf 56° (im Wasserbad) geprüft. Der Unterschied zwischen erwärmtem und nicht erwärmtem Insulin war lediglich bei den weniger reinen Insulinpräparaten deutlich.

Nach der Tumorumpfung sank die Resistenz der Mäuse gegen Insulin zunächst ab. Auch dies war besonders markant bei Verwendung schwach wirksamer Insulinpräparate. Hier finden wir innerhalb der ersten beiden Tage die letale Dosis oft bei $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{15}$, mindestens aber bei $\frac{1}{3}$ des Ausgangswertes. Bei reinen Präparaten war die Spannung geringer, bei unreinen war sie größer. Nach 3 bis 5 Tagen — also etwas vor oder um die Zeit, da der Tumor eben tastbar wird — pflegten diese Unterschiede sich allmählich auszugleichen. Von da an stieg die Resistenz weiter an und erreichte bei den voll ausgebildete Tumoren tragenden Tieren Werte, die zwischen dem Vierfachen und Dreißigfachen der Norm lagen. Es hat den Anschein, als ob durch die Tumorumpfung eine plötzliche Veränderung der Insulinempfindlichkeit der Versuchstiere bewirkt würde. Diese äußert sich zunächst in einer Steigerung derselben. Mit dem Angehen und Wachsen des Tumors steigt die Resistenz zunächst allmählich, dann rasch an.

Ähnliche Verhältnisse finden sich auch bei Teertumoren. Im Beginn der Teerpinselung sind die Mäuse — wenigstens vorübergehend — empfindlicher als unbehandelte, später wächst die Resistenz und ist bei den ausgebildete Ca tragenden Tieren ebenfalls bedeutend erhöht.

Der Grad der Resistenzsteigerung der Tumortiere gegen Insulin schwankt und ist anscheinend abhängig von der Reinheit der Präparate und von konstitutionellen Verschiedenheiten der Tiere. Daneben kommt natürlich auch die Größe und der Sitz der Tumoren, wie namentlich eventueller Metastasen in Betracht. Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang, daß, wenn man Mäusen mit großen Tumoren sehr große Insulinmengen einverleibt — bis zum Hundertfachen der tödlichen Dosis —, man fast niemals Krämpfe und akuten Exitus zu beobachten Gelegenheit hat. Diese Tiere werden erst nach längerer Zeit matt, fallen zur Seite und sterben fünf und mehr Stunden nach der Injektion, während die Kontrollmäuse durch zwei bis drei tödliche Dosen innerhalb der ersten Stunde unter Krämpfen getötet werden.

Bei trächtigen Tumormäusen läßt sich eine erhöhte Insulintoleranz nicht nachweisen. *Graff, Frankl, Kok, Opitz* u. a. fanden, daß die Impfausbeute — selbst bei sonst in 100 Proz. angehenden Tumoren — bei

trächtigen Tieren eine sehr geringe ist. Die Angaben, wieweit die Beeinflussung der Tumorbildung durch Gravidität geht, schwanken zwischen vollständiger Unterdrückung und mehr oder minder weitgehender Hemmung. Ob das geänderte Verhalten der graviden Tiere in beiden Belangen in einem Kausalnexus steht, konnten wir noch nicht feststellen, wir glauben aber auf Grund anderer Versuche, dies annehmen zu müssen.

Zur Erklärung unserer Versuchsergebnisse möchten wir zunächst die älteren Untersuchungen und vor allem die der letzten Jahre über den Zuckerstoffwechsel unter verschiedenen Bedingungen mit ins Auge fassen.

Schon *Hofmeister* hat den sogenannten „Hungerdiabetes“ beschrieben und gezeigt, daß längeres Hungern zu einer Herabsetzung der Kohlehydrat-toleranz gesunder Tiere führt. *Hoppe-Seyler* sprach von einer „Vagantenglykosurie“ und *Bang* wies nach, daß Kohlehydratfütterung bei Hungerkaninchen eine viel höhere und länger dauernde Glykosurie hervorruft als bei normal ernährten Tieren. Anzuführen sind hier noch die bekannten Beziehungen zwischen Acidosis und Inanition bzw. Reduktion der Kohlehydrate in der Nahrung einerseits und die durch Säuregaben bewirkte Mobilisierung des Leberglykogens andererseits (*Elias*). In systematisch angestellten Versuchen hat *Staub* dann für die Ergebnisse der älteren Literatur und für seine eigenen Befunde eine Erklärung zu finden gesucht. Er kommt zu dem Resultat, daß die Assimilation zugeführter Kohlehydrate am leichtesten und vollständigsten bei mittlerem Glykogengehalt der Leber erfolgt, zu einer Zeit, in der Fermentbildung und Fermentwirkung in der Leber noch von der letzten Nahrungszufuhr her im Gange ist. Er findet das Optimum etwa zu einem Zeitpunkt, wo nach vorangegangener Kohlehydratfütterung die Leber ihr Glykogenmaximum eben oder beinahe erreicht hat. Er nimmt eine Abhängigkeit der Bildung und Wirksamkeit der die Kohlehydrate assimilierenden Fermente vom KH-Gehalt des Organismus, speziell vom Glykogengehalt der Leber und vom KH-Reichtum des vorangegangenen Ernährungsregimes an.

Über den Einfluß von in kurzen Intervallen erfolgender Nahrungs-, insbesondere KH-Zufuhr auf den Blutzucker, bestehen zahlreiche Angaben, die *Jonas*, *Miller* und *Teller* durch eigene Befunde vermehrten und dahin zusammenfaßten, daß bei Normalpersonen von zwei gleichen Mahlzeiten die zweite dann eine geringere Hyperglykämie erzeugt als die erste, wenn das Intervall zwischen beiden kürzer als 3 bis 4 Stunden ist. In einer glänzenden Zusammenfassung der in der Literatur vorhandenen Angaben sowie seiner eigenen Befunde hat dann *Gigon* die Verarbeitung und Verwertung der Nahrungskohlehydrate unter physiologischen und pathologischen Bedingungen klargelegt. Er kommt zu dem Schlusse, daß ein prinzipieller Unterschied besteht zwischen der Verwertung der Kohlehydrate durch den normalen nüchternen und den hungernden Organismus, der seine Glykogenvorräte schon stark angegriffen hat. Ersterer verbrennt einen aliquoten Teil der zugeführten Kohlehydrate rasch zu CO_2 und H_2O und verwendet die dabei frei werdende Energie, um aus dem übrigbleibenden größeren Teile Maltoseanhydrid, die Muttersubstanz des Glykogens, aufzubauen. Die Glykogenbildung selbst erfolgt — wie ja schon lange bekannt —

erst im Laufe mehrerer Stunden und ist, wenn einmal das Anhydrid vorhanden ist, nur mit minimaler Wärmetönung verbunden. Das Hungertier hat zunächst nicht das Bestreben oder die Fähigkeit, das zugeführte KH zu Glykogen zu kondensieren. Es kommt daher auch nicht zur sofortigen Verbrennung eines aliquoten Teiles der zugeführten KH, sondern es kommt zur Bildung einer N-Zuckerverbindung; da diese Synthese längere Zeit in Anspruch nimmt als die Anhydridbildung und da auch keine sofortige Zuckerverbrennung erfolgt, finden wir im Gefolge der KH-Zufuhr bei diesen Individuen eine viel länger dauernde Hyperglykämie als bei den normal ernährten. Der Diabetiker verhält sich nun KH gegenüber, auch ohne Nahrungskarenz, wie ein Gesunder im Zustande der Inanition.

Betrachten wir nun in diesem Zusammenhang unsere eigenen Befunde an präcancerösen Tieren, so sehen wir zunächst, daß die Hyperglykämie nach subkutaner Traubenzuckerinjektion¹⁾ viel länger anhält und viel höhere Grade erreicht als bei den Kontrolltieren. Wir sehen ferner, daß der respiratorische Quotient eine sehr weitgehende Unabhängigkeit von der Ernährung, speziell von der vorhergehenden KH-Zufuhr zeigt. Das ist doch kaum anders zu deuten, als daß im Anschluß an die KH-Zufuhr keine KH-Verbrennung erfolgt. Soweit verhalten sich die präcancerösen Tiere also wie Hungertiere, trotzdem sie sich weder im Gewicht, noch im Aussehen, noch in ihrer Ernährung von den Kontrollen unterscheiden. Wenn wir uns die Deutung zu eigen machen wollen, die *Staub* seinen Untersuchungsergebnissen gibt, so müssen wir sagen: dem präcancerösen Tiere fehlt — mindestens teilweise — die Fähigkeit, KH-assimilierende Fermente zu bilden. Ob bzw. inwieweit dieser Mangel — ähnlich wie in den Hungerversuchen — durch Glykogenarmut der Leber bedingt ist, wissen wir nicht. Durch diese Auffassung finden zwei unserer Befunde keine Erklärung: 1. daß nach Traubenzuckerfütterung der respiratorische Stoffwechsel präcanceröser Tiere bei unverändertem oder nahezu unverändertem respiratorischen Quotienten steigt. 2. daß kleine, intravenös injizierte Traubenzuckerdosen überaus rasch aus der Zirkulation präcanceröser Tiere verschwinden. Die Ergebnisse *Meyerhofs* (c. s.) und *Warburgs* (c. s.) können uns diese Befunde vielleicht etwas verständlicher machen. *Warburg* hat gezeigt, daß Tumorzellen besonders große Mengen Kohlehydrate umsetzen können, daß sie ein sehr hohes glykolytisches Vermögen besitzen. Die Glykolyse durch Bindegewebe und Epithel „in stationärem Zustande“ ist geringfügig, dagegen besitzt embryonales und auch wachsendes Gewebe im postfötalen Zustande, ferner Keimepithel, lymphadenoides Gewebe und dergleichen hohe glykolytische Fähigkeiten.

Es wäre die Annahme nun naheliegend, daß unter der Einwirkung der lange dauernden, intensiven Teerbehandlung bei unseren Versuchstieren Zellkomplexe aus dem „stationären Zustande“ in einen aktivistischen, mit erhöhter Zellneubildung und beschleunigtem Zellerfall übergehen, daß sie dementsprechend erhöhtes glykolytisches Vermögen und hohe Affinität zu Kohlehydraten erwürben. Dies würde erklären, daß intravenös einverleibte kleine Zuckermengen bei geteerten Hunden rascher aus der

¹⁾ Daß die Reduktionskurve nach intravenöser Injektion von ganz kleinen Mengen Traubenzuckers nicht nur nicht das gleiche Verhalten zeigt, sondern oft ein geradezu entgegengesetztes, dürfte besondere Ursachen haben. Wir kommen darauf noch zurück.

Zirkulation verschwinden als bei normalen, da sie von dem oder den aviden Zellkomplexen aufgenommen würden. Zur Sättigung derartiger Zellkomplexe mit Kohlehydrat müßte es natürlich auch bei subkutaner Injektion von Traubenzucker kommen. Daß dies in den Blutzuckerkurven nicht sichtbar war, erklärt sich wohl ungezwungen aus der Größe der einverleibten Menge (15mal mehr), die es mit sich bringt, daß der Einfluß des allgemeinen Zustandes intermediärer Kohlehydratverarbeitung viel mehr zur Geltung kommt und die relativ bescheidene Wirkung einzelner Zellkomplexe verdeckt. In jedem Falle aber — ob der Zucker enteral, subkutan oder intravenös eingeführt wird — müßten die aus ihrem „stationären Zustande“ aktivierten Zellkomplexe den von ihnen aufgenommenen Zucker glykolysieren, es müßte also zu einer Mehrproduktion von Milchsäure kommen. Da diese nicht ausgeschieden, auch nicht in vermehrtem Maße verbrannt wird — der respiratorische Quotient ist ja unverändert —, so dürfte sie resynthetisiert werden. Dies ist aber ein endothermer Prozeß. Da wir gesehen haben, daß in bezug auf den Kohlehydratstoffwechsel die geteerten Tiere sich wie Hungertiere verhalten, so muß die zu der Resynthese von KH aus der mehrgebildeten Milchsäure benötigte Energie durch Verbrennung von anderem — nicht KH — Material gedeckt werden. Dies erklärt, daß es zu einer Erhöhung des respiratorischen Stoffwechsels bei unverändertem respiratorischen Quotienten kommt.

Der Analogieschluß, daß präcanceröse Tiere sich in bezug auf den Kohlehydratstoffwechsel wie Hungertiere verhalten, wird auch durch den Befund erhärtet, daß präcanceröse Tiere in einem gewissen Stadium gegen Insulin überempfindlich sind. Viel auffallender als dieses rasch vorübergehende Stadium der Überempfindlichkeit ist die sich immer zeigende erhöhte Resistenz der tumortragenden Tiere gegen Insulin. Diese könnte eine Erklärung finden in einer Adsorption des Insulins durch Tumorzellen. Wir haben diesbezügliche Versuche gemacht, die gezeigt haben, daß in dieser Hinsicht kein qualitativer, sondern nur ein quantitativer Unterschied zwischen normalen und Ca-Zellen besteht (vgl. Mitteilung III). Eine zweite Erklärungsmöglichkeit wäre in der im Tumor gebildeten und von ihm abfließenden Milchsäure gegeben. Daß die Tumorzellen auch in vivo große Mengen Milchsäure bilden, erscheint nach den Versuchen *Warburgs* (c. s.), *Glässners* und *Coris* (c. s.) gewiß. Andererseits ist aber auch sicher, daß unter gewöhnlichen Bedingungen die mehr produzierte Milchsäure nicht ausgeschieden wird, sondern im Körper bleibt, also aller Wahrscheinlichkeit nach wieder zu Kohlehydrat resynthetisiert wird. Es käme daher bei den Tumortieren zu einer dauernden Zuckersynthese aus der aus dem Neoplasma stammenden Milchsäure. Dieser neugebildete Zucker könnte wenigstens teilweise die erhöhte Insulintoleranz erklären.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Versuche zusammen, so können wir sagen:

Der Kohlehydratstoffwechsel ist schon im präcancerösen Stadium verändert. Er zeigt gewisse Analogien mit dem Stoffwechsel beim Diabetes mellitus, mit dem eines Individuums nach lange dauernder Kohlehydratkarenz oder im Inanitionszustand, trotzdem die Tiere noch keine Gewichtsabnahme zeigten und vollständig munter waren.

Literatur.

C. F. und *G. T. Cori*, Journ. of biol. chem. **65**, 1925. — *Frankl*, Zentralbl. f. Gynäkolog. 1913, II, Nr. 41, S. 1507. — *Gigon*, Asher-Spiros Ergebn. d. Physiolog. XXIV. — *Glässner*, Ges. d. Ärzte, Wien, 28. März 1924; Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 39. — *Graff*, Zentralbl. f. Gynäkolog. 1913, II, Nr. 41, S. 1507. — *Grevenstuk* und *Laqueur*, Asher-Spiros Ergebn. d. Physiolog. XXIII. — *Jonas*, *Miller* und *Teller*, Arch. of int. Med. **85**, 1925. — *Kok*, Zentralbl. f. Gynäkolog. 1924, I, Nr. 21, S. 1136. — *Opitz*, Zentralbl. f. Gynäkolog. 1925, II, Nr. 31, S. 1718. — *Silberstein*, *Freud* und *Révész*, Wien. klin. Wochenschr. 1925, Nr. 13. — *Staub*, Zeitschr. f. klin. Med. **89**, **91**, **98**. — *Warburg*, Klin. Wochenschr. 1925, Nr. 12; diese Zeitschr. **152** u. f. — *Warburg* und *Minami*, Klin. Wochenschr. 1923, Nr. 17; diese Zeitschr. **142**, **317**, **334**, 1923. — *Warburg*, *Negelein* und *Posner*, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 24; diese Zeitschr. **152**, **309**, 1924.

Zur Biochemie des Carcinoms. III.

Von

Fritz Silberstein, Johann Freud und Tibor Révész.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Universität in Wien.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Anläßlich der Analyse der Alteration des Kohlehydratstoffwechsels im präcancerösen Stadium fiel uns die veränderte Insulinresistenz der Versuchstiere auf. Zunächst kam sie zum Ausdruck in einer vorübergehenden Erhöhung der Empfindlichkeit. Dann ging sie in ein Stadium normaler Ansprechbarkeit der präcancerösen Tiere und endlich in eines erhöhter Widerstandsfähigkeit der tumortragenden Maus gegen Insulin über. Um festzustellen, ob und was von diesen Veränderungen auf den Einfluß von Tumorzellen zu beziehen sei, haben wir Versuche mit Aufschwemmungen bzw. Extrakten von Tumoren und Insulin unternommen.

I. Extrakte von Tumoren nach Art der Insulindarstellung.

Wir haben Tumoren fein zerkleinert und mit saurem Alkohol extrahiert. Die Extrakte wurden filtriert, im Vakuum eingedunstet, dann mit Ammonsulfat ausgesalzen. Der Niederschlag wurde wieder aufgenommen, durch wiederholtes Umfällen gereinigt und schließlich bei p_H 5 gefällt und in Wasser gelöst. Diese Extrakte wurden an Kaninchen bezüglich ihrer Wirkung auf den Blutzucker geprüft. Folgender Versuch illustriert dies.

Tabelle I.

Kan. Nr.	Nüchternwert	Die injizierte Extraktmenge entspricht	Blutzucker nach					
			$\frac{3}{4}$ Stdn.	1 Std.	$1\frac{1}{4}$ Stdn.	$1\frac{1}{2}$ Stdn.	2 Stdn.	3 Stdn.
1	0,112	3 g Tumor			0,077		0,092	0,094
2	0,141	20 g "	0,124			0,083	0,126	
3	0,148	20 g "	0,101			0,081	0,090	
4	0,087	45 g "		0,074			0,103	

Ein Extrakt aus einem Menschentumor¹⁾ (Mamma-Ca) ergab ähnlichen Befund:

Tabelle II.

Kan. Nr.	Nüchternwert	Die injizierte Extraktmenge entspricht	Blutzucker nach		
			1/2 Std.	3 Stdn.	5 Stdn.
65	0,143	10 g Tumor	0,107	0,123	0,132
68	0,130	30 g „	0,100	0,125	0,130

Aus diesen und ähnlichen Versuchen schließen wir, daß sich mit der skizzierten Methode aus Tumoren ein Extrakt gewinnen läßt, der auf den Blutzuckerspiegel depressorisch wirkt, der sich vom Insulin aber dadurch unterscheidet, daß sich die Depression in engen Grenzen bewegt und daß auch um ein Vielfaches größere Dosen keine stärkeren Blutzuckersenkungen bewirken als kleine Mengen. Es könnte dies darauf zurückzuführen sein, daß zwei oder mehrere antagonistisch wirkende Substanzen nebeneinander vorhanden sind. Ihre Differenzierung und Charakterisierung ist uns bis nun noch nicht gelungen.

II. Wässerige Extrakte aus Tumorgewebe und im Kontrollversuch aus Normalgewebe.

Aus den beiden zuletzt angeführten Versuchen ist zu ersehen, daß die Injektion wässriger Extrakte aus Normalgewebe von einer leichten Blutzuckersteigerung gefolgt ist.

Die mit den Tumorextrakten gespritzten Tiere zeigen in den ersten Stunden nach der Injektion einen deutlichen Anstieg der Reduktionswerte im Blute, der gefolgt zu sein pflegt von einer früher oder später einsetzenden Erniedrigung. Diese ist entweder vorübergehend oder sie nimmt bis zum Tode zu. Die Blutzuckersenkung ist einigermaßen dadurch charakterisiert, daß sie von Krämpfen begleitet ist und daß Traubenzuckerinjektionen die sterbenden Tiere wenigstens vorübergehend zu retten vermögen.

III. Wässerige Zellaufschwemmungen plus Insulin in vitro gemischt.

Der Befund, daß Injektionen von Tumorzellextrakten von oft sehr lange anhaltenden Veränderungen des Blutzuckerspiegels gefolgt sind, war jedenfalls auffallend. Wir wissen aus zahlreichen eigenen

¹⁾ Wir verdanken das frische, steril gewonnene Material aus menschlichem Ca den Herren Hofrat Prof. Dr. A. Fränkel, Primar. Doz. Dr. Goldschmidt und Prof. Dr. H. Lorenz. Es ist uns Bedürfnis und Pflicht, ihnen auch an dieser Stelle für ihre große Zuvorkommenheit verbindlichst zu danken.

Tabelle III.

Kan. Nr.	Die subkutan injizierte Extraktmenge entspricht	Blutzucker	Blutzucker nach Stunden																Bemerkungen	
			2	3	5	8	11	12	16	18	22	23	24	25	29	36	48			
97	3 g Mäuse tumor	0,158	0,190	0,246																Nach 18 Std. †.
98	5 g "	0,193	0,176	0,210																Nach 18 Std. †.
110	3 g "	0,097	0,130	0,115		0,106													0,180	Überlebt.
111	3 g "	0,066	0,110	0,088		0,058														Nach 40 Std. †.
114	3 g gekocht	0,108	0,106	0,147		0,118														Überlebt.
115	3 g Mäuse tumor	0,120				0,098						0,120	0,136							Überlebt.
116	3 g "	0,134				0,088						0,080	0,058						0,124	Nach 22 Std. †.
117	3 g "	0,061			0,061															Nach 8 Std. †.
118	3 g "	0,100	0,127																0,061	Nach 29 Std. Krampf. †.
119	3 g "	0,098	0,129																0,057	Nach 25 Std. Krampf., Zucker subk., Erb., neuerl. Krämpfe, Zucker n. 26 Std. †.
120	3 g "	0,092	0,120																0,048	Nach 23 Std. Krampf., Zucker, Erholung, nochmals Krampf., Zucker, trotzdem nach 36 Std. †.
66	4 g Menseh entumor (Mamma.-Ca.)	0,099	0,110	0,117																Nach 24 Std. †.
67	4 g Menseh entumor (Mamma.-Ca.)	0,110	0,119	0,110																Überlebt.
112	4 g Normalgewebe der Maus	0,097	0,110	0,118						0,101										Überlebt.
113	4 g Normalgewebe der Maus	0,087	0,101	0,115						0,087										Überlebt.

wie aus in der Insulinliteratur niedergelegten Erfahrungen, daß einseitige Änderungen im Kohlehydratstoffwechsel häufig gefolgt sind von kompensatorischen Überregulationen. Es war also die Möglichkeit zu erwägen, daß die nach der Blutzuckersteigerung wiederholt beobachtete und oft bis zum Tode des Versuchstieres fortwährend zunehmende Erniedrigung der Reduktionswerte im Blute mit der unmittelbar nach der Injektion feststellbaren Hyperglykämie in ursächlichem Zusammenhang stehe. Die Beantwortung dieser Frage erschien uns schon deshalb wichtig, weil die primäre Hyperglykämie nach Tumorextraktinjektion die erhöhte Insulintoleranz der tumortragenden Tiere dem Verständnis näher bringen könnte. Andererseits waren wir auf Grund der Versuche mit Tumorextrakten zu der Annahme gelangt, daß in den Extrakten neben einer insulinartigen Substanz noch eine antagonistisch wirkende vorhanden sei. Wir hofften, näheren Einblick in diese komplizierten Verhältnisse zu gewinnen, indem wir in weiteren Versuchsreihen die Beeinflussung der Insulinwirkung durch Tumorextrakte und Tumorzellaufschwemmungen untersuchten.

A) Prüfung des Sediments und Abgusses von Insulin + Tumorzellaufschwemmungen.

Wir haben das Insulin in Versuch 69 bis 72 15 Minuten, in den Versuchen 57 bis 62 45 Minuten lang bei 37° auf die Zellsuspensionen einwirken lassen, scharf abzentrifugiert und dann einerseits die klare überstehende Flüssigkeit, andererseits das Sediment im Tierversuch geprüft.

Betrachten wir zunächst die Wirkungen der in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmten Sedimente, die mit Insulin — *sit venia verbo* — sensibilisierte Ca-Zellen enthielten, so ist auffallend, daß das Auftreten von Krämpfen bei Verwendung entsprechender Dosen weitgehend unabhängig zu sein scheint von der zur Sensibilisierung verwendeten Insulinmenge, dagegen wesentlich abhängig von der Länge der Zeit des Kontakts der Zellen mit der Insulinlösung. Hat dieser bloß 15 Minuten bis zum Beginn des Zentrifugierens gedauert, so sind die Sedimente noch ungiftig, nach 45 Minuten dagegen zeigen sie volle Wirksamkeit. Bezüglich des Zeitpunkts des Auftretens der Krämpfe läßt sich nur sagen, daß sie ohne erkennbare Ursache bald überraschend zeitlich (45 Minuten), bald verspätet (4 Stunden und später) eintreten. Dabei muß noch hervorgehoben werden, daß die Krämpfe bei Reduktionswerten des Blutes einsetzen, die weit über den gewöhnlichen Hypoglykämiewerten liegen. Wie schon erwähnt, wurden bei den Kaninchen, denen Ca-Zellen injiziert worden sind, die nur kurz (15 Minuten) mit Insulin digeriert worden waren, keine Krämpfe beobachtet. Machten wir bei ihnen etwa 2½ Stunden nach der Injektion Blutzuckerbestimmungen, so fanden wir deutlichen Anstieg der Re-

Tabelle IV.

Kan. Nr.	Gewicht g	Injektionsmaterial (Insulin in alten klin. Einb.)	Blutzuckerwerte					Bemerkungen			
			Vor der Injekt.	3/4	1	1 1/4	1 3/4		2	2 1/2	4
57	1200	2 g Mäuse-Ca + 10 E. I. Abguß	0,098								Keine Krämpfe, am nächsten Morgen tot gefunden.
58	1200	Sediment von Nr. 57	0,088								Nach 4 Stdn. plötzlich Krämpfe. Zucker: Erholung am nächsten Morgen tot.
59	1100	2 g Mäuse-Ca + 20 E. I. Abguß	0,087				0,039				Nach 1 3/4 Stdn. Krämpfe. Zucker: Erholung: am nächsten Morgen tot.
60	1050	Sediment von Nr. 59	0,107	0,089							Nach 45 Min. Krämpfe. Zucker: Erholung: überlebt.
61	1100	2 g Mäuse-Ca + 40 E. I. Abguß	0,110		0,027						Nach 1 Std. Krämpfe. Zucker: Erholung: überlebt.
62	1200	Sediment von Nr. 61	0,111					0,067			Nach 2 Stdn. Krämpfe. Zucker: Erholung: überlebt.
69	1250	3 g Mäuse-Ca + 45 E. I. Abguß	0,103			0,029					Nach 75 Min. Krämpfe. Zucker: Erholung: am nächsten Morgen tot.
70	1250	Sediment von Nr. 69	0,132						0,114		Keine Krämpfe, überlebt.
71	1400	3 g Mäuse-Ca + 67 E. I. Abguß	0,106			0,062					Nach 75 Min. Krämpfe. Zucker: Erholung: überlebt.
72	1450	Sediment von Nr. 71	0,101							0,133	Keine Krämpfe, überlebt.

duktionswerte. Die mit dem klaren Abguß gespritzten Tiere zeigten — soweit große Insulinüberschüsse zur Verwendung gekommen waren — rasch eintretende Blutzuckersenkung mit typischen hypoglykämischen Symptomen, die auf Traubenzuckerinjektionen prompt zurückgingen.

B. Auswertung des Abgusses.

Da wir aber in diesen Versuchen mit großen Insulindosen gearbeitet haben, läßt sich aus ihnen nicht schließen, ob nicht ein Teil bzw. wieviel Insulin durch die Ca-Zellen wirkungslos gemacht worden ist. Wir haben daher in den folgenden Versuchen Ca - Aufschwemmung mit wechselnd großen Dosen Insulin gemengt, nach entsprechender Digestion abzentrifugiert, die klaren Ausgüsse quantitativ ausgewertet, indem wir sie in verschiedene Teile teilten und aliquote Mengen zur Auswertung injizierten.

Methodik.

In den folgenden Versuchen wurden 3 g Mäuse- bzw. Menschen-Ca-Zellaufschwemmung oder Normalgewebe in 20 ccm NaCl-Lösung mit wechselnder Menge Insulin Phiag gemischt, 45 Minuten bei 37° gehalten, dann scharf abzentrifugiert, von der klaren, überstehenden Flüssigkeit wechselnde Mengen injiziert.

Fassen wir die in der vorstehenden Tabelle angeführten Versuche zusammen, so sehen wir, daß Insulinverlust zeigten:

Versuch 1 (Mäuse-Ca + hohe Insulindosis): hoher Verlust;
 „ 5 („ „ + mittlere Insulindosis): mäßiger Verlust;
 „ 6 (Menschen-Ca + hohe Insulindosis): „ „
 „ 7 („ „ + mittlere Insulindosis): kleiner, aber deutlicher Verlust.

In den anderen Versuchen waren keine wesentlichen Insulinverluste nachweisbar, wofern auf Krampf ausgewertet wird. Doch ist hervorzuheben, daß der hypoglykämische Symptomenkomplex hier bei abnorm hohen Reduktionswerten auftrat. Das war der Fall in

Versuch 2 und 3 (Mäuse-Ca + hohe Insulindosis);
 „ 4 (Mäuse-Ca + mittelhohe Insulindosis).

Die Adsorption durch Normalgewebe zeigte geringe Insulinverluste in Krampfdosen, die Krämpfe traten aber auch hier bei hohen Reduktionszahlen auf. Der Umstand, daß die bei hohen Reduktionswerten einsetzenden Krämpfe durch Traubenzuckerinjektionen glatt sistiert wurden, legt den Gedanken nahe, daß das Reduktionsvermögen des Blutes mindestens zum Teil auf eine vom Gewebe nicht angreifbare Zuckerform zu beziehen sei.

IV. Tumor- und Normalgewebeaufschwemmungen gleichzeitig und getrennt mit Insulin intraperitoneal injiziert.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Beeinflussung von Insulin durch Ca- bzw. Normalgewebeaufschwemmung in den Tierkörper verlegt. Wir haben Aufschwemmungen von Menschentumorzellen, Mäusetumorzellen, menschlichem Normalgewebe, Mäusenormalgewebe in physiologischer NaCl-Lösung und gleichzeitig wechselnde Insulindosen intraperitoneal injiziert.

Fassen wir die in Tabelle VI zusammengestellten Versuche zusammen, so müssen wir sagen: Bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von Tumorzellaufschwemmungen und großen Insulindosen kommt es vielfach zu Aufhebung der Insulinwirkung; auch normale Gewebeaufschwemmungen haben oft diese Fähigkeit. Wovon es abhängt, daß die Insulinhemmung in einer Anzahl von Fällen gelingt, während sie in anderen mißlingt, läßt sich aus unseren Versuchen nicht erkennen. Bei normalen Zellen könnte es vielleicht von der Zusammensetzung des injizierten Gewebstreies — ob mehr oder weniger Muskulatur bzw. parenchymatöse Organe — abhängen.

Auch aus diesen Versuchen geht eine prinzipielle Verschiedenheit in der Wirkung normaler und carcinomatöser Gewebe nicht hervor, es ergibt sich lediglich ein quantitativer Unterschied. Es kam in den Versuchen mit gleichzeitiger, aber getrennter intraperitonealer Einver-

Tabelle V.

Injektionsmaterial bereitet aus	Kan. Nr.	Gewicht g	Erhält Abzug in älteren klin. Einheiten	Blutzucker		Verlauf, insbesondere Krämpfe
				vor Injekt.	nach Injekt.	
3 g Mäuse-C'a + 60 klin. Einh. Insul.	79	1100	30	0,103	75	0,028 Nach 75 Min. Krämpfe, Zucker i. v. sof. Erhlg., überlebt.
	80	1300	20	0,098	120	0,075 Keine Krämpfe, bleibt gesund.
	81	1300	10	0,116	110	0,079 Keine Krämpfe, bleibt gesund.
Wie Versuch 1	99	1600	30	0,123	90	0,057 Nach 90 Min. Krämpfe, Zucker i. v. sof. Erhlg., überlebt.
	100	1650	20	0,126	135	0,120 Nach 135 Min. Krämpfe, Zucker i. v. sof. Erhlg., überlebt.
	101	1600	3	0,120	120	0,102 Nach 120 Min. Krämpfe, Zucker i. v. sof. Erhlg., überlebt.
Wie Versuche 1 und 2	91	1600	30	0,107	90	0,050 Nach 90 Min. Krampf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	92	1400	20	0,073	105	0,057 Nach 105 Min. Krampf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	93	1600	10	0,130	160	0,056 Nach 150 Min. Krampf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
3 g Mäuse-C'a + 45 klin. Einh. Ins.	102	1600	22	0,111	120	0,071 Nach 120 Min. Krämpfe. Auf Zucker: Erholung, überlebt.
	103	1500	13	0,083	60	0,053 Nach 60 Min. Krampf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	104	1500	7	0,088	60	0,055 Nach 60 Min. Krampf. Stirbt während der Blutentnahme.
3 g Mäuse-C'a + 30 klin. Einh. Ins.	82	1350	10	0,108	120	0,040 Nach 120 Min. Krampf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	83	1350	6	0,100	150	0,074 Keine Krämpfe, bleibt gesund.
	84	1300	4	0,104	165	0,096 Keine Krämpfe, bleibt gesund.

Tabolle V (Fortsetzung).

Injektionsmaterial bereitet aus	Kan. Nr.	Gewicht	Erhält Abguss in alten klin entspr. Insulin	Blutzucker		Verlauf, insbesondere Krämpfe	
				vor Injekt.	nach Injekt.		
3 g Menschen (Mamma-Ca) + 60 E. I.	73	1250	30	0,109	90	0,028	Nach 90 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
	74	1200	20	0,113	105	0,066	Nach 105 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
	75	1300	10	0,116	110	0,079	Keine Krämpfe, bleibt gesund.
Versuch 6.							
2 g Mamma-Ca + 24 klin. Einh. Ins.	76	1000	7,5	0,120	75	0,059	Nach 75 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
	77	1000	6	0,031	45	0,046	Nach 45 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
	78	1200	3,6	0,116	150	0,070	Keine Krämpfe, bleibt gesund.
Versuch 7.							
3 g Normalgewebe (viel Leber) der Maus + 60 klin. Einh. Ins.	88	1500	30	0,118	105	0,046	Nach 105 Min. Krämpf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	89	1350	20	0,119	120	0,042	Nach 120 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
	90	1300	5	0,116	120	0,050	Keine Krämpfe, bleibt gesund.
Versuch 8.							
Wie Versuch 8	118	1700	30	0,128	75	0,055	Nach 75 Min. Krämpf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	119	1550	20	0,112	75	0,044	Nach 75 Min. Krämpfe, Zucker: stirbt nach einigen Std.
	120	1650	5	0,122	75	0,112	Keine Krämpfe, bleibt gesund.
Versuch 9.							
Wie Versuch 8 und 9	94	1200	30	0,120	150	0,091	18 Std.: 0,053, nach 2 1/2 und 18 Std. Krämpfe, auf Zucker jedesmal Erholung, nächsten Morgen tot.
	95	1300	25	0,108	120	0,074	Nach 2 Std. Krämpf., Zucker: Erhlg., nächst. Morgen tot.
	96	1300	10	0,100	175	0,050	Nach 175 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.
Versuch 10.							
Versuch zur Kontrolle der Wirksamkeit des benutzten Insulins.							
Insulin subkutan injiziert	1	1800	3	0,115	90	0,033	Nach 90 Min. Krämpfe, Zucker i. v. Erholung, überlebt.
	2	1700	3	0,100	90	0,028	Nach 90 Min. Krämpfe, stirbt vor Zuckerinjektion.
	3	—	3	0,101	90	0,028	Nach 90 Min. Krämpfe, Zucker: Erholung, überlebt.

Tabelle VI.

Kan. Nr.	Gewicht g	Injiziertes Substrat	Injizierte In- sulinmenge in klinischen Ein- heiten	Blutzucker		Verlauf, insbesondere Krämpfe
				vor Injekt.	nach Injekt.	
23	2000	3 g Mäuse-Ca	12,5	0,098	120	Keine Krämpfe.
26	1800	3 g "	10	0,115	120	Keine Krämpfe, am nächsten Morgen tot.
38	2000	3 g "	24	0,089	180	Keine Krämpfe.
39	2050	3 g "	24	0,084	180	Keine Krämpfe.
40	1900	3 g "	28	0,061	120	Krämpfe.
42	1900	3 g "	42	0,070	150	Keine Krämpfe.
44	1400	3 g "	60	0,136	90	Krämpfe.
46	1400	3 g "	31	0,086	300	Krämpfe.
24	2100	3 g Mäusenormalgew. (Leber, Niere)	7	0,104	120	Nach 120 Min. Krämpfe.
25	1900	3 g " (Milz, Leber)	9	0,110	135	Nach 135 Min. Krämpfe.
41	1900	3 g "	24	0,067	120	Krämpfe, auf Zucker Erholung, lebt.
37	1900	3 g "	24	0,086	180	Keine Krämpfe.
32	1800	3 g "	12	0,092	150	Keine Krämpfe, überlebt.
33	1900	3 g "	12	0,098	150	Keine Krämpfe.
29	1600	3 g Menschen-Ca	6,5	0,130	150	Krämpfe.
30	1500	6 g "	8	0,114	135	5 1/2 Std.: 0,086, 9 Std.: 0,056, keine Krämpfe, nächsten Morgen tot.
53	3 g	" (Mamma)	6	0,100	120	2 1/2 Std.: Krämpfe, Zucker, doch n. 3 Std. tot.
54	1200	3 g "	20	0,096	120	12 Std.: 0,104, keine Krämpfe.
55	1300	3 g "	40	0,125	90	12 Std.: 0,133, keine Krämpfe.
50	1500	3 g Menschen-Normal-Mamma	6	0,089	105	Keine Krämpfe.
51	1450	3 g "	20	0,071	90	Nach 105 Min. Krämpfe.
52	1500	3 g "	40	0,102	165	Nach 90 Min. Krämpfe.
						12 Std.: 0,100, keine Krämpfe.

leibung von großen Insulindosen und Mäuse-Ca in 50 Proz. der Versuche nicht zu Krämpfen, bei normalen Mäusegewebesaufschwemmungen dagegen nur in 33 Proz. Bei menschlichen Zellen erfolgte die Krampf-
 unterdrückung durch Tumor- bzw. einfaches Mammagewebe in 80 Proz. bzw. 33 Proz. Auch in diesen Versuchen fiel uns die deutliche Un-
 abhängigigkeit des Auftretens bzw. Ausbleibens der Krämpfe von den
 erhobenen Reduktionswerten auf. Nun haben wir ja früher gesehen,
 daß wässrige Extrakte aus Ca-Zellen nach vorübergehender Blut-
 zuckersteigerung oft nach vielen Stunden (18 bis 36 Stunden) unter
 Krämpfen zum Tode der Versuchstiere führen. Es war uns damals
 auch wiederholt gelungen, durch Traubenzuckerinjektion die Krämpfe
 zu sistieren und das Leben der Versuchstiere zu erhalten oder mindestens
 um einige Zeit zu verlängern. Um nun zu sehen, wie intraperitoneal
 injizierte Tumorzellen als solche wirken und ob nicht die in einem
 Teile der Kombinationsversuche mit Insulin bei hohen Blutreduktions-
 werten innerhalb der ersten Stunden p. inj. auftretenden Krämpfe
 auf die Ca-Zellen zu beziehen sind, haben wir Kontrollversuche an-
 gestellt. Ein paar Beispiele sind in Tabelle VII zusammengefaßt. Aus
 ihnen geht hervor, daß weder menschliche noch Mäuse-Ca-Zellen bei
 intraperitonealer Injektion in den in Frage kommenden Mengen
 innerhalb der ersten Stunden nach der Einverleibung zu Krämpfen
 oder zu charakteristischen Veränderungen des Blutzuckerspiegels
 führen.

Tabelle VII.

Kan. Nr.	Ge- wicht g	Injiziertes Material i. p.	Blutzucker				Verlauf
			vor Injekt.	nach 2 Std.	nach 5 Std.	nach 12 Std.	
47	1300	2 g Menschen-Ca (Mamma) . . .	0,126		0,106	0,100	Keine Krämpfe, überlebt.
48	1300	3 g Menschen-Ca (Mamma) . . .	0,154		0,154	0,128	Keine Krämpfe, überlebt.
49	1300	3 g Menschen-Ca (Mamma) . . .	0,092		0,106	0,092	Keine Krämpfe, überlebt.
31	1100	5 g Menschen-Ca (Mamma) . . .	0,106		0,115		Keine Krämpfe beobacht., nächsten Morgen tot.
27	1950	3 g Mäuse-Ca . . .	0,100	0,122			Keine Krämpfe beobacht., nächsten Morgen tot.
28	1900	3 g Mäuse-Nor- mal-Gewebe . . .	0,093	0,107			Keine Krämpfe beobacht., nächsten Morgen tot.

Zusammenfassung und Schluß.

Überblicken wir alle Versuchsreihen im Zusammenhang, so können wir sagen, daß sich sowohl aus Ca- wie aus normalen Gewebszellen Stoffe extrahieren lassen, die auf die Regulation des Blutzuckerspiegels

wirken. Kombiniert man Ca- oder normale Gewebszellen oder Extrakte aus ihnen mit Insulin, so wird die Wirkung des letzteren verändert, und zwar sowohl dann, wenn die Einwirkung in den Körper des Versuchstieres verlegt wird, wie auch, wenn die Digestion vor dem Tierversuch stattfand. Dieser Einfluß äußert sich darin, daß es einerseits trotz hoher Insulingaben wiederholt nicht zu einer merklichen Hypoglykämie kommt. Andererseits kann es zur Ausbildung eines hypoglykämischen Symptomenkomplexes bei relativ und oft auch absolut hohen Reduktionswerten im Blute kommen. Dies legt den Gedanken nahe, daß es zum Auftreten von Substanzen im Blute kommt, die nicht identisch sind mit Kohlehydraten, die für den tierischen Organismus verwertbar sind.

Da sich aber in unseren Versuchen zwischen Ca- und normalen Zellen lediglich quantitative Unterschiede zeigten, läßt sich damit die prinzipielle Verschiedenheit des Kohlehydratstoffwechsels der Tumortiere nicht erklären. Auch aus diesen Versuchen muß man daher folgern, daß bei den Tumortieren eine Anomalie des (Kohlehydrat-?) Stoffwechsels des Gesamttieres vorliegt und daß also das Wesen der Erkrankung nicht eine auf einige Zellen beschränkte Schädigung ist.

Über den Ersatz von Zucker durch andere chemisch definierte Körper bei der Bekämpfung und Hintanhaltung des durch Insulin hervorgerufenen hypoglykämischen Komplexes.

Von

Fritz Silberstein, Johann Freud und Tibor Révész.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität in Wien.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Bei unseren Versuchen, menschliche und tierische Carcinome durch Insulin zu beeinflussen, tauchte die Frage auf, wie die mehr oder weniger häufig beobachteten hypoglykämischen Anfälle zu bekämpfen bzw. zu verhüten seien, ohne daß durch etwa eingeführten Traubenzucker der Insulineffekt aufgehoben oder eingeschränkt werde. Da diese Frage auch bei der Insulinbehandlung des Diabetes mellitus von Bedeutung ist, so schien sie uns eingehender Bearbeitung wert.

Bisher existierten in der Literatur, soweit sie uns zugänglich war, nur relativ wenige diesbezügliche Angaben. *Noble* und *Macleod* haben in einigen Versuchen Natriumlactat verwendet, ohne aber zu eindeutigen Ergebnissen zu gelangen. Sie machten auch einen Versuch mit Äthylalkohol, in welchem sich dieser als wirkungslos erwies. Diese Autoren geben auch an, daß Glycerin, subkutan verabreicht, im hypoglykämischen Anfall ohne Erfolg ist, während *Banting*, *Campbell* und *Fletcher* bei peroraler Zufuhr ziemlich gute Resultate beobachteten. Ebenso hatten *Voegtlin*, *Dunn* und *Thompson* Erfolge bei intraperitonealer und intravenöser Injektion. Diese Autoren beobachteten auch Ausbleiben der Insulinkrämpfe, wenn sie ihren Versuchstieren unmittelbar nach der Insulininjektion große Mengen von Glycerin und Alanin durch die Schlundsonde verfütterten. *Mac Phedran* und *Banting* konnten mit Calciumlactat hypoglykämische Krämpfe aufheben. Auch gewisse anorganische Salze hemmen unter Umständen das Auftreten hypoglykämischer Erscheinungen. Ihre Wirkung jedoch ist jedenfalls auf eine Abschwächung des Insulineffekts zurückzuführen, kommt also lediglich einer Verringerung der Insulindosis gleich. Wir wissen aus den Unter-

suchungen von *Warburg* und seinen Mitarbeitern, daß Tumorzellen in besonders hohem Maße zu Glykolyse befähigt sind. Uns kam es also in erster Linie darauf an, Substanzen zu verwenden, die im intermediären Stoffwechsel normalerweise vorkommen und nicht durch glykolytische Fermente angreifbar, daher nicht für den Stoffwechsel der Ca-Zellen besonders geeignet sind.

In den Kreis unserer Untersuchungen zogen wir Dioxyaceton, Alanin, milchsaures Natrium, ferner milchsaures Calcium, Alkohol, Glycerin, brenztraubensaures Natrium und Ammonium und Acetaldehyd. Als Versuchstiere haben wir Hunde und Kaninchen verwendet. Die Hunde erwiesen sich im späteren Verlauf als ungeeignet, da sie vielfach auch ohne therapeutische Beeinflussung, trotz niedrigen Blutzuckers, symptomfrei blieben. Wir haben in einer Reihe von Versuchen die zu prüfenden Präparate kürzere oder längere Zeit nach der Insulininjektion, also vor Ausbruch der zu erwartenden Krämpfe gespritzt, in anderen erst nach Auftreten derselben. Die Einzelheiten sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Dioxyacetonversuche.

Nr.	Gew.	Insulin in alten klin. Einheiten	Substrat Injektionszeit nach d. Insulininjektion und Menge	Blutzucker vor der Insulininjektion	Krämpfe nach Stunden	Blutzucker in mg-Proz. Stunden nach der Injektion							Bemerkungen
						2	3	4	5	6	8	10	

Prophylaktisch.

1	1000	4.5	5 g (gleichzeitig)	98	—	—	58	—	—	—	35	—
2	1100	10	1h nach 5 g	100	—	58	—	63	—	—	46	—
3	1200	8	1h nach 4 g	106	—	70	—	80	—	—	53	—
4	1300	6	1h nach 3 g	120	—	65	—	110	—	—	70	—

Therapeutisch.

5	1100	4.5	2h nach 5 g	92	2 Stdn.	19	—	80	—	—	51	—
6	900	6	2h nach 4 g	120	2 Stdn.	45	—	93	—	—	—	—
7	1250	8	3h nach 6 g	109	3 Stdn.	—	46	51	—	—	—	—
8	1100	10	3h nach 8 g	125	3 Stdn.	—	60	72	—	—	—	—
9	1700	4.5	2h nach 3 g	107	2 Stdn.	—	33	91	88	89	56	—

Alaninversuche.

Nr.	Gew.	Insulin in alten klin. Einheiten	Substrat Injektionszeit nach d. Insulin- injektion und Menge	Blutzucker vor der Insulin- injektion	Krämpfe nach Stunden	Blutzucker in mg-Proz. Stunden nach der Injektion								Bemerkungen
						2	3	4	5	6	8	10		
Prophylaktisch.														
10	1000	4,5	1h nach 3 g	96	—	—	—	59	—	—	—	—		
11	1500	6,7	1h nach 5 g	91	—	42	26	30	32	—	—	—	Matt	
12	1300	6	$\frac{3}{4}$ h nach 1 g per os	106	—	30	25	—	—	—	—	—	Nach 24 Stdn. † gefunden	
13	1300	6	$\frac{3}{4}$ h nach 2 g per os	95	—	60	54	56	—	—	—	—		
14	1500	7	$\frac{3}{4}$ h nach 4 g per os	87	—	58	50	54	—	—	—	—		
15	1400	6	$\frac{3}{4}$ h nach 1,5 g per os	126	—	40	32	36	—	—	—	—		
16	900	6	$\frac{1}{4}$ h nach 1,5 g per os	120	—	—	60	58	64	—	—	—		
17	1300	10	1h nach 2,5 g per os	142	3 und 4 Stdn.	—	44	80	—	—	—	—	Die Krämpfe durch je 1,5 g Alanin kupert	
Therapeutisch.														
18	1250	8	2h nach 2 g	138	2 Stdn.	48	—	52	90	—	—	—	Die Krämpfe durch je 1,5 g Alanin kupert	
					3	"								
					4	"								
19	1500	7	3 ^a nach 5 g	100	3	"	—	30	25	40	—	—		
20	1700	10	2h nach 5 g	117	2	"	37	—	100	—	—	—		
21	1100	8	3 ^b nach 4 g	100	3	"	—	30	54	—	—	—		
22	1600	5	2h nach 3 g	126	2	"	63	—	94	88	—	64	44	

Die Injektionen nach Auftreten des hypoglykämischen Symptomenkomplexes sind im folgenden als therapeutische angeführt. Die vor Auftreten der Symptome verschieden lange nach dem Insulin verabreichten Injektionen werden als prophylaktische bezeichnet.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß Dioxyceton, in entsprechender Menge gleichzeitig mit oder kurz nach (bis zu einer Stunde) größeren Insulindosen injiziert, das Auftreten hypoglykämischer Erscheinungen

hintanzuhalten vermag. Verfolgt man den Blutzuckergehalt der Versuchstiere, so sieht man, daß die Senkung im Gefolge der Insulininjektion bei dieser Art der Dioxyacetonverabreichung nicht so hochgradig ist wie sonst, dafür aber länger anhaltend. Spritzt man das Dioxyaceton therapeutisch, d. h. nach Ausbruch hypoglykämischer Krämpfe, so werden letztere prompt sistiert. Dabei ist die Blutzuckersteigerung, die infolge Dioxyacetoninjektion eintritt, einerseits gewöhnlich nicht bedeutend, andererseits scheint auch der Wiederanstieg zu Normalwerten verzögert zu werden.

Die auffälligste Wirkung aber zeigte das Alanin. Dieses ist imstande, sowohl bei peroraler wie bei subkutaner Zufuhr das Auftreten hypoglykämischer Erscheinungen zu verhindern, wenn man es in geeigneten Mengen, etwa 1 Stunde nach der Insulininjektion, den Tieren zuführt. Dabei kommt auch die Eigenschaft, die Reduktionswerte im Blute für mehrere Stunden niedrig zu halten, also die Insulinwirkung zu protrahieren, besonders deutlich zum Ausdruck. Bei therapeutischer Anwendung, d. i. also bei Injektion unmittelbar nach Ausbruch der Krämpfe, wirkt Alanin ebenso prompt wie Traubenzucker oder Dioxyaceton. Mit letzterem hat es auch die Fähigkeit gemein, die Blutzucker herabsetzende Wirkung des Insulins zu verlängern. Sehr instruktiv ist in dieser Hinsicht z. B. unser Versuch 22. Es handelt sich dabei um ein Kaninchen, welches nach Injektion von 5 klinischen Einheiten Insulin, bei einem relativ hohen Blutzucker (63 mg-Proz.), einen typischen hypoglykämischen Anfall hatte. Dieser verschwand auf Alanininjektion sofort. Die Blutzuckerwerte, die wir in den nächsten Stunden erhoben, waren nur vorübergehend höher als der Hypoglykämiewert, sanken dann weiter ab und hielten sich, ohne daß neuerlich hypoglykämische Erscheinungen beobachtet worden wären, mehrere Stunden lang unter dem Werte, bei dem ursprünglich Krämpfe aufgetreten waren. Wir haben also im Alanin ein Mittel, welches die hypoglykämische Intoxikation nach Insulin nicht nur hintanhält, sondern gleichzeitig auch die depressorische Wirkung des Pankreashormons vertieft und verlängert.

Im Gegensatz dazu stehen unsere Versuche mit Alkohol und Glycerin, die vollständig negativ verlaufen sind und auf deren Reproduktion wir deshalb verzichten. Diese beiden Mittel wirken zwar Blutzucker steigernd, ohne aber imstande zu sein, die Insulinkrämpfe zu beheben oder zu verhüten.

Von den weiteren Versuchen seien noch kurz die mit Acetaldehyd und mit brenztraubensauren Salzen erwähnt. Erstere Substanz kommt schon infolge ihres niederen Siedepunkts (21°) für praktische Anwendung nicht in Betracht. Wir haben es nur aus theoretischem Interesse in Versuch gezogen. Es zeigte sich aber, daß es in einigermaßen wirk-

samen Mengen stark giftig ist. Auch die brenztraubensauren Salze sind nicht unschädlich und scheiden daher aus unseren therapeutischen Bestrebungen aus. Es handelt sich bei diesen beiden Körpern um Substanzen, welche zwar die Blutzucker herabsetzende Wirkung des Insulins neutralisieren können, nicht aber die toxische. Da auch diese Versuche ergebnislos waren, sehen wir von ihrer Wiedergabe ab.

Analog den widersprechenden Befunden, die andere Autoren mit milchsauren Salzen erhalten haben, haben auch wir keine eindeutigen Befunde erheben können. Zwar gelang es in manchen Fällen, bei entsprechender Dosierung und rechtzeitiger Einverleibung der milchsauren Salze, nicht nur Krämpfe zu verhüten, sondern auch eine relativ langdauernde Blutzuckersenkung zu erzielen, doch konnte eine derartige Wirkung nicht mit Sicherheit erzielt werden. Die therapeutischen Lactatversuche waren insofern völlig ergebnislos, als zwar wiederholt ein Wiederanstieg des unter Insulin gesunkenen Blutzuckers beobachtet werden konnte, die Krämpfe aber unbeeinflusst blieben oder erst nach längerer Zeit aufhörten. Wir haben große Versuchsreihen mit verschiedenen Lactaten unter wechselnden Bedingungen angestellt. Da die erhaltenen Versuchsergebnisse vollständig ungleichmäßig waren und wir daher aus ihnen keinerlei Schlüsse ziehen können, so sehen wir von der Reproduktion der Versuche ab.

Aus der Tatsache, daß die einzelnen zur Bekämpfung des hypoglykämischen Schockes verwendeten Substanzen auf Schock und Blutzucker wiederholt ganz verschieden wirken, geht hervor, daß die den Blutzucker senkende Fähigkeit des Insulins nicht identisch ist mit der Krampf auslösenden. Man muß vielmehr, wie es bereits von mehreren Autoren geschehen ist, eine mehr oder weniger weitgehende Unabhängigkeit der beiden Wirkungen voneinander annehmen.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so läßt sich sagen, daß:

1. Dioxyaceton und vor allem Alanin imstande ist, sowohl nach peroraler wie subkutaner Verabreichung, die gleichzeitig oder verschieden lange Zeit nach einer Insulininjektion, aber noch vor Auftreten der Krämpfe erfolgt, den hypoglykämischen Symptomenkomplex hintanzuhalten, trotzdem der Blutzuckerspiegel mehrere Stunden niedrig bleibt.

2. Dioxyaceton und Alanin bei parenteraler Zufuhr die nach entsprechenden Insulingaben auftretenden Krämpfe sistieren.

3. Verabreichung von Lactaten wegen ihrer unzuverlässigen Wirkung zur Vermeidung hypoglykämischer Erscheinungen ungeeignet ist.

4. Acetaldehyd, brenztraubensaure Salze, Glycerin und Alkohol sich als ungeeignet erwiesen, Insulinintoxikationen prophylaktisch oder therapeutisch zu beeinflussen.

Literatur.

Banting, Campbell und Fletcher, Insulin og Diabetes, Kopenhagen 2, 50, 67, 1923; zitiert nach *Grevenstuck und Laqueur, Ergebn. d. Physiol.* 23, 2, 1924. — *Campbell und Fletcher, Journ. Amer. Med. Ass.* 1, 1641, 1923. — *Kylin, Med. Klin.* 34, 1262, 1925. — *Mac Phedran und Banting, Journ. Amer. Med. Ass.* 1, 1726, 1923. — *Magenta und Biasotti, C. r. Soc. Biol.* 89, 1125, 1923; 90, 249, 1924. — *Noble und Macleod, Amer. Journ. of Physiol.* 64, 547, 1923. — *Silberstein, Freud, Révész, Schneid, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. (im Erscheinen).* — *Silberstein, Freud, Révész, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. (im Erscheinen).* — *Voegtlin, Dunn und Thompson, Amer. Journ. of Physiol.* 71, 574, 1925; *Journ. of pharm. a. exper. therap.* 25, 168, 1925. — *O. Warburg, Klin. Wochenschr.* 12, 534, 1925; diese *Zeitschr.* 152, 309, 1924. — *O. Warburg und Minami, ebendasselbst* 142, 317, 1923. — *O. Warburg, Negelein und Posner, Klin. Wochenschr.* 24, 1062, 1924.

Über die Beeinflussung der Insulinwirkung durch Organextrakte, Ergotamin und Histamin.

Von

Fritz Silberstein und Siegfried Kessler.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Universität Wien.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Mit 11 Abbildungen im Text:

Die großen Erfolge des Insulins werden durch die Flüchtigkeit seiner Wirkung eingeschränkt. Dazu kommt, daß die durch das Insulin bedingte Blutzuckersenkung von einer Erhöhung des KH-Spiegels im Blute gefolgt ist. Diese wurde von *Abe, Jukujiro, Tscheboksaroff* und *Malkin, Poll, Canon, Mc Iver* und *Bliss* auf eine kompensatorische Adrenalinausschwemmung bezogen. Bei den Versuchen, inoperable Tumoren bei Menschen, sowie Impf- und Teertumoren bei Mäusen durch langdauernde Insulinbehandlung zu beeinflussen, machte sich dieses Verhalten störend bemerkbar. Wir haben daher nach einer Methode gesucht, um die Insulinwirkung zu verstärken, d. h. um sie zu verlängern und um die kompensatorische Steigerung des Sympathicus-tonus hintanzuhalten. Bei der bekannten engen Korrelation der Inkret-drüsen lag es nahe, zunächst die gegenseitige Beeinflussung der Inkrete zu prüfen. Als die am leichtesten und genauesten in wiederholten Untersuchungen bestimmbare Prüfung wurde die Blutzuckeranalyse gewählt.

Methodik.

Die Versuche wurden an Kaninchen von 1500 bis 2200 g vorgenommen, die bei der im Institut üblichen gemischten Ernährung eingestellt waren (Rüben, Blätter und Heu). 24 Stunden vor dem Versuch erfolgte die letzte Fütterung. Die Bestimmungen wurden mit der neueren Bangmethode unter Verwendung von Weisskölbehen vorgenommen. Es wurden selbstredend Doppelbestimmungen und die Versuche selbst immer an zwei Tieren gemacht. Einzelheiten sind aus der Übersichtstabelle, den Kurven und Versuchsbesprechungen zu entnehmen. Die in Kombination mit Insulin verwendeten Präparate wurden vorher allein geprüft, um zunächst ihre Wirkung auf den Blutzucker ohne Insulin festzulegen.

I. Hypophyse.

Hypophysis cerebri (pars anterior) „Sanabo“ bewirkt in unseren Versuchen nach einer vorübergehenden Blutzuckersteigerung einen Abfall der Kurve, der etwa 3 Stunden nach der Injektion den tiefsten Punkt erreicht, um dann ziemlich rasch wieder zum Ausgangswert zurückzukehren (Versuch 5 und 6). Hypophysis „Richter“ läßt die primäre Blutzuckersteigerung vermissen und bewirkt lediglich eine mäßige Hypoglykämie (Versuche 1 und 2). Pituisan „Sanabo“, ein Hinterlappenpräparat, erzeugt — übereinstimmend mit den Befunden, die *Burn*, *Zloczower* u. a. mit ähnlichen Präparaten erhoben haben — eine Steigerung des Blutzuckers, die zwar rasch zurückgeht, aber doch längere Zeit nachweisbar bleibt (Versuche 15 bis 20 einschließlich). In Kombination mit Insulin sehen wir nach Hypophysis „Sanabo“ eine zweifache Wirkung: Der Blutzucker sinkt oft nicht so tief,

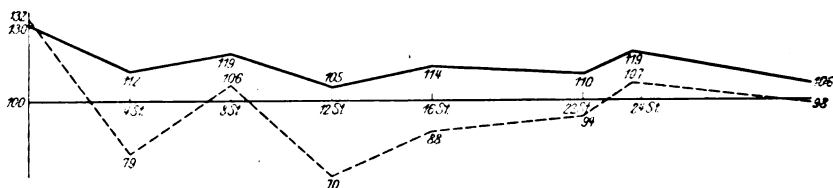


Abb. 1. 1,5 ccm Hypophysin „Sanabo“ + 1 Kanincheneinheit Insulin in vitro.

wie es der Insulinwirkung allein entspräche (Versuch 7). Dementsprechend kommt es auch nicht zu hypoglykämischen Erscheinungen (Versuche 7 bis 12 einschließlich). In manchen Fällen beobachtet man sogar eine geringe Blutzuckersteigerung (Versuche 12, 13, 14). Spritzt man während dieser Insulin nach, so treten nunmehr in ganz kurzer Zeit Krämpfe auf (Versuche 13, 14). Ferner sehen wir, daß die Insulinwirkung durch gleichzeitige Injektion dieses Präparats wesentlich protrahiert wird. Dies kommt in vielen Fällen darin zum Ausdruck, daß der Blutzucker durch lange Zeit — bis zu 30 Stunden nach der Insulininjektion — um ein deutlich erniedrigtes Niveau schwankt. In anderen Fällen ist die Senkung des Kohlehydrat-

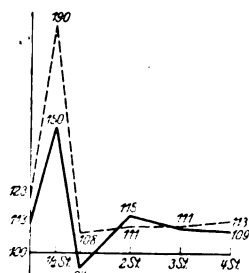


Abb. 2.
1,5 ccm Pituisan
+ 1 Kanincheneinheit Insulin
in vitro.

Pituisan + Insulininjektion bedingt eine plötzlichere Blutzuckersteigerung wie Pituisan allein. Diese geht aber rasch vorbei (Versuche 21 und 22, Kurve 2). Die Wirkung von Hypophysenextrakten auf den Blutzucker und ihr Einfluß auf die Insulinwirkung wurde bereits wiederholt geprüft. So fanden *Joachimoglu* und *Metz* bei gleichzeitiger Anwendung

von Insulin und Hypophysenextrakt eine antagonistische Beeinflussung der Insulinwirkung durch das Hypophysenpräparat. *Moelig* und *Ainslee* beobachteten Aufhebung der Insulinwirkung auf den Blutzucker durch Hypophysenhinterlappen. Den gleichen Antagonismus konstatierten auch *Burn*, *Voegtlin*, *Thompson* und *Dunn*, *Magenta* und *Biasotti*. *Lawrence* und *Hewlett* beobachteten gleichfalls Unterdrückung der Insulinwirkung durch Hypophysin und berichteten ferner, daß diese durch gleichzeitige Ergotamingabe aufgehoben werden kann.

Die von uns bei Verwendung von Hypophysis cerebri „Sanabo“ beobachtete Verlängerung der Insulinwirkung und vor allem das Ausbleiben der reaktiven Hyperglykämie ist — soweit uns die Literatur zugänglich war — nicht beschrieben worden.

II. Thyreoidea.

Thyreoidea „Richter“ allein erzeugt in Übereinstimmung mit älteren Erfahrungen in einem von zwei Versuchen eine leichte Blutzuckersteigerung (Versuche 23, 24 nicht ausgesprochen). In Kombination mit Insulin läßt sich eine eindeutige Beeinflussung der Wirkung des letzteren nicht feststellen (Versuche 25 und 26).

III. Parathyreoidea.

Parathyreoidea „Richter“: intravenöse Injektion beeinflußt den Blutzucker in den ersten Stunden nicht sonderlich. Bei häufigen Untersuchungen in kurzen Intervallen findet man Schwankungen, die nicht wesentlich nach oben oder unten gerichtet sind. Etwa 4 Stunden p. inj. beginnt manchmal der Zuckerspiegel herunterzugehen, erreicht um die 12. Stunde

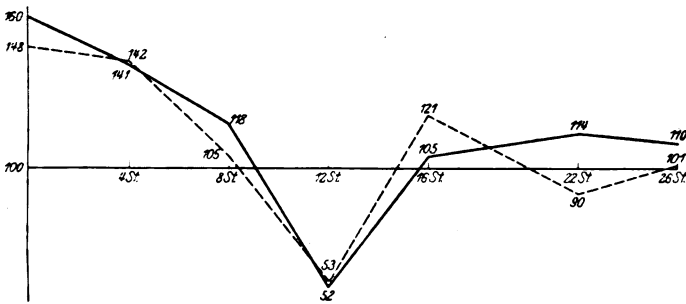


Abb. 3. 1.5ccm Parathyroidin „Richter“ + 1 Kanincheneinheit Insulin in vitro.

den niedrigsten Wert und steigt dann allmählich wieder zum Ausgangswert an (Versuche 27 bis 30 einschließlich, 33, 34). In Kombination mit Insulin kommt es zu einer protrahierten Blutzuckersenkung, die gleichfalls etwa nach 12 Stunden das Minimum erreicht, ohne daß es jedoch in unseren Versuchen zu Krämpfen gekommen wäre. Der dann einsetzende Blutzuckeranstieg überschreitet den Ausgangswert nicht (Versuche 35 und 36, Kurve 3). Parathyroidin „Sanabo“ hatte die gleiche Wirkung wie Parathyroidin Richter (Versuche 37, 38). *Winter* und *Smith*, *Forest* haben eine Verstärkung der Insulinwirkung durch Parathyroidin gefunden. *Lévai* und *Waldbauer* beobachteten Blutzuckersenkung ohne Krämpfe auf Parathyroidin allein, ferner Ausbleiben der Krämpfe trotz niedriger Blutzuckerwerte bei Kombination von Insulin + Parathyroidin.

IV. *Thymus, Testikel, Ovarium.*

Thymusextrakt „Richter“: Allein ohne konstante Wirkung auf den Blutzucker (Versuche 39, 40). In Kombination mit Insulin keine sichere Beeinflussung des hypoglykämischen Effekts (Versuche 41, 42).

Testikelextrakt „Richter“ bewirkte nach bald vorübergehendem leichtem Anstieg eine mäßige Senkung (Versuche 43, 44). In Kombination mit Insulin verdeckte er zunächst die Insulinwirkung. Der Blutzucker nahm in den ersten beiden Stunden nur ganz unwesentlich, später etwas stärker ab. Im ganzen kann man sagen, daß dieses Präparat die Insulinwirkung abschwächt (Versuche 45, 46).

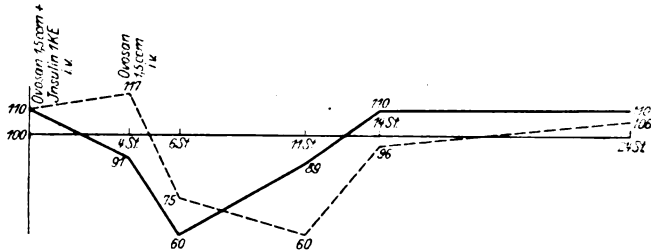


Abb. 4. Ovosan + Insulin.

Glanduovin „Richter“, ein Ovarialpräparat, allein macht eine plötzliche, ziemlich hochgradige Hyperglykämie (Versuche 47, 48). In Kombination mit Insulin wirkt es in einem Versuch im Sinne einer Protrahierung der Insulinwirkung (Versuch 49), im anderen bringt es einen akuten Absturz des Blutzuckers unter Krämpfen mit sich (Versuch 50).

Ovosan „Sanabo“ führt bei intravenösen Injektionen schon an sich zu einer mehr oder weniger langen und mehr oder minder starken Blutzuckersenkung (Versuche 51, 52). In Kombination mit Insulin protrahiert es dessen Wirkung (Versuche 53, 54). Spritzt man 4 Stunden nach einer kombinierten Injektion Insulin nach, so kommt es zu einer deutlichen Insulinwirkung, deren Intensität von individuellen Momenten (Ernährungszustand usw.) abhängt (Versuche 57 und 58). Gibt man 4 Stunden nach einer kombinierten Injektion Ovosan nach, so führt dieses keine wesentliche Beeinflussung der Blutzuckercurve herbei (Versuche 55 und 56, Kurve 4).

V. *Ergotamin und Histamin.*

Der Versuch, die Insulinwirkung durch Herabsetzung des Sympathicustonus zu verstärken und zu verlängern, schien aussichtsreich. Durch *Dales* u. a. Untersuchungen wissen wir, daß Ergotamin die erregenden sympathischen Impulse zu hemmen imstande ist. Der Antagonismus zwischen Adrenalin und Ergotamin, die Verstärkung der Depressorwirkung durch dasselbe (*Rothlin*) legten den Gedanken nahe, dieses in den Kreis unserer Untersuchungen zu ziehen. Da die primäre Wirkung des Ergotamins auf den Blutzucker zwar bereits verschiedentlich untersucht worden ist, die Ergebnisse aber widersprechend sind (*Burn, Lesser* und *Zipf, Rothlin* u. a.), haben wir zunächst das uns von der Firma Sandoz freundlichst zur Verfügung gestellte Präparat in dieser Richtung geprüft. *Rothlin* weist darauf hin, daß große Dosen davon nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ anders wirken als kleine. Wir haben daher auch in unseren Versuchen

verschieden große Gaben gespritzt. $\frac{1}{2}$ mg beeinflusst den Blutzucker zunächst nicht wesentlich. In den meisten Fällen kommt es zu einer leichten Depression der Werte, die nach 4 bis 5 Stunden reichlich ausgeglichen ist (Versuche 59, 60, 63, 64). Wiederholt man nach fünf Stunden die Injektion, so kommt es zu einer deutlichen Senkung der Zuckerwerte (Versuche 61 und 62, Kurve 5). Injektion großer Dosen, 5 bis 10 mg für 2000 g Kaninchen, wurde in unseren Versuchen ohne sichtliche Schädigung ertragen. Die Wirkung war nicht gleichmäßig. In dem einen Versuch zeigten beide Tiere leichte Blutzuckersenkungen (Versuche 67 und 68), in dem zweiten dagegen einen Anstieg der Reduktionswerte (Versuche 69 und 70). Auch bei Verwendung mittlerer Dosen (2,5 mg) kam es zu einem Blutzuckeranstieg

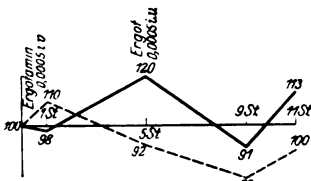


Abb. 5. Ergotamin.

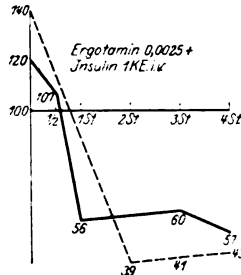


Abb. 6. Ergotamin + Insulin.

(Versuche 65 und 66). Wovon die Verschiedenheit der Wirkung abhängt, können wir nicht angeben. Im allgemeinen zeigt sich aber, daß kleine Ergotaminmengen eher depressorisch auf den Blutzucker wirken als mittlere und große. Diese führen manchmal zu einem leichten Anstieg der Blutzuckerkurve. In Kombination mit Insulin zeigte sich bei Verwendung kleiner und mittlerer Ergotamingaben eine verlängerte depressorische Wirkung (Versuche 75 und 76, Kurve 6). Große Ergotamingaben schwächten die Insulinwirkung ab (Versuche 77 und 78, Kurve 7), so daß es sogar zu

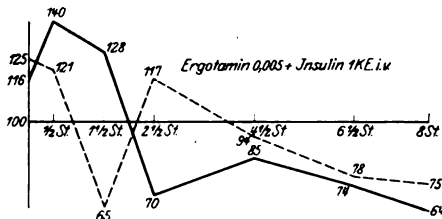


Abb. 7.

einem initialen Blutzuckeranstieg vor dem Abfall kam. Wurde 3 Stunden nach Einverleibung $\frac{1}{2}$ mg Ergotamins Insulin gespritzt, so kam es zu einer Blutzuckersenkung, die sehr lange anhielt (Versuche 81 und 82, Kurve 8). Noch deutlicher zeigt sich der Synergismus der beiden Präparate, wenn man zuerst Insulin oder Insulin + Ergotamin und 3 bis 4 Stunden nachher nochmals Ergotamin spritzte (Versuche 73 und 74, 83 und 84, Kurven 9 und 10).

Im Hinblick auf die bekannte Wirkung des Histamins auf das autonome Nervensystem wurden zum Schluß noch einige Versuche damit unternommen. Es zeigte sich hierbei, daß kleine Dosen nach rasch vorüber-

gehender Blutzuckersenkung zu einem, wenn auch nicht bedeutenden, so doch deutlichen und langdauernden Anstieg des KH-Spiegels führen

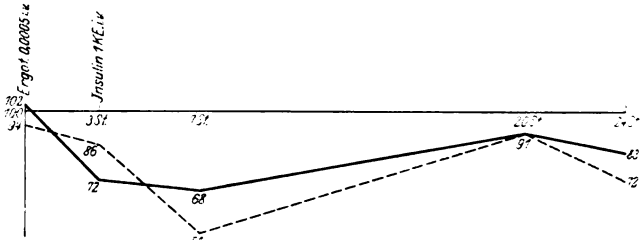


Abb. 8.

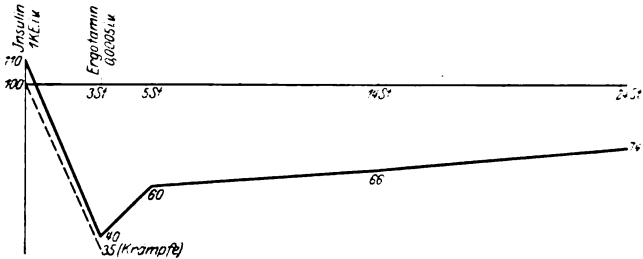


Abb. 9.

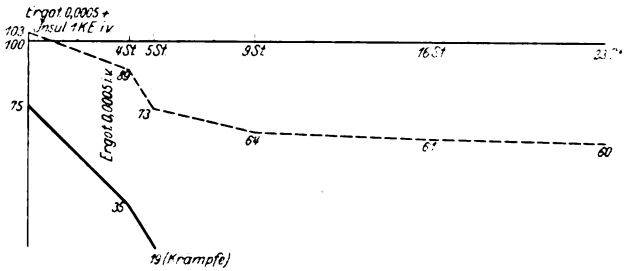


Abb. 10.

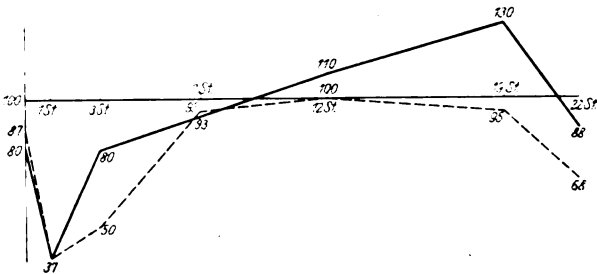


Abb. 11. Histamin + Insulin.

(Versuche 87 und 88). Größere Dosen, die nahe der tödlichen liegen, aber noch symptomlos vertragen werden, führen nach einiger Zeit (2 bis 3 Stunden)

zu einer mehrere Stunden anhaltenden Depression des Blutzuckerspiegels (Versuche 89 und 90). Kombiniert man eine derartige Dosis mit Insulin, so kommt es rasch zu Krämpfen, denen die Tiere erliegen, wenn nicht sogleich Traubenzucker infundiert wird. Dabei liegt der Zuckerspiegel noch weit über dem sonstigen Krampfniveau (Versuche 91 und 92). Kombiniert man Insulin mit kleinen Histamindosen, so sinkt der Blutzucker sehr stark, ohne daß es bei diesem tiefen Niveau zu hypoglykämischen Erscheinungen käme (Versuche 93 und 94, Kurve 11).

Diskussion.

Überblicken wir die angeführten Versuche, so sehen wir, daß von den verschiedenen Hormonpräparaten lediglich Parathyreoidin, Hypophysin und Ovosan die Insulinwirkung verstärken. Dabei wirkt das Nebenschilddrüsenpräparat nicht in dem Sinne, daß es die Depression der Blutzuckerwerte verstärkt, sondern dadurch, daß es die kompensatorische Hyperglykämie hintanhält und den Wiederanstieg der Reduktionswerte des Blutes verzögert. Die gleichen Ergebnisse erzielten wir mit Hypophysin.

Da Parathyreoidin allein sogar eine Blutzuckersteigerung hervorrufen kann, Hypophysin (Sanabo) allein auf den Blutzucker nicht eindeutig und jedenfalls nur unbedeutend und vorübergehend wirkt, kann man die langdauernde Veränderung des Blutzuckerspiegels in den Kombinationsversuchen (Insulin + Hypophysin bzw. Parathyreoidin) nicht als einfache Summationswirkung auffassen. Anders dürfte die Ovosanwirkung zu werten sein. Dieses ruft schon allein eine Depression des Blutzuckerspiegels hervor, trotzdem ist die Insulinwirkung nicht vertieft, sondern nur verlängert.

Ganz ähnlich der Wirkung dieser Inkrete ist die des Ergotamins. Es kommt bei gleichzeitiger Injektion mit Insulin nicht zu einer Addition der Wirkungen im Sinne einer verstärkten Depression der Zuckerwerte, sondern zu einer Verlängerung der Blutzuckersenkung. Dieses Verhalten bestätigt die Annahme, daß das Ergotamin als ein proteinogenes Amin aufzufassen ist, das den Stoffwechsel wie ein Inkret beeinflußt. Kombiniert man Insulin mit Histamin, so kommt es zu einer Verstärkung der blutzuckersenkenden Insulinwirkung, ohne daß diese jedoch merklich verlängert würde.

Zusammenfassung.

Parathyreoidin, Hypophysin, Ovosan (Sanabo), sowie Ergotamin (Sandoz) protrahieren die Insulinwirkung, trotzdem die Intensität der Blutzuckersenkung durch Hypophysin und Ovosan gewöhnlich abgeschwächt wird. Histamin verstärkt in entsprechender Dosis die Insulinwirkung, ohne sie zu verlängern.

Nr.	Injiziertes Präparat	Nüchtern					
		nach 1/2	1	2	3	4	5 6
1	Hypophysin „Richter“,	100	82	106	99		
2	1,5 ccm i. v.	124	105	95	100		
3	Dasselbe	140	75	45	28	126	103
4	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	87	60	53	69	102	53
5	Hypophysin „Sanabo“,	115	117	140	110	81	117
6	1,5 ccm i. v.	101	130	122	140	85	100
7	Dasselbe	123	103	96	82	95	89
8	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	150	143	96	59	67	81
9	Dasselbe	132	—	—	—	—	112
10	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	130	—	—	—	—	79
11	Wie 9, 10	102	—	—	—	—	96
12	Wie 9, 10	93	—	—	—	—	100
13	Wie 9, 10	113	—	—	—	—	122 ³⁾
14	Wie 9, 10	100	—	—	—	—	110 ²⁾
15	Pituisan „Sanabo“,	133	220	150	140	150	
16	1,5 ccm i. v.	150	180	140	130	140	
17	Dasselbe	134	200	169	170	159	
18	Dasselbe	140	200	177			
19	Dasselbe, subkutan	132	171	128	140	132	
20	Dasselbe	140	150	134	145	128	
21	Dasselbe	113	150	94	115	111	109
22	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	123	190	108	111	110	113
23	Thyreoid. „Richter“,	100	—	121	86		
24	1,5 ccm i. v.	108	—	101	105		
25	Dasselbe	93	56	98	53	46 Kr.	
26	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	114	100	50	82	60	98
27	Parathyr. „Richter“,	127	107	118	128	124	
28	1,5 ccm i. v.	119	150	130	125	140	
29	Dasselbe	96	98	160	130	120	136
30	Dasselbe	100	98	110	130	110	130
31	Dasselbe	92	109	42	58	77	84
32	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	99	59	46	43	54	54
33	Wie 27, 28	148	—	—	—	—	143
34	Wie 27, 28	126	—	—	—	—	148
35	Wie 31, 32	160	—	—	—	—	141
36	Wie 31, 32	148	—	—	—	—	142
37	Parathyr. „Sanabo“	94	—	—	—	—	62
38	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	105	—	—	—	—	69
39	Thymus „Richter“,	117	121	116			
40	1,5 ccm i. v.	108	101	115			
41	Dasselbe	103	62	91 Kr.			
42	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	82	57	21	57	20	103
43	Testikelextr. „Richter“,	64	84	57	50	41	
44	1,5 ccm i. v.	69	98	75	64	60	
45	Dasselbe	80	—	69	67	44	69
46	+ Insulin, 1 K.-E.i. v.	74	—	66	63	61	64
47	Glanduovin. „Richter“,	92	169	170	170	95	
48	1,5 ccm i. v.	123	—	177	141	131	

												Anmerkungen
9	10	11	12	14	16	19	20	22	24	26	31 St.	
—	—	—	105	—	114	—	—	110	119	—	106	Siehe Kurve 1 1) Neuerlich Hypophysin „Sanabo“, 1,5 ccm i. v. 2) Neuerl. Insulin, 1 K.-E. i. v.
—	—	—	70	—	88	—	—	94	107	—	98	
—	98 ₁)	—	114	—	112	—	—	—	—	130	88	
—	73 ₁)	—	86	—	105	—	—	—	—	107	108	
auf Krämpfe												
—	—	—	91	—	125	—	—	—	103	—	115	Siehe Kurve 3. 3) Neuerl. Parathyr. „Sanabo“, 1,5 ccm i. v.
—	—	—	105	—	129	—	—	—	118	—	125	
—	—	—	52	—	105	—	—	114	—	110	—	
—	—	—	53	—	121	—	—	90	—	101	—	
—	75 ₃)	—	55	—	70	—	—	—	—	59	63	
—	91 ₃)	—	73	—	86	—	—	—	—	95	—	

Nr.	Injiziertes Präparat								
		nüchtern	nach 1/2	1	2	3	4	5	6
49	Dasselbe	140	108	97	87	94	108		
50	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	148	23 Kr.						
51	Ovsan „Sanabo“,	121					85		
52	1,5 ccm i. v.	107					96		
53	Dasselbe	106					66		
54	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	101					61		
57	Wie 53, 54	100					69 ¹⁾	bald darauf	
58		84					69 ¹⁾		
55	Wie 53, 54	110					91 ²⁾		60
56		110					117 ²⁾		75
59	Ergotamin,	100	94	92			100		
60	0,0005 ccm i. v.	96	90	91			104		
61	Dasselbe	100		98				120 ³⁾	
62		100		110				92 ³⁾	
63	Dasselbe	102			72				
64		94			86				
65	Ergotamin,	67	81	77	67	70			
66	0,0025 ccm i. v.	63		68	96				
67	Ergotamin,	100	92	108	102	95	85		
68	0,005 ccm i. v.	103		96	80	91			
69	Ergotamin,	110	130	105	110	128			
70	0,01 ccm i. v.	120	123	130	120	127	110		
71	Ergotamin, 0,0005 ccm	77					57 ⁴⁾		28 Kr.
72	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	84					72 ⁴⁾		39
73	Wie 71, 72	103					89 ⁵⁾	73	
74		75					35 ⁵⁾	19 Kr.	
75	Ergotamin, 0,0025 ccm	140			39	41	43		
76	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	120	107	56		60	51		
77	Ergotamin, 0,005 ccm	116	140	128			70	85	76
78	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	125	121	65			117	94	78
79	Wie 77, 78	137						117	
80		126						102	
81	Ergotamin,	102				72 ⁶⁾			
82	0,0005 ccm i. v.	94				86 ⁶⁾			
83	Insulin, 1 K.-E. i. v.	110				40 ⁷⁾		60	
84		100				35 Kr.			
85	Dasselbe	108				68 ⁸⁾		68	
86		102				46 ⁸⁾		56	
87	Histamin, 0,0001 ccm	108	91	125		128			105
88	i. v.	90	81	130		135			110
89	Histamin, 0,000 25 ccm	100		120		68		78	
90	i. v.	90		90		68		61	
91	Wie 89, 90	110	87		30 Kr.				
92	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	Versuchstier sofort tot							
93	Histamin, 0,0001 ccm	80		37		80			
94	+ Insulin, 1 K.-E. i. v.	87		37		80			

Literatur.

- 1) *Abe Jukujiro*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **103**, 73, 1924. —
- 2) *Burn*, Journ. of Phys. **57**, 318, 1923. — 3) *Cannon, Mc Iver* und *Bliss*, Amer. Journ. physiol., 1923 S. 65. — 4) *Dale*, Journ. of Phys. **34**, 163, 1906. —
- 5) *Forest*, Brit. med. Journ. **2**, 917, 1923. — 6) *Joachimoglu* und *Metz*, Deutsch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 51, S. 1787. — 7) *Lawrence* und *Hewlett*, Brit. med. Journ., 3361/998, 1925. — 8) *Lesser* und *Zipf*, diese Zeitschr. **140**. 612, 1923. — 9) *Lévai* und *Waldbauer*, Deutsch. med. Wochenschrift 1926, S. 101. — 10) *Magenta* und *Biasotti*, C. r. soc. Biol. **89**, 1125, 1923. — 11) *Moelig* und *Ainslee*, Journ. of A. m. A. **84**, 1398, 1925. — 12) *Poll*, Med. Klin. 1925, S. 1713. — 13) *Rothlin*, Klin. Wochenschr. **4**, Nr. 30, S. 1437, 1925. — 14) *Derselbe*, Arch. internat. de pharmacodyn. et de thérap. **27**, 459, 1923. — 15) *Tscheboksaroff* und *Malkin*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **47**, 580, 1925. — 16) *Voegtlin, Thompson* und *Dunn*, Journ. of Pharm. and exper. Therap. **25**. 937, 1925. — 17) *Winter* und *Smith*, Brit. med. Journ. **58**, 108, 1923.

**Bestehen Beziehungen
zwischen Isoagglutination und Beschleunigung
der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit?**

Von
Wilhelm Schloss.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der
Universität und der chirurgischen Abteilung des Rothschildspitals in Wien.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Seit den grundlegenden Ergebnissen von *Fahraeus* sind die Ursachen der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) in einer großen Reihe von Arbeiten Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen.

Im allgemeinen kommen die Autoren zu dem Schlusse, daß die Ursache der beschleunigten BSG in einer *Agglutination* der Blutkörperchen (Bk) gelegen sei. Diese wird zum Teil auf physikalisch-chemische Veränderungen an der Bk-Oberfläche und im Plasma zurückgeführt, zum Teil auf die Lipide, zum Teil auf den verschiedenen Fibrinogengehalt bezogen.

Die große, praktische Bedeutung, welche den *Isoagglutininen* im menschlichen Blute zukommt, läßt es begreiflich erscheinen, daß nach Beziehungen gefahndet wird, welche zwischen gruppenspezifischer Substanz und anderen Eigentümlichkeiten des Blutes bestehen.

Die Frage nach Beziehungen zwischen der BSG und der Isohämagglutination (IH) wurde, soweit uns die Literatur zugänglich, lediglich von *Richter* im Institut *Verzars* aufgeworfen. Dieser Autor kommt zu dem Schluß, daß zwischen der IH und der BSG kein Zusammenhang bestünde, da er feststellen konnte, daß in jeder IH-Gruppe verschiedene BSG vorkommen.

Uns schien es zunächst interessant, folgende Fragen aufzuwerfen: Läßt sich die BSG beeinflussen durch Zusätze kleiner Mengen verschiedener Sera und bestehen Beziehungen zwischen dieser Beeinflussung und der Gruppenzugehörigkeit der Bk und der Sera?

Mit Rücksicht auf die allgemeine Auffassung von der Bedeutung der Bk-Agglutination für die BSG schien die Beantwortung dieser Frage um so wichtiger, als eine Agglutination von Bk im eigenen Plasma allen Vorstellungen, die wir über derartige Phänomene uns gemacht haben, zuwiderläuft.

Methodik.

Bei unseren Versuchen gingen wir folgendermaßen vor: Wir entnahmen von Patienten und gesunden Versuchspersonen nach Bestimmung ihrer Gruppenzugehörigkeit Blut, das einerseits in Citrat nach Vorschrift von *Westergreen*, andererseits, zwecks Serumgewinnung, in sterilen trockenen Eprovetten aufgefangen wurde. Es wurde nun die BSG der Blute allein bestimmt, sowie nach Zusatz von einem Zehntel Volumen Eigenserums, bzw. Serums der eigenen Gruppe, bzw. Serums anderer Gruppen.

In den Ableesungen hielten wir uns an die Vorschriften von *Westergreen*. Die Geschwindigkeiten, welche wir nach dem Zusatz der einzelnen Sera beobachteten, wurden verglichen mit der BSG des unveränderten Blutes. Es bedeutet daher in den nachstehend angeführten Tabellen Beschleunigung, bzw. Gleichbleiben, bzw. Verlangsamung: Die BSG des mit dem betreffenden Serum versetzten Blutes, bezogen auf die beim Blute allein nach der Methode von *Westergreen* erzielten Senkungswerte.

Wir haben 390 Versuche an 66 Personen durchgeführt. (Wiederholungs- und Kontrollversuche sind in den Tabellen nicht angeführt.)

Tabelle I gibt eine Übersicht über die Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit (SG) der Bk der vier Gruppen durch obenerwähnte Zusätze verschiedener Sera.

Es zeigt sich hierbei, daß durch Zusatz des gruppengleichen Serums es in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zu einer Beschleunigung der BSG kommt. Diese ist besonders deutlich bei Gruppe I (86 Proz.), während Gruppe II nur unwesentlich mehr Beschleunigungen als Verlangsamungen in dieser Versuchsanordnung zeigt. Abstrahiert man von diesen, bei Zusätzen gruppengleichen Serums erzielten Ergebnissen, so sieht man, daß im allgemeinen die Verlangsamungen überwiegen. Dies geht beinahe noch deutlicher aus der nächsten Tabelle hervor, welche nach Seris der einzelnen Gruppen geordnet ist und deren Einfluß auf die SG zeigt. Hier fällt neben der beschleunigenden Wirkung der gruppengleichen Sera auf, daß bei den Seris der I., II. und III. Gruppe die hemmende Wirkung weitaus überwiegt, während bei Gruppe IV Beschleunigung und Hemmung gleich groß ist.

Tabellen III und IV zeigen die Beeinflussung von Bk durch sie agglutinierende bzw. nicht agglutinierende (nicht gruppengleiche) Sera. Das Verhältnis von Beschleunigung und Verlangsamung bei den agglutinierenden Seris ist 14 : 26, bei den nicht agglutinierenden 4 : 19.

Betrachten wir noch die Tabellen V und VI, so geht daraus hervor, daß der Zusatz von nicht agglutinierenden, nicht gruppengleichen Seris in der Mehrzahl der Fälle Verlangsamung der BSG bedingt (17 : 4). Bei den Seris, die die Agglutination der Bk bewirken, ist zwar auch häufig Verlangsamung zu finden, doch lediglich in etwas über 50 Proz. der untersuchten Fälle.

Der Isoagglutiningehalt der von uns geprüften Sera war immer so niedrig, daß in der Verdünnung 1 : 10, in der die Sera zur Wirkung kam, eine Ausflockung nicht in Frage kam. Wenn also eine Beeinflussung der SG

stattgefunden hat, so war sie jedenfalls nicht auf eine durch den Serumzusatz erfolgte wahrnehmbare Agglutination zu beziehen. Damit steht im Einklang, daß die überwiegende Anzahl von Beschleunigungen durch Zusatz gruppengleicher erfolgte. Worauf dies zurückzuführen ist, läßt sich weder auf Grund unserer Versuche, noch auf Grund der in der Literatur festgelegten Tatsachen erklären.

Aus diesen Versuchen geht also hervor:

1. daß der Zusatz von Seris verschiedener Gruppenzugehörigkeit die BSG verändert;

2. daß der Zusatz der artgleichen Gruppe im allgemeinen Beschleunigung der BSG bewirkt.

3. Aus 2 geht hervor, daß die beschleunigte BSG nicht auf die IH zu beziehen ist.

4. Zusatz gruppenfremder Sera zu Bk-Suspensionen bewirkt in der Mehrzahl der Fälle Verlangsamung der BSG.

5. Nur bei den Seris der vierten Gruppe überwiegt die Verlangsamung nicht über die Beschleunigung. Es ist immerhin nicht ausgeschlossen, daß dieses Verhalten mit dem Vorhandensein beider Isoagglutinine in den Seris dieser Gruppe zusammenhängt.

Tabelle I.

Verhalten der Bk auf Einwirkung der Sera.

Gruppe	Beschleunigung	Gleich	Verlangsamung	Zusammen	
Blut I.	Serum 1	6 (86 Proz.)	—	1 (14 Proz.)	7
	Serum 2	—	—	5	5
	" 3	1	—	2	3
	" 4	4	1	3	8
Blut II.	Serum 1	—	1	4	5
	Serum 2	10 (38 Proz.)	6 (31 Proz.)	6 (31 Proz.)	22
	Serum 3	—	3	5	8
	" 4	4	3	3	10
Blut III.	Serum 1	1	1	1	3
	" 2	3	1	4	8
	Serum 3	10 (83 Proz.)	2 (17 Proz.)	—	12
	Serum 4	2	3	4	9
Blut IV.	Serum 1	—	—	6	6
	" 2	1	5	3	9
	" 3	2	4	5	11
	Serum 4	17 (73 Proz.)	2 (9 Proz.)	4 (18 Proz.)	23

Tabelle II.

Einwirkung der Sera auf Bk.

		Beschleunigung	Gleichbleiben	Verlangsamung	Zusammen
Serum 1	Bk. I	6	—	1	7
	" II	1	—	4	5
	" III	1	1	1	3
	" IV	—	—	6	6
Serum 2	Bk. I	—	—	5	5
	" II	10	6	6	22
	" III	3	1	4	8
	" IV	1	5	3	9
Serum 3	Bk. I	1	—	2	3
	" II	—	3	5	8
	" III	10	2	—	12
	" IV	1	5	3	9
Serum 4	Bk. I	4	1	3	8
	" II	4	3	3	10
	" III	2	3	4	9
	" IV	17	2	4	23

Tabelle III.

Verhalten der Bk auf Einwirkung der sie *agglutinierenden* Sera.

		Beschleunigung	Gleichbleiben	Verlangsamung
Bk. I	{ Serum 2 " 3 " 4 }	5	1	10
Bk. II	{ Serum 3 " 4 }	4	6	8
Bk. III	{ Serum 2 " 4 }	5	3	8
Bk. IV	—	—	—	—
Zusammen:		14	10	26

Tabelle IV.

Verhalten der Bk auf Einwirkung der sie *nicht agglutinierenden* Sera¹⁾.

		Beschleunigung	Gleichbleiben	Verlangsamung
Bk. I	—	—	—	—
" II	Serum 1	—	1	4
" III	" 1	1	1	1
Bk. IV	{ Serum 1 " 2 " 3 }	3	9	14
Zusammen:		4	11	19

¹⁾ Gruppengleich wurde nicht aufgenommen.

Tabelle V.

Einwirkung der Sera auf Bk die sie agglutinieren.

	Beschleunigung	Gleichbleiben	Verlangsamung
Serum 1	—	—	—
Serum 2 { Bk. I " III	3	1	9
Serum 3 { Bk. I " II	1	3	7
Serum 4 { Bk. I " II " III	10	7	10
Zusammen:	14	11	26

Tabelle VI.

Einwirkung der Sera auf BK, die sie nicht agglutinieren¹⁾.

	Beschleunigung	Gleichbleiben	Verlangsamung
Serum 1 { Bk. II " III " IV	2	1	11
Serum 2 Bk. IV	1	5	3
" 3 " IV	1	5	3
" 4 —	—	—	—
Zusammen:	4	11	17

Literatur.

Berczeller, diese Zeitschr. 149, 592, 1924; Pflügers Arch. 208. — Berczeller und Wastl, diese Zeitschr. 142, 524, 1923; 148, 236, 1923; 146, 370, 1924; 158, 100 u. 111, 1924. — Brinkmann und Wastl, ebendasselbst 124, 25, 1921. — Colland, ebendasselbst 166, 431, 1925. — Fchraeus, ebendasselbst 89, 355, 1918; Ber. ü. d. ges. Phys. 2. — Györqy, diese Zeitschr. 115, 71, 1921. — Hollo und Lax, ebendasselbst 139, 482, 1923. — Kürtens, Pflügers Arch. 185. — Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1903. — Linzenmeier, Pflügers Arch. 181, 186. — Neergard, Klin. Wochenschr. 1925, S. 689. — Oettingen, diese Zeitschr. 118, 67, 1921. — Richter, ebendasselbst 141, 28, 1923. — Runnström, ebendasselbst 123, 1, 1921. — Sachs, Münch. med. Wochenschr. 12. — Sadlon, Klin. Wochenschr. 1922. — Sauer, diese Zeitschr. 168, 335, 1926. — Seki, ebendasselbst 143, 365, 1923. — Starlinger, ebendasselbst 114, 129, 1921; 122, 105, 1921. — Verzar, Klin. Wochenschr. 1922. — Vorschütz, Zeitschr. f. klin. Med. 94, 96. — Westergreen, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 27. — Weszeczky, diese Zeitschr. 107, 159, 1920.

¹⁾ Gruppengleich wurde nicht aufgenommen.

Über einige Wirkungen der Alkyl-Resorcincarbonsäuren und ihre Abhängigkeit von der Konstitution der Alkyl-Seitenkette.

Von

L. Bleyer.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Basel.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Bei der Prüfung verschiedener biologischer Wirkungen *des Na-Salzes der Hexylresorcincarbonsäure* wurde die Beobachtung gemacht, daß sich dichte Aufschwemmungen von *Kolibakterien* nach Zusatz des Präparats *rasch aufhellen* und bei genügend starker Konzentration *fast völlig klar und durchsichtig* werden, während *Staphylokokkensuspensionen* keine Änderung ihres optischen Verhaltens erfahren. *Kolibakterien* sind *gramnegativ*, *Staphylokokken* ausgesprochen *grampositiv*, und es lag daher nahe, zunächst zu prüfen, ob zwischen Gramfärbbarkeit und Auflösbarkeit eine gesetzmäßige Beziehung besteht oder nicht. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Arten gramnegativer Bakterien sowie grampositiver Bakterien und Hefen auf Schrägagar gezüchtet, die gewonnenen Kulturen mit 0,85 proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und die derart hergestellten Aufschwemmungen zu gleichen Teilen mit fallenden Konzentrationen von hexylresorcincarbonsaurem Na versetzt. Das Ergebnis dieser Versuche ist aus der nachstehenden Tabelle I zu entnehmen; die Prozentzahlen geben an, wieviel von dem genannten Präparat dem Gewicht nach im Reaktionsvolumen enthalten war; das Zeichen ++ bedeutet fast völlige Klärung der Suspension, + partielle Aufhellung, — Ausbleiben einer makroskopisch wahrnehmbaren optischen Veränderung des betreffenden Reaktionsgemisches.

Die *fixen Gewebszellen der Säugetierorgane* sind bekanntlich ebenfalls gramnegativ; dementsprechend wurden z. B. dichte Aufschwemmungen von Meerschweinchenleberzellen schon durch 0,5 Proz. hexylresorcincarbonsaures Na in kurzer Zeit völlig transparent. Dagegen

Tabelle I.

Art der Mikroorganismen	Endkonzentration des hexylresorcincarbonsauren Na					
	5proz.	3proz.	2proz.	1proz.	0,5proz.	0,2proz.
<i>A. Grampositive Arten:</i>						
Staphylococcus aureus	—					
Pneumococcus	—					
Sarcina tetrag.	—					
Bac. diphtheriae	—					
Bac. tubercul.	—					
Bac. megatherium	—					
Bac. mycoides	—					
Bac. anthracis	—					
Bierhefe	—					
<i>B. Gramnegative Arten:</i>						
Bac. coli	++	++	+	+	—	—
Bac. dysenteriae	++	++	++	++	+	—
Bac. typhi	++	++	++	++	+	—
Bac. proteus	++	++	++	++	+	—
Bact. prodigiosum	++	++	+	+	—	—
Bac. pneumoniae	++	++	++	++	—	—
Bac. pyocyaneus	++	++	++	++	++	—
Bac. pseudotuberc.	++	++	++	++	—	—
Bact. suicida	++	++	++	+	—	—
Vibrio cholerae	++	++	++	++	+	—

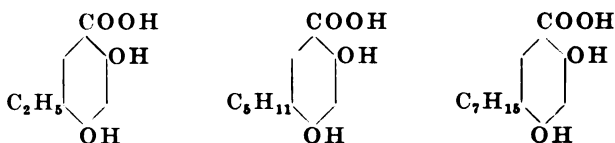
widerstehen die *grampositiven Wurzelscheiden der Haare* der auflösenden Wirkung des Präparats, wie man sich an Gefrierschnitten durch die menschliche Kopfhaut überzeugen kann.

Deckfarbige Suspensionen von *roten Blutkörperchen* werden lackfarbig; für eine vollständige Hämolyse sind weit niedrigere Konzentrationen des Präparats erforderlich als für die komplette Aufhellung gramnegativer Bakterienaufschwemmungen; im ersten Falle genügen 0,05 Gewichtsproz., im zweiten sieht man unter 1 Proz. meist überhaupt keine deutliche Wirkung. Die Erythrocyten verschiedener Tierspezies sind nicht gleich empfindlich; Hammelblutkörperchen erwiesen sich etwas resistenter als Meerschweinchenerythrocyten. Niedere Konzentrationen des hexylresorcincarbonsauren Na bewirken *einen einfachen Austritt des Hb aus dem Stroma*; stärkere Konzentrationen verändern insbesondere bei längerer Einwirkungsdauer den Blutfarbstoff, indem die lebhaft rubinroten Lösungen eine bräunliche Farbe annehmen.

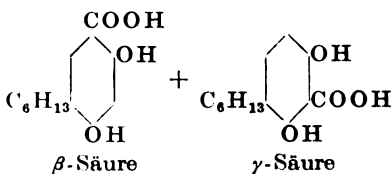
Die Sache liegt somit in der Tat so, daß eine 2- bis 3proz. Lösung von hexylresorcincarbonsaurem Na geradezu als Reagens auf die Grampositivität bzw. Gramnegativität einer beliebigen Zellart betrachtet werden darf. Die 10proz. Lösung des Präparats zeigte bei elektrometrischer und kolorimetrischer Bestimmung einen p_H -Wert von 7,22, war also „neutral“; eine Laugenwirkung kam daher als Ursache des hier be-

beschriebenen Phänomens nicht in Betracht. Diese Feststellung erschien mit Rücksicht auf eine Angabe von *Deussen*¹⁾ wichtig, derzufolge sich nach Versuchen von *Kruse* nur gramnegative, aber nicht grampositive Bakterienspezies in 1proz. Kalilauge auflösen; das von uns verwendete Na-Salz wurde durch Absättigung der Hexylresorcincarbonensäure mit Natronlauge gewonnen, und man mußte daher jedenfalls daran denken, daß dem Salze noch erheblichere Laugenreste anhaften könnten. Da sich dieser Verdacht nicht bestätigte, war der Schluß gerechtfertigt, daß das Lösungsvermögen des hexylresorcincarbon-sauren Na für gramnegative Zellelemente von seiner chemischen Konstitution bzw. von einer durch die chemische Konstitution bedingten physikalischen Eigenschaft abhängen dürfte.

Vorversuche ergaben, daß weder das Resorcin noch das resorcincarbon-saure Na gramnegative Bakterien auflösen, selbst wenn man hohe Konzentrationen dieser Stoffe auf die Mikroben einwirken läßt; die chemische Grundlage des lytischen Vermögens konnte daher nur in das Alkyl oder richtiger in die Beeinflussung des Resorcincarbon-säuremoleküls durch die eingeführte Alkylgruppe verlegt werden. Von einer Variierung dieses Faktors waren demnach weitere Aufschlüsse zu erwarten. Die Firma *Hoffmann-Laroche in Basel*, der wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen möchten, erklärte sich in zuvorkommendster Weise bereit, einige homologe Alkylresorcincarbon-säuren herzustellen, und zwar



d. h. Äthyl-, Isoamyl- und Heptylresorcincarbon-säure, welche die Carboxylgruppe sämtlich in β -Stellung enthielten. Die Hexylsäure, mit welcher die ersten Experimente angestellt wurden, war ein Gemisch der isomeren β - und γ -Verbindung:



Wir waren aber später in der Lage, mit reiner β -Hexylresorcincarbon-säure zu arbeiten, und konnten uns überzeugen, daß ihre lösenden Eigenschaften weder qualitativ noch quantitativ von jenen des β - + γ -Gemisches differierten.

¹⁾ Zentralbl. f. Bakt., Orig. 85, 272, 1918.

Aus den Säuren wurden die Na-Salze hergestellt, in verschiedenen Konzentrationen (nach Gewichtsprozenten) in Wasser gelöst und ihr Lösungsvermögen für dichte Suspensionen von *Dysenteriebazillen* sowie für 5 Proz. Aufschwemmungen von gewaschenen *Hammelblutkörperchen* geprüft.

Tabelle II.

Auflösende Wirkung der Na-Salze homologer Alkylresorcincarbonsäuren auf Shigasche Dysenteriebazillen (Abschwemmungen 24stündiger Schrägagarkulturen).

Na-Salz der	5 Proz.	2,5 Proz.	1,2 Proz.	0,6 Proz.	0,3 Proz.	0,15 Proz.
Äthyl- Isoamyl- n-Hexyl- Heptyl- } Resorcin- } carbonsäure	— — ++ +++	— — ++ +++	— — + ++	— — — ++	— — — +	— — — —

Tabelle III.

Hämolytische Wirkung für Hammelerythrocyten.

Na-Salz der	2 Proz.	1 Proz.	0,5 Proz.	0,2 Proz.	0,1 Proz.	0,05 Proz.	0,02 Proz.	0,01 Proz.	0,005 Proz.
Äthylsäure	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Isoamylsäure	c	c	c	c	p	—	—	—	—
n-Hexylsäure	c	c	c	c	c	c	—	—	—
Heptylsäure	c	c	c	c	c	c	c	p	—

Tabelle II lehrt, daß weder die Äthyl- noch die Amylverbindung (in den geprüften Konzentrationen) gramnegative Bakterien löste, sondern daß dieser Effekt *erst beim Hexyl* zu beobachten war und *im Heptyl* eine deutliche Steigerung erfuhr. Heptyl löste die gleichen Bakteriensuspensionen nicht nur in höheren Verdünnungen als die Hexylverbindung, sondern wirkte auch intensiver, indem sich durch die stärkeren Konzentrationen (2,5 bis 5 Proz.) eine bis zu *völliger* Klarheit fortschreitende Aufhellung erzielen ließ, während die mit dem Hexylpräparat angesetzten Gemische auch nach längerem Stehen noch immer leicht getrübt bis opaleszent blieben.

Entsprechend der bereits hervorgehobenen geringeren Resistenz der roten Blutzellen trat die *hämolytische* Wirkung (Tabelle III) schon bei der Isoamylsäure auf und stieg dann mit der Verlängerung der Kohlenstoffkette der Alkylgruppe kontinuierlich an. Vermutlich ist im Heptyl noch nicht das Maximum der zelllösenden Kraft erreicht; wir hatten aber vorläufig kein dringendes Interesse, dieses Maximum durch Synthese von Octyl, Nonyl-, Decylverbindungen usw. zu ermitteln und festzustellen, von welchem Gliede der homologen Reihe an die cytolytische Fähigkeit wieder abnimmt.

In mancher Beziehung erinnern diese cytolytischen Effekte der Na-Salze der Alkylresorcincarbonsäuren an die vor 10 Jahren von *C. Neuberg* (diese Zeitschr. 76, 107, 1916) beschriebenen „*hydrotropischen Erscheinungen*“. *Neuberg* verstand darunter die Tatsache, daß die wässerigen Lösungen zahlreicher Salze die Fähigkeit besitzen, wasserunlösliche Substanzen in wässrige Lösung überzuführen. Unter den zahlreichen Beispielen „*hydrotropischer*“ Phänomene führt *Neuberg* u. a. auch an, daß frisch bereiteter, leicht getrübtter Hefemazerationsaft durch *Natriumbenzoatlösung* spiegelklar, und daß Typhus-Impfstoff „aufgehellt“ wird; überdies verweist er auf die Löslichkeit von Eiweißkörpern in *Harnstoff*, die schon *K. Spiro* (Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 1900) festgestellt hatte. *Neuberg* hält es selbst nicht für wahrscheinlich, daß alle von ihm unter der gemeinsamen Bezeichnung „Hydrotropie“ subsumierten Lösungserscheinungen eine gemeinsame Ursache haben; die Frage, ob unsere Beobachtungen Hydrotropien sind oder nicht, läßt sich daher einstweilen nicht vom Standpunkt eines exakt bestimmbareren Begriffes, sondern nur phänomenologisch diskutieren. Auf die Analogien und Differenzen zwischen hydrotropischen Erscheinungen und den Wirkungen der Na-Salze der Alkylresorcincarbonsäuren soll in einer folgenden Mitteilung genauer eingegangen werden. Vorläufig sei bemerkt: 1. daß *Neuberg* sehr hohe Konzentrationen seiner hydrotropisierenden Salze anwenden mußte, während die hier studierten Alkylverbindungen, namentlich die höheren Homologen schon in 0,3- bis 1proz. Lösung wirkten; 2. daß wir nicht imstande waren, *Shigasche Dysenteriebazillen* in Harnstoff oder *Natriumbenzoat* (einem von *Neuberg* als besonders lösungsbefördernd bezeichneten Salze) zu lösen, auch wenn wir mit den Konzentrationen bis auf 25 bzw. 15 Gewichtsprozent heraufgingen, und daß wir auch nie einen Unterschied im Verhalten grampositiver und gramnegativer Bakterien konstatierten.

Angaben über die Abhängigkeit biologischer Wirkungen von der Kohlenstoffzahl homologer Verbindungen existieren ebenfalls in der Literatur. So findet sich bei *Braun, Goll und Metz*¹⁾ die Angabe, daß für die pharmakologische Wirkung der aliphatischen Monoamine ein Zusammenhang zwischen Wirkungsgrad und Molekulargröße besteht: die Erbrechen erzeugende und die Reflexerregbarkeit steigernde Wirkung wachsen, wenn man vom Methylamin in der homologen Reihe hinaufsteigt. Bei C₅ liegt ein Maximum, bei weiterer Verlängerung der Kohlenstoffkette tritt wieder ein Abfall ein. Ähnlich war das pharmakologische Verhalten von zwei Diaminreihen: Bei den Anfangsgliedern mit der Äthyl- und Trimethylenkette noch keine Wirkung; bei beiden Tetramethylderivaten Zutreten einer Aktivität, die beim Übergang zur Pentamethylenreihe ansteigt und bei der Hexamethylenverbindung wieder abnimmt. *Fourneau und Page* konstatierten (s. Chem. Centralbl. 1914, II, 395), daß die hämolytischen Fähigkeiten der Cholinester erst beim Decylcholin zutage treten, eine Beobachtung, die mit den hier mitgeteilten Ergebnissen in engerer Beziehung steht.

Was an unseren Befunden auffällt, ist nicht allein der Umstand, daß die Resorcincarbonsäure durch den Eintritt eines Alkyls neue Eigenschaften erwirbt und daß der Grad dieser neuen Eigenschaften durch die Länge der Alkylseitenkette so entscheidend beeinflußt wird; es sind

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. 59, 2416, 1926.

diese Eigenschaften selbst, welche die Aufmerksamkeit fesseln, die merkwürdige Erscheinung nämlich, daß sich die lösende Kraft der alkylierten Resorcincarbonsäuren nur gegen bestimmte Zellarten (gegen die gramnegativen) richtet. Wäre das Wesen der Gramfärbung sicher erkannt, so könnte man von dieser Seite her das Verständnis für das Verhalten der genannten Verbindungen erwarten; leider ist das jedoch nicht der Fall, wie noch die jüngsten Diskussionen über das Thema (Schuhmacher, Gutstein u. a.) lehren. Wir sahen uns daher genötigt, die lytischen Phänomene selbst genauer zu analysieren, und sind dabei zu einigen bemerkenswerten Resultaten gelangt.

Zunächst wurde die Cytolyse durch höhere Alkylresorcinsäuren *mikroskopisch* verfolgt. Es zeigte sich, daß die Veränderungen, welche gramnegative Zellen durch diese Verbindungen erleiden, nicht immer die gleichen sind, sondern a) von der als Testobjekt gewählten Zellart, b) von der Natur der benutzten Alkylresorcincarbonsäure und c) von der Konzentration der letzteren abhängen. *Naganatrypanosomen* z. B. werden schon durch eine 0,05 bis 0,1 proz. Lösung der Hexylverbindung innerhalb weniger Minuten vollständig aufgelöst, so daß man weder im Dunkelfeld noch in gefärbten Ausstrichpräparaten Überreste der Protozoen nachzuweisen vermag; geht man mit der Konzentration der Hexylverbindung weiter herab, so schwindet nur das Protoplasma, während sich die Geißeln und zum Teil auch die Kerne (Blepharoplasten) der Form nach erhalten. Um dagegen Dysenteriebazillen so zu lösen, daß nur ein spärlicher, feinkörniger Detritus zurückbleibt, muß man höhere Konzentrationen der *Heptylsäure* zusetzen; stärkere Verdünnungen derselben oder auch höhere Konzentrationen der *Hexylsäure* lösen nur einen nicht exakt bestimmbaren Prozentsatz der Bakterien und verwandeln die übrigen in eigentümliche Gebilde, die man zu Gesicht bekommt, wenn man auf folgende Weise verfährt:

Man versetzt dichte Dysenteriebazillenemulsionen mit gleichen Volumina von 2-, 4- und 6 proz. Lösung von hexylresorcincarbonsaurem Na, vermischt und wartet die Aufhellung ab, was je nach der Dichtigkeit der Bakterienaufschwemmung 2 bis 10 Minuten beansprucht. Das Reaktionsgemisch ist dann viskös, fadenziehend und läßt bei scharfem Zentrifugieren ein schleimiges Sediment zu Boden gehen, das auf einen Objektträger ausgestrichen, mit Äther—Alkohol fixiert und mit verdünntem Carbofuchsin gefärbt werden kann.

In solchen Präparaten erkennt man noch massenhaft Bazillen, die aber nicht gleichmäßig durchgefärbt sind, sondern ausgesparte helle, ungefärbte Stellen aufweisen. Aus dieser Vorstufe geht bei hinreichend intensiver Einwirkung eine zweite Phase hervor, welche dadurch charakterisiert ist, daß sich nur der Rand der Bakterienzelle als rote

Linie markiert, während der dem Bakterienleib entsprechende Raum ganz farblos bleibt. Über die Deutung dieser Bilder können wir uns vorläufig nicht bestimmt aussprechen. Einerseits könnte es sich um einen ganz analogen Vorgang wie bei der Hämolyse¹⁾ handeln; statt des Hb würde jene Substanz in die umgebende Flüssigkeit austreten, welche die Affinität zu den Bakterienfarbstoffen besitzt (das Chromatin), und als Restkörper würde eine Art „Bakterienstroma“ ohne Färbbarkeit zurückbleiben, welches sich optisch ähnlich verhalten könnte wie die Hb-freien Blutschatten. Die roten Randsäume, von welchen die Bakterienkonturen im gefärbten Ausstrichpräparat eingefäßt sind, müssen natürlich nicht präformierten Gebilden („Membranen“) entsprechen. Andererseits kann man sich auch vorstellen, daß das Endoplasma total gelöst und ausgelaugt wird und daß sich nur das resistere Ektoplasma gewissermaßen als „leere Hülse“ erhält. Noch schwerer fällt es, zu beurteilen, wie weit die makroskopisch konstatierbare Aufhellung der Bakterien suspensionen durch die Entstehung der eben beschriebenen Formen und wie weit sie durch völlige Auflösung von Bakterienleibern bedingt wird; wie schon erwähnt, wurden diese beiden Quoten bisher noch nicht genau bestimmt und mit den erzielten Transparenzgraden verglichen. Die höchsten Grade von Klärung bekommt man allerdings, wenn die Bakterien bis auf geringe Residuen komplett gelöst werden (hohe Konzentrationen der Heptylverbindung); man kann aber auch Reaktionsgemische herstellen, die bis auf eine schwache Opaleszenz völlig durchsichtig sind und die mikroskopisch noch sehr große Mengen nicht färbbarer Bakterienschatten enthalten, so daß die Beteiligung der letzteren am optischen Effekt doch sehr wahrscheinlich ist.

Grampositive Bakterien lösen sich auch in 5proz. hexyl- oder heptylresorcincarbon-saurem Na nicht, selbst bei langer Einwirkungsdauer. Sie werden aber lösbar, wenn man sie vorher ihrer Grampositivität beraubt. So vermochten wir nach der Vorschrift von *Deussen* grampositive Diphtheriebazillen oder Staphylokokken durch viertägige Einwirkung von vierfach n HCl gramnegativ zu machen und nach der Entfernung der überschüssigen HCl glatt aufzulösen. Allzugroßes Gewicht möchten wir indes diesem Versuch nicht beimessen, da die protrahierte Behandlung mit starker Salzsäure tiefgreifende Veränderungen der Mikroben hervorruft, die sich schon mikroskopisch durch Verlust der typischen Form und durch schwere Färbbarkeit

¹⁾ Bei der Hämolyse durch die Hexylverbindung und niedrige Konzentrationen der Heptylverbindung bleiben die Stromata erhalten, wie man sich durch mikroskopische Prüfung des auszentrifugierten Rückstandes bei Dunkelfeldbeleuchtung leicht überzeugen kann. Bei der Einwirkung starker Konzentrationen der Heptylverbindung sind die Stromata im Dunkelfeld nicht mehr nachweisbar.

dokumentieren. Schonendere und leistungsfähige Verfahren für die Transformation grampositiver in gramnegative Zellen stehen uns leider nicht zu Gebote. Ob sich umgekehrt gramnegative oder künstlich gramnegativ gemachte Mikroorganismen in grampositive umwandeln lassen, ist eine derzeit offene bzw. technisch nicht gelöste Frage. (Die angeblich positiven Resultate, welche *Nikitine* in dieser Richtung erzielt haben wollte, konnten von *Deussen* nicht bestätigt werden.)

Wichtig ist die Tatsache, daß gramnegative Bakterien nicht unter allen Umständen gelöst bzw. homogenisiert werden, sondern nur in nativem Zustande. Schon das einstündige Erwärmen auf 56° C oder die längere Behandlung mit Äther setzen die Löslichkeit merklich herab; 5 Minuten langes Erhitzen auf 100° C, 24stündige Einwirkung von 70proz. Alkohol oder 36stündiges Verweilen in 2,5proz. Phenol heben sie ganz bzw. fast ganz auf.

Tabelle IV.

Auflösung von nativen und verschiedenartig beeinflussten *Shigaschen* Dysenteriebazillen durch fallende Konzentrationen von hexylresorcincarbonsaurem Na.

Art der Behandlung	Konzentration des Präparats					
	5proz.	3proz.	2proz.	1proz.	0,5proz.	0,25proz.
Unveränderte Bazillen .	++	++	++	+	—	—
1 Stde. auf 56° erwärmt	+	+	+	+	—	—
5 Min. auf 100° erhitzt .	—	—	—	—	—	—
70proz. Alkohol, 24 Stdn.	—	—	—	—	—	—
2 $\frac{1}{2}$ proz. Phenol, 36 Stdn.	+	—	—	—	—	—
Äther, 48 Stdn.	+	+	+	—	—	—

Es sind somit in erster Linie *eivweißkoagulierende Agenzien*, welche die Löslichkeit (Homogenisierbarkeit) gramnegativer Bakterien herabsetzen oder (soweit die geprüften Konzentrationen der Hexylverbindung in Betracht kommen) gänzlich aufheben. Darin liegt ein Widerspruch zu der Beobachtung, welche den Ausgangspunkt dieser Untersuchungen darstellt, da bekanntlich keiner der aufgezählten Eingriffe gramnegative Bakterien in grampositive verwandelt. Es wurde daher zunächst untersucht, wie sich *amorphe, durch Hitze koagulierte und opak gewordene Eivweißkörper* gegen die Alkylresorcincarbonsäuren verhalten. In eine Anzahl kleiner Glasdosen (Esmarschalen) kamen je 5 ccm Pferdeserum und wurden durch zweistündiges Erhitzen auf 90° C zur Gerinnung gebracht. Das undurchsichtige Serum überschichteten wir mit je 5 ccm fallender Konzentrationen der homologen Na-Salze und bestimmten nach 24 Stunden den Grad der Aufhellung (++ = glashell, + = durchscheinend, — = unverändert).

Tabelle V.

Na-Salz der	10proz.	5proz.	2,5proz.	1,25proz.
Äthylresorcincarbonsäure	—	—	—	—
Isoamylresorcincarbonsäure . . .	+	—	—	—
n-Hexylresorcincarbonsäure . . .	++	+	—	—
Heptylresorcincarbonsäure . . .	++	++	±	—

Durch Hitze koaguliertes, undurchsichtiges Serumprotein wird also aufgehellt, und zwar in einer Weise, welche in mehrfacher Hinsicht an die Homogenisierung der Suspensionen gramnegativer (nicht erhitzter!) Bakterien erinnert. *In beiden Fällen ist der Effekt von der Länge der Kette des Alkoholradikals und von der Konzentration der wirksamen Verbindung abhängig.* Daß sich die Aufhellung der Serumplatten nicht in Minuten, sondern erst in mehreren Stunden vollzieht, erklärt sich aus der Langsamkeit, mit welcher die Lösungen in das kompakte, geronnene Eiweiß hineindiffundieren; läßt man Serumeiweiß in Form von feinen Flocken gerinnen (durch Erhitzen verdünnter Lösungen), so kann man solche opake Suspensionen von Coctoeiweiß durch Zusatz gleicher Volumina einer 10proz. Lösung der Heptylsäure gerade so rasch transparent machen wie eine Bakterienaufschwemmung, weil eben das aufzuhellende Material fein verteilt und für den wirksamen Stoff leicht zugänglich ist. Dagegen fielen die *hohen Konzentrationen* auf, die man für die Aufhellung des Coctoeiweißes benötigte (10proz., mindestens 5proz.); die Eiweißkoagulation schien die Homogenisierbarkeit zwar nicht aufzuheben, wohl aber beträchtlich zu vermindern, so daß nur starke Konzentrationen der höheren Homologen deutlich wirkten. Um einen *Vergleich zwischen nativen und durch Kochen veränderten Elementen* anstellen zu können, griffen wir auf *Erythrocyten* als Testobjekt. Erythrocyten werden im normalen Zustande schon von sehr niedrigen Konzentrationen des Na-Salzes der Heptylresorcincarbonsäure angegriffen; es war daher anzunehmen, daß sie auch nach dem Erhitzen auf 100° C noch immer einen nachweisbaren Grad von Löslichkeit besitzen würden.

Tabelle VI.

5proz. Aufschwemmung von Hammelerythrocyten, behandelt mit fallenden Konzentrationen von heptylresorcincarbonsaurem Na.

	5proz.	1proz.	0,5proz.	0,25proz.	0,12proz.	0,05proz.	0,03proz.	0,015proz.	0,007proz.
2 Minuten auf 100° erhitzte H.-E.	c	c	—	—	—	—	—	—	—
Nicht erhitzte H.-E.	c	c	c	c	c	c	c	c	—

Die Voraussetzung traf also zu; die durch das Kochen veränderten Erythrocytensuspensionen wurden ebenfalls lackfarbig, nur waren die hierzu erforderlichen Konzentrationen der Heptylverbindung etwa 50- bis 70mal höher als diejenigen, welche die Lyse der unveränderten Blutkörperchen bewirkten. *Wenn sich bei den gramnegativen Bakterien die Löslichkeitsverhältnisse durch das Kochen (die Eiweißkoagulation) in dem gleichen Ausmaße wie bei den Erythrocyten verschieben, so müssen die gekochten Bakterien praktisch als unlöslich erscheinen, da man ja schon für die nativen Bakterien eine mindestens 0,5proz. Lösung des Heptylpräparats benötigt.*

Die Unlöslichkeit grampositiver Bakterien hat offenbar mit der soeben beschriebenen und diskutierten Schwerlöslichkeit gramnegativer Coctobakterien gar nichts zu schaffen, sondern muß auf andere Ursachen zurückgeführt werden. Mikroskopisch kann man leicht konstatieren, daß grampositive Bakterien selbst in den höchsten Konzentrationen der Heptylverbindung weder ihre Form noch ihre Färbbarkeit ändern (geprüft an Staphylokokken), und daß sie vor allem auch die Grampositivität konservieren. Wenn die grampositiven Mikroben den Alkylresorcincarbonsäuren widerstehen, kann der Grund nur entweder in der Beschaffenheit ihres Protoplasmas oder in Eigentümlichkeiten der Zellmembran liegen, eine Alternative, die von den Erörterungen über das Wesen der Gramfärbung her bekannt ist. Könnte nachgewiesen werden, daß die Zellinhaltsstoffe grampositiver Mikroorganismen gramnegativ und in Alkylresorcincarbonsäuren löslich sind, so würde sich die Entscheidung natürlich nach der an zweiter Stelle genannten Seite neigen; in diesem Sinne lassen sich unseres Erachtens die nachstehenden Versuche verwerten:

Zu den grampositiven Zellen von bedeutenderen Größenausmaßen gehören die Hefen. Aus Hefezellen kann man die Inhaltsstoffe durch verschiedene Methoden gewinnen, z. B. durch Auspressen (*Buchner*), durch Zerreiben feuchter oder trockener Zellmassen und Extraktion der erhaltenen Breie oder Pulver mit Wasser oder (nach *Schuhmacher*) indem man Hefe auf dem Schlitten eines Gefriermikrotoms anfriert und in möglichst dünne ($5\ \mu$ dicke) Schnitte zerlegt, die man in Wasser auffängt. In allen drei Fällen gehen Zellinhaltsstoffe in Lösung, die, soweit sie albuminoider Natur sind, ausgefällt werden können; diese Eiweißkörper erweisen sich stets als ausgesprochen gramnegativ und lösen sich bei Ausfällung mit Essigsäure und Ferrocyankali glatt in Alkylresorcincarbonsäuren. Die Angabe von *Schuhmacher*, daß man durch das Anschneiden gefrorener und dann wieder aufgetauter Hefezellen grampositive Zellinhaltsstoffe darstellen kann, vermochten wir nicht zu bestätigen; daß Hefepreßsaft gramnegativ ist, erwähnt übrigens

auch Eisenberg¹⁾). Die Rückstände, die man beim Pressen, beim Zentrifugieren der Extrakte bzw. des Auffangwassers der Gefrierschnitte bekommt, enthalten neben unzerstörten grampositiven Hefezellen gramnegative Zelltrümmer und grampositive Fragmente, die vielfach wie Ringe oder leere Stücke der Zellschale aussehen. Durch die Zentrifuge läßt sich eine relative Sonderung dieser Formelemente erreichen, indem die intakten Hefezellen infolge ihrer Schwere zuerst ausgeschleudert werden, während sich die grampositiven Membranreste in der oberen Schicht des Zentrifugats ansammeln; *Material, aus dieser oberen Schicht entnommen, kann durch Hexyl- und Heptylresorcincarbonsäure nicht aufgelöst werden.* Wenn man aus diesen, nur mit Hefen ausgeführten Experimenten allgemeingültige Schlüsse ableiten darf, müßte man wohl die besondere Beschaffenheit des Ektoplasmas (der Membran) für die Gramfestigkeit sowie für die Unlöslichkeit grampositiver Bakterien verantwortlich machen, da die endoplasmatischen Substanzen in beiden Beziehungen das entgegengesetzte Verhalten zeigen. Was man sich unter dieser „besonderen Beschaffenheit“ des Ektoplasmas vorzustellen hat, müssen weitere Versuche ergeben. Für die einfache Annahme, daß die Membran grampositiver Zellen für Alkylresorcincarbonsäuren wenig durchlässig ist, konnten wir vorläufig keine sicheren Anhaltspunkte gewinnen.

Auch war es bisher nicht möglich, die Erscheinung physikalisch zu erklären, daß das Lösungsvermögen für gramnegative Zellen mit der Zahl der Kohlenstoffatome in der Alkylseitenkette zunimmt. Ein deutliches Ansteigen der *Lipoidlöslichkeit* konnten wir mit einfacheren Methoden nicht konstatieren. Der Verteilungskoeffizient Chloroform-Wasser war bei allen vier Präparaten sehr klein und annähernd gleich (1 : 99), und die Emulgierungsfähigkeit für Olivenöl ergab wenigstens für Äthyl-, Amyl- und Hexylresorcincarbonsäure bzw. für ihre Na-Salze keine merkliche Differenz.

Zu den gramnegativen Bakterien, welche sich in hexyl- oder heptylresorcincarbonsaurem Na lösen, gehören auch die für Kaninchen hoch toxischen *Shiga-Kruseschen* Dysenteriebazillen. Es zeigte sich aber, daß ein mehrfaches Multiplum der letalen Dosis dieser Bakterien kurz nach der Auflösung in 2- bis 5proz. Lösungen der Hexylverbindung intravenös injiziert werden konnte, ohne daß die Tiere eingingen oder auch nur Andeutungen der charakteristischen Vergiftungssymptome (Darmblutungen, Paraparesen, progrediente Kachexie) erkennen ließen. Da diese Beobachtung in theoretischer wie in praktischer Beziehung aussichtsvoll erschien, wurde *die Wirkung der Alkylresorcincarbonsäuren*

¹⁾ Handb. d. mikrobiol. Techn. v. Kraus-Uhlenhuth 1, 214.

auf Bakteriengifte eingehender untersucht und als Testobjekt gewählt: a) ein *Dysenteriebazillenbouillonkulturfiltrat*, b) ein *Diphtheriebouillonkulturfiltrat* und c) eine Lösung von *Tetanustrockentoxin* in 0,85proz. NaCl. Alle drei Giftlösungen wurden zu gleichen Teilen mit einer Konzentration einer Alkylverbindung vermischt (die doppelt so hoch war wie jene, die eben geprüft werden sollte, wegen der Verdünnung durch die Giftlösung!); die Gemenge blieben sodann 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurden in fallenden Dosen zwecks Ermittlung ihres Giftigkeitsgrades injiziert. In den folgenden Tabellen sind die Multipla der einfach tödlichen Giftdosis, die rechnungsgemäß einverleibt wurden, angegeben, ferner die Konzentrationen der Alkylverbindungen, welche nach dem Vermischen mit dem gleichen Volumen der Giftlösungen resultierten (die wirksamen Endkonzentrationen) und das Versuchsergebnis, bei welchem der Kürze halber nur zwischen Exitus und Überleben unterschieden wird (+ bzw. θ).

Tabelle VII.

Entgiftung von toxischem Dysenteriebouillonfiltrat durch Alkylresorcincarbonsäuren. Intravenöse Injektion; Kaninchen von 1600 g.

Injizierte Giftmenge in Multipla der Dosis letalis	Atyl-	Amyl-	Hexyl-resorcincarbonsauren Na				
	Konzentrationen						
	1proz.	1proz.	1proz.	0,5proz.	0,25proz.	0,05proz.	0,02proz.
25fach	+	+	θ	θ	θ	+	+
15 "	+	+	θ	θ	θ	+	+
10 "	—	—	θ	θ	θ	—	—
5 "	+	θ	θ	θ	θ	—	—
2 "	+	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle VIII.

Diphtherietoxin. Meerschweinchen von 300 g. Subkutane Injektion.

Giftmenge	Hexylresorcincarbonsaures Na		Giftmenge	Hexylresorcincarbonsaures Na	
	1proz.	0,25proz.		1proz.	0,25proz.
100fach	+	—	4fach	+	θ
10 "	+	+	2 "	θ	θ
5 "	+	+	1 "	θ	θ

Tabelle IX.

Tetanusgift. Mäuse von 14 bis 16 g; subkutan. 0,5proz. hexylresorcincarbonsaures Na.

2000fach . . .	θ	20fach . . .	θ
500 "	θ	5 "	θ
100 "	θ	1 "	θ

Wenn auch die vorstehenden Auswertungen zahlreiche Lücken aufweisen, gestatten sie doch die Ableitung einiger wichtiger Folgerungen.

Vor allem springt die *Sonderstellung des Diphtheriegiftes* in die Augen, welches auch durch die 1proz. Hexylverbindung nicht sehr stark abgeschwächt wird, während die Toxizität beim Dysenterie- und beim Tetanusgift schon durch 0,25- bis 0,5proz. Lösungen scheinbar völlig schwindet. Das Tetanusgift gilt auch sonst als ein sehr labiler Körper, der durch chemische Eingriffe der verschiedensten Art leicht alteriert oder zerstört werden kann; aber das Dysenteriegift ist nach den Untersuchungen von *Doerr* gegen Erhitzen, gegen Säuren, gegen proteolytische Fermente relativ widerstandsfähig und jedenfalls weit resistenter als das Diphtherietoxin, so daß die Umdrehung dieses Verhältnisses bei der Beeinflussung durch die hier geprüften Alkylverbindungen auffallen muß.

Ein Vergleich zwischen Dysenterie- und Tetanustoxin ist auf Grund unserer Versuche nicht möglich, da die dosologische Abstufung (das Prüfungsintervall) beim Dysenteriegift aus technischen Gründen eng begrenzt werden mußte und da wir beim Tetanusgift vorderhand nur die Hexylverbindung, aber nicht *die niedrigeren Homologen* untersuchen konnten.

Dagegen ergibt sich aus Tabelle VII einwandfrei *die Zunahme der entgiftenden Wirkung mit der Alkylseitenkette*. Das *Äthylderivat* inaktiviert in 1proz. Lösung gar nicht, das *Amylderivat* partiell und die *Hexylverbindung* entgiftet (im Prüfungsintervall) nicht nur in 1proz. sondern schon in 0,25proz. Lösung total; die Konzentration von 0,02 Proz. vermag sogar die Toxizität noch merklich abzuschwächen. Leider reichte unser Vorrat an dem hier benutzten Dysenteriegift nicht, um auch noch die Heptylsäure in die vergleichenden Titrationen des Entgiftungsvermögens einzubeziehen; doch sollen die mitgeteilten Ergebnisse in diesem wie in anderen Belangen später ergänzt werden. Bei dieser Gelegenheit werden wir ausführlicher auf die Frage zurückkommen, ob sich die starke Entgiftung des Dysenterietoxins *in vitro* nicht auch *in vivo* — bei getrennter Injektion von Gift und Alkylresorcinocarbonsäure — nachweisen läßt. Die Abhängigkeit der Entgiftung von einer bestimmten, noch immer hohen Konzentration der Alkylverbindungen (die weder in der Blutbahn noch im Darmlumen erreicht werden kann) bietet allerdings sehr ungünstige Auspizien für den Ausbau einer *parenteralen oder enteralen Chemotherapie der Shiga-Dysenterie durch die genannten Präparate*; indes wurde eben bisher nur das Hexyl geprüft, und es wäre immerhin möglich, daß seine Wirkung durch ein optimales Alkyl weit übertroffen wird.

Die antigene Funktion der Toxine ist von ihrer Giftigkeit unabhängig und kann erhalten bleiben, wenn die letztere infolge eines

Eingriffs vermindert oder praktisch auf Null reduziert wird. Um hierüber ins klare zu kommen, haben wir alle in Tabelle VII angeführten Kaninchen, welche die Injektionen der chemisch beeinflussten Giftlösungen genügend lange überlebten, nach Ablauf von 25 Tagen intravenös mit einer sicher letalen Menge Dysenterietoxin intravenös reinjiziert.

Tabelle X.

Art der Vorbehandlung		Resultat der Immunitätsprüfung (intravenöse Reinjektion der Dosis letalis nach 25 Tagen)	Art der Vorbehandlung		Resultat der Immunitätsprüfung (intravenöse Reinjektion der Dosis letalis nach 25 Tagen)
Multiplum der letalen Giftdosis	Konzentration der zugesetzten Hexylverbindung Proz.		Multiplum der letalen Giftdosis	Konzentration der zugesetzten Hexylverbindung Proz.	
5fach	1	+	15fach	0.25	0, überleben sämtlich
1 "	1	+	5 "	0.25	
25 "	0.5	+	2 "	0.25	
10 "	0.5	+	2 "	0.05	
25 "	0.25	+	2 "	0.02	

Aus Tabelle X kann man ohne weiteres entnehmen, daß stärkere Konzentrationen des n-hexylresorcincarbonsauren Na (bis zu 0,5 Proz. einschließlich) das Dysenterietoxin nicht nur seiner Toxizität, sondern auch seiner Antigenfunktion berauben. Dann folgt eine Zone (von 0,25 herab bis zu 0,02 Proz.), innerhalb welcher das antigene Vermögen erhalten bleibt, da eine deutliche aktiv antitoxische Immunität zustande kommt; diese Zone deckt sich aber mit jener Konzentrationsbreite, innerhalb welcher die Entgiftung nicht mehr vollkommen ist, so daß man wohl annehmen darf, daß es noch *unzerstörte Toxinreste* sind, welche für den beobachteten immunisatorischen Effekt verantwortlich gemacht werden müssen. Die Entstehung von ungiftigen, aber noch immunisierenden Toxinderivaten („Anatoxinen“, „Toxoiden“) kann nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden, spielt aber — wie das Verhalten des Dysenteriegiftes gegenüber höheren Konzentrationen lehrt — nur eine ganz untergeordnete Rolle. Die durch Alkylresorcincarbonsäuren erzeugten Veränderungen der Toxine scheinen irreversibel zu sein; es ist wenigstens bisher nicht gelungen, den Verlust an Toxizität und an antigenem Vermögen vollständig oder partiell rückgängig zu machen.

Ähnlich wie auf Toxine wirken die homologen Alkylverbindungen auch auf die typischen Eiweißantigene, z. B. auf Agglutinogene und Präzipitinogene, ein. Hohe Konzentrationen des Hexylpräparats z. B. führen rasch einen kompletten Verlust der agglutinogenen Eigenschaften von Dysenteriebazillen herbei; niedere Konzentrationen

dagegen schwächen dieses Antigen ab, so daß man namentlich durch wiederholte parenterale Injektionen doch noch eine erhebliche Agglutininproduktion auslösen kann.

Tabelle XI.

Agglutininproduktion bei drei Kaninchen, welche eine einmalige subkutane Injektion von unveränderten, von mit 10proz. und von mit 2proz. hexylresorcincarbon-saurem Na behandelten Dysenteriebazillen erhalten hatten. Aderlässe 12 Tage nach der Injektion.

Injiziertes Material	Agglutinititer (Serumverdünnung)						
	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560
Bazillen + 10proz. Hexyl- verbindung	+	—	—	—	—	—	—
Bazillen + 2proz. Hexyl- verbindung	—	—	—	—	—	—	—
Unveränderte Bazillen . .	+	+	+	+	+	+	—

Tabelle XII.

Dysenteriebazillen in 1proz. Lösung der Hexylverbindung. Drei subkutane Injektionen in Intervallen von je 5 Tagen. Aderlaß 8 Tage nach der letzten Injektion:

Injiziertes Material	Agglutinititer						
	1:80	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2500
Bazillen + 1proz. Alkyl- verbindung	+	+	+	+	+	+	—

Daß das Bakterieneiweiß oder andere Eiweißantigene bei der Behandlung mit den hier beschriebenen homologen Alkylverbindungen ihre Spezifität im Sinne einer neu entstehenden „Alkylresorcincarbon-säure-Spezifität“ ändern, glauben wir — obwohl diese Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind — in Abrede stellen zu können. Behandelt man nämlich Dysenteriebazillen mit unterlösenden Konzentrationen des Hexylpräparats und entfernt das letztere durch Waschen auf der Zentrifuge, so werden solche Bakterien durch die Immenserum von Kaninchen, die mit demselben Material parenteral injiziert wurden, nicht agglutiniert. Doch bereiten derartige Versuchsanordnungen Schwierigkeiten, weil schon Spuren der Alkylverbindungen wegen ihrer eiweißlösenden Kraft die auf Flockungen beruhenden Immunitätsreaktionen verhindern und weil die Dialyse als Verfahren zur Beseitigung von Überschüssen dieser Stoffe aus Bakteriensuspensionen oder Eiweißlösungen versagt. Indes kann man in Analogie zu den

eindeutigen Toxinexperimenten annehmen, daß auch die Eiweißantigene im engeren Sinne durch genügend starke Konzentrationen irreversibel denaturiert werden.

Zusammenfassung.

1. Dichte Aufschwemmungen gramnegativer Zellen (Bakterien, Organzellen) werden durch hexyl- oder heptylresorcincarbonsaures Na homogenisiert und in ein durchsichtiges Medium verwandelt. Grampositive Bakterien bleiben unbeeinflusst.

2. Rote Blutkörperchen werden hämolysiert, und zwar läßt sich dieser Effekt schon bei der Amylverbindung feststellen.

3. Koaguliertes, opakes Serumeiweiß wird aufgehellt. Ebenso lassen sich gekochte Blutkörperchen lösen, nur sind die notwendigen Konzentrationen für die Aufhellung von Coctoeiweiß weit höher als die für die Lyse gramnegativer Zellen erforderlichen.

4. Toxine werden entgiftet und gleichzeitig ihrer Antigenfunktion beraubt. Dieser Vorgang vollzieht sich beim Dysenterie- und Tetanusgift vollständig in relativ niedrigen Konzentrationen der Hexylverbindung (0,25- bis 0,5proz.); das Diphtheriegift ist weit widerstandsfähiger.

5. Sämtliche in den vorstehenden Punkten angeführten Wirkungen sind nicht nur Funktionen der Konzentration, sondern werden durch die Länge der C-Kette des Alkoholradikals in den homologen Verbindungen entscheidend beeinflußt. Resorcincarbonsaures Na wirkt nicht, und ebensowenig hat die Einführung der Äthylgruppe einen merklichen Effekt; erst vom Amyl an stellen sich die nachweisbaren cytolytischen, homogenisierenden und toxinzerstörenden Fähigkeiten ein, um im Hexyl — und im Heptyl — eine sukzessive Steigerung zu erfahren, die einem noch nicht ermittelten Optimum zustrebt.

Literatur.

Deussen, Zentralbl. f. Bakt., Orig., 85, 272, 1918. — *Schuhmacher*, ebendasselbst 98, 104, 1926. — *Gutstein*, ebendasselbst 100, 1 und die früheren Mitteilungen in dieser Zeitschrift. — *Eisenberg*, Handb. d. mikrobiol. Techn. v. Kraus-Uhlenhuth 1, 214. — *Fourneau* und *Page*, Chem. Centralbl. 1914, II, 395. — *Braun*, *Goll* und *v. Metz*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 59, 2416, 1926.

Zwei einfache Methoden zur quantitativen Bestimmung der Acetessigsäure.

Von
Leo Lorber.

(Aus dem Zentrallaboratorium der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Die quantitative Bestimmung der Acetessigsäure erfolgte bisher entweder in der Weise, daß wir dieselbe durch Erhitzen zersetzten und die hierdurch entstandene Acetonmenge nach *Messinger-Huppert* bestimmten (Bestimmung auf *indirektem* Wege), oder aber so, daß wir die vorhandene Acetessigsäure auf *direktem* Wege bestimmten.

Die Methoden von *Folin*¹⁾, *Pincussen* und *Engfeldt*²⁾ sind indirekte Methoden und ihrem Wesen nach identisch mit obigem Vorgang; sie zersetzen die nach Entfernung des präformierten Acetons aus den Lösungen (Harn, Blut) zurückgebliebene Acetessigsäure ebenfalls durch Erhitzen und messen dann das so entstandene Aceton nach *Messinger-Huppert* auf jodometrischem Wege.

Diese Methoden liefern für die alltägliche Praxis hinreichend genaue Werte; ihre Durchführung jedoch ist umständlich und es können deshalb leicht Fehler auftreten; denn 1. muß bei genaueren Bestimmungen zweimal destilliert werden; 2. das Entfernen des präformierten Acetons bei 35 bis 40° verursacht auch die Zersetzung der Acetessigsäure, da diese bei einer solchen Temperatur in saurem Milieu leicht zerfällt [*Waldvogel*³⁾]; 3. bestimmt sie auch andere jodbindende Substanzen (Aldehyde, Alkohole usw.).

Die übrigen Methoden, welche die Acetessigsäure auf direktem Wege bestimmen, liefern — worauf schon *Neubauer*⁴⁾ hingewiesen hat — un-

1) *Folin*, Journ. of biol. chem. **3**, 177, 1907.

2) *Pincussen*, Mikromethodik.

3) *Waldvogel*, zitiert nach *Neubauer*, Analyse des Harns **1**, 274.

4) *Neubauer*, Analyse des Harns **1**, 272.

brauchbare Werte. So ist die titrimetrische Methode von *Oppler*¹⁾ unbrauchbar, weil sie 1. keine Rücksicht auf die Reaktion des Harns nimmt, die doch die Diacet-FeCl₃-Farbe beeinflusst; 2. zu wenig empfindlich ist (unter 0,5 Prom. liefert sie ganz ungenaue Werte); 3. weil auch andere im Harn vorkommende Substanzen der Diacet-FeCl₃-Farbe ähnliche Farben geben, welche Farbenreaktion nach Hinzugabe starker Säuren ebenfalls verschwindet.

Die Außerachtlassung dieser beiden letzteren Fehlerquellen macht auch die kolorimetrische Methode von *Schall*²⁾ für quantitative Messungen ungeeignet.

Jene direkten Methoden, welche die mit Nitroprussidnatrium auftretende Farbenreaktion zur kolorimetrischen Messung benutzen [*Hahn* und *Lenk*³⁾, *Adler*⁴⁾ usw.], sind wegen der schnellen Veränderung der entstandenen Farbe ebenfalls ungeeignet, weshalb auch die Verfasser selbst ihre Methoden nur im Falle annähernder Schätzungen empfehlen. Diese Methoden dienen nach den Verfassern eigentlich zur Bestimmung des Acetongehalts und nicht der Acetessigsäure des Harns.

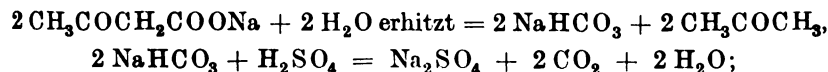
Die *Engfeldtsche*⁵⁾ Schätzmethode ist zu quantitativen kolorimetrischen Bestimmungen deshalb ungeeignet, weil die als Vergleichslösung empfohlene n/100 KMnO₄-Lösung, der spektroskopischen Ähnlichkeit der beiden Farben entgegen, von der Nitroprussidfarbe abweicht.

Unter Hinweis auf die bisher erörterten Umstände mache ich in der Folge für die Bestimmung der Acetessigsäure zwei einfache Methoden bekannt, welche genaue Werte ergeben, und zwar 1. eine makrotitrimetrische und 2. eine mikrokolorimetrische Methode.

I. Makrotitrimetrische Bestimmung der Acetessigsäure.

Das Wesen der Methode besteht darin, daß wir die Acetessigsäure oder die wässrige Lösung ihrer Salze mit Kali oder Natronlauge neutralisieren. Zu dieser neutralen Lösung geben wir überschüssig eine genau bekannte H₂SO₄-Lösung und erhitzen diese saure Lösung. In der Wärme zersetzt sich die Acetessigsäure sowie ihre Salze in CO₂ und Aceton, und das auf diese Weise frei gewordene Alkali bindet eine mit der Acetessigsäure äquivalente Menge H₂SO₄. Wir titrieren die im Überschuß gebliebene H₂SO₄ und subtrahieren den so erhaltenen Wert von der ursprünglich hinzugegebenen Menge der H₂SO₄. In der Lösung war eine mit der gebundenen H₂SO₄ äquivalente Menge Acetessigsäure.

Folgende Formeln veranschaulichen die Reaktion:



¹⁾ *Oppler*, Zentralbl. f. inn. Med. 16, 697, 1895.

²⁾ *Schall*, Münch. med. Wochenschr. 29, 812, 1919.

³⁾ *Hahn* und *Lenk*, ebendasselbst 6, 179, 1917.

⁴⁾ *Adler*, ebendasselbst 26, 722, 1919.

⁵⁾ *Engfeldt*, diese Zeitschr. 159, 257, 1925.

die CO_2 verflüchtigt sich aus der warmen sauren Lösung. Bedingung für die Reaktion ist, daß infolge Erhitzens nur das frei werdende Alkali den Säuregehalt der Lösung ändere.

Durchführung der Methode.

Zur Durchführung der Methode werden benötigt:

1. eine Lösung von etwa $n/10$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$;

2. eine genaue $n/10$ CO_2 -freie Lösung NaOH , welche man — nach *Sörensen* — aus gesättigter Laugenlösung (worin die Carbonate unlöslich sind) mit ausgekochtem Wasser herstellt. Man hält die Laugenlösung CO_2 -frei, indem man zu einem Liter derselben 10 ccm $n/10$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ hinzufügt. Die auf diese Weise hergestellte Lösung titriert man mit einer genau bekannten Schwefelsäurelösung in Gegenwart von Phenolphthalein (oder Phenolrot);

3. eine genaue $n/10$ H_2SO_4 -Lösung;

4. eine 1proz. Phenolphthalein- (oder 1prom. Phenolrot-)Lösung.

Die Acetessigsäure oder die wässrige Lösung ihrer Salze werden genau abgemessen und nach Hinzugabe einiger Tropfen Indikators neutralisiert, um die CO_2 zu entfernen, gibt man noch 5 ccm $n/10$ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ hinzu; sind noch andere bariumbindende Anionen (SO_4 , PO_4 , Oxalat usw.) in der Lösung enthalten, dann gibt man dementsprechend mehr $\text{Ba}(\text{OH})_2$ hinzu; nachdem die Lösung 5 Minuten gestanden, wird sie behufs Entfernung des niedergeschlagenen BaCO_3 filtriert und der Niederschlag mit etwas kaltem, ausgekochtem, CO_2 -freiem Wasser ausgewaschen. Das so erhaltene Filtrat wird mit Schwefelsäure genau neutralisiert und hierauf die genaue H_2SO_4 überschüssig hinzugesetzt. Die Mischung wird 3 Minuten lang erhitzt, dann abgekühlt und die im Überschuß gebliebene H_2SO_4 titrimetrisch bestimmt. Ich bemerke, daß die durch BaSO_4 verursachte Trübung die Titrierung nicht beeinflußt. Der jetzt erhaltene Wert wird von der ursprünglich hinzugegebenen H_2SO_4 subtrahiert.

Resultat: Jedem Kubikzentimeter der gebundenen $n/10$ H_2SO_4 entsprechen 10.2 mg Acetessigsäure.

Ich habe diese Methode einerseits mit nach der Methode *Messinger-Huppert* bestimmten Acetessigsäurelösungen überprüft, andererseits habe ich mit derselben die aus Verseifung von genau bekanntem Acetessigsäureester entstandene Acetessigsäure bestimmt. Aus der folgenden Tabelle ersieht man, daß die nach beiden Methoden erhaltenen Werte sehr gut übereinstimmen und daß ich die aus dem Ester abgespaltene Acetessigsäure mit einem minimalen Fehler von 0,5 Proz. bestimmen konnte.

Tabelle I.

Menge der Acetessigsäure		Differenz Proz.
Nach <i>Messinger-Huppert</i> Proz.	Nach der neuen Methode Proz.	
0,96	0,95	1
1,05	1,05	—
0,861	0,857	0,4
0,973	0,978	0,5
0,532	0,530	
Aus dem Ester abgespalten		
1,0	0,995	0,5
0,5	0,4957	0,9
0,273	0,274	0,3
0,452	0,450	0,4

II. Mikrokolorimetrische Bestimmung der Acetessigsäure.

Bei dieser Methode kolorimetrieren wir die rote Farbe, welche die Acetessigsäure mit Nitroprussid-Natrium (*Rothera*) gibt. Wir vergleichen die entstandene rote Farbe mit bekannter Acetessigsäure oder mit Aceton, welche ähnlich mit der zu untersuchenden Lösung behandelt worden ist. Aceton und Acetessigsäure bringen nämlich mit Nitroprussid-Natrium vollkommen gleiche Farben hervor; jedoch ist die von der Acetessigsäure hervorgerufene Farbe, gleiche Konzentration vorausgesetzt — und unter in der Folge gemachten Annahmen —, 30mal stärker als jene, welche das Aceton hervorbringt.

Zur Durchführung werden benötigt:

1. Eine 1proz. genaue Acetonlösung.

Wir messen 2,5 ccm wasserfreies Aceton purissimum in einen Meßkolben von 200 ccm, in welchen wir vorher etwa 50 ccm destilliertes Wasser gegeben haben und füllen denselben bis zur Marke mit destilliertem Wasser. Das Aceton soll eine Temperatur von 15° haben, wobei sein spezifisches Gewicht 0,8 ist.

Diese Lösung ist imstande, mit Nitroprussid-Natrium dieselbe Farbe hervorzurufen, wie $\frac{1000}{30} = 33,3$ mg-Proz. Acetessigsäure.

2. Eine gesättigte $(\text{H}_4\text{N})_2\text{SO}_4$ -Lösung.

Wir lösen etwa 900 g $(\text{H}_4\text{N})_2\text{SO}_4$ warm in 1 Liter Wasser auf und filtrieren die Lösung nach 24 Stunden.

3. Eine genau 4,6proz. Natrium-Nitroprussidlösung.

4. Eine officinelle 10proz. Ammoniaklösung.

Bei Bestimmungen im Blute ist zur Enteiweißung, welche nach *Folin-Wu* erfolgt, noch 10proz. Natriumwolframat und eine $\frac{2}{3}$ n H_2SO_4 -Lösung erforderlich.

Bestimmung im Harn.

Bei genauen Bestimmungen, wie bei kolorimetrischen Bestimmungen überhaupt, müssen wir den angenäherten Acetessigsäuregehalt des Harns kennen. Wir machen deshalb schon die qualitative Probe so, daß wir den angenäherten Acetessigsäuregehalt kennenlernen. Es empfiehlt sich daher, die qualitative Probe in folgender Weise auszuführen.

Wir messen in die eine von zwei in je 10 ccm geteilten Eprouvetten den Harn bis zur Marke „1 ccm“, in die andere bis zur selben Marke 1 proz. Acetonlösung und füllen hierauf bis Marke 4 mit destilliertem Wasser. Nunmehr geben wir in jede Eprouvette der Reihe nach von der Lösung 2: 5 ccm, von Lösung 3: 0,5 ccm und von Lösung 4 ebenfalls 0,5 ccm; die Lösungen geben wir immer zuerst in die das Aceton enthaltende Röhre.

Der Inhalt der beiden Röhren wird gleichzeitig gut durchmischt, und nach 5 Minuten vergleichen wir die in den Röhren entstandenen Farben.

Ist Farbgleichheit vorhanden, so folgt, daß in 100 ccm Harn 33 mg Acetessigsäure enthalten sind.

Ist die vom Harn gelieferte Farbe dunkler als die in der das Aceton enthaltenden Röhre, dann gießen wir die dunklere Flüssigkeit bis zur Marke „1“ weg und verdünnen so lange mit destilliertem Wasser [ich bemerke, daß die Schätzung genauer wird, wenn nicht mit destilliertem Wasser, sondern mit destilliertem Wasser aa vermischter konzentrierter Ammoniumsulfatlösung (Lösung 2) verdünnt wird], bis Farbgleichheit entsteht. Die der Verdünnung entsprechenden Kubikzentimeter mit 33 multipliziert geben den angenäherten Acetessigsäuregehalt von 100 ccm Harn in Milligrammen.

Ist die Farbe der das Aceton enthaltenden Röhre dunkler als jene, welche den Harn enthält, dann verdünnen wir den Inhalt der das Aceton enthaltenden Röhre auf obige Weise. Der angenäherte Acetessigsäuregehalt wird erhalten, wenn man 33 durch die Verdünnungszahl dividiert.

Die *genaue quantitative Bestimmung* führen wir abhängig von der angenähert gefundenen Acetessigsäuremenge durch.

In eine Eprouvette messen wir den Harn, in eine andere das Aceton, und zwar bis zu einem Acetessigsäuregehalt von 100 mg-Proz. 1 ccm Aceton bzw. 1 ccm Harn; bis 200 mg-Proz. 1 ccm Aceton bzw. 0,5 ccm Harn und über 200 mg-Proz. 2 ccm Aceton bzw. 0,5 ccm Harn. Den Inhalt beider Röhren ergänzen wir mit destilliertem Wasser auf 4 ccm, hernach geben wir die $(\text{H}_4\text{N})_2\text{SO}_4$, das Nitroprussidnatrium und das H_4NOH hinzu, wie oben bei der qualitativen Schätzung beschrieben.

Nachdem die Lösungen 5 Minuten gestanden, geschieht die kolorimetrische Vergleichung derselben auf weiter unten beschriebene Weise.

Bestimmung im Blute und im Liquor.

Im Blute und Liquor führen wir die Bestimmung nach deren Enteiweißung durch. Wir messen 0,3 ccm Serum, geben dazu 0,3 ccm destilliertes Wasser, dann 0,3 ccm Na-Wolframat und tropfenweise 0,3 ccm $\frac{2}{3}$ n H_2SO_4 . Nach gründlicher Mischung wird der entstandene Eiweißniederschlag abzentrifugiert und davon 0,4 ccm (= 0,1 ccm Serum) in die Küvette gemessen. Vom Liquor messen wir 1,5 ccm in ein Zentrifugierröhrchen, hierzu 0,25 ccm Wolframat und 0,25 ccm H_2SO_4 . Nach erfolgtem Zentrifugieren messen wir in die Küvette 0,4 ccm (= 0,3 ccm Liquor) von der enteiweißten Lösung. Zur Vergleichung messen wir 1 ccm 1proz. Acetonlösung und 3 ccm Wasser in eine Eprouvette und bringen die Farbenreaktion auf die beim Harn beschriebene Weise hervor. Hier jedoch mischen wir die Reagenzien im Vorhinein zusammen, und zwar so, daß wir von Lösung 2 10 ccm, von Lösung 3 1 ccm und von Lösung 4 ebenfalls 1 ccm abmessen, dieselben gut zusammenmischen und davon in die das Aceton enthaltende Röhre 6 ccm, in die Küvette 0,6 ccm messen. Die Lösungen werden gut vermischt, und nach 5 Minuten wird die Kolorimetrie durchgeführt. Die der Farbgleichheit entsprechende Acetonmenge durch 30 dividiert gibt den Acetessigsäuregehalt der gemessenen Lösung.

Die *Kolorimetrierung* habe ich mit dem Kolorimeter von *Autenrieth-Königsberger* ausgeführt, an welchem ich zur Vereinfachung der Berechnung die Skaleneinteilung in der Weise abgeändert habe, daß ich den Nullpunkt derselben, d. h. jenen Punkt, bei welchem der Keilquerschnitt mit dem der Küvette übereinstimmt, mit 1, und den bisher mit 100 bezeichneten Punkt, welcher mit der Keilspitze zusammenfällt, mit 0 (Null) bezeichnet habe. Den Abstand dieser beiden Punkte in 100 gleiche Teile geteilt, bezeichnen die Teilstriche in Dezimalbruchform von 0 bis 1 die Hunderstel von 1. Wir erlangen dadurch den Vorteil, daß wir ohne „Kurven“ arbeiten können, da wir die Konzentration der in der Küvette befindlichen Flüssigkeit erhalten, indem wir die Konzentration der Keilflüssigkeit (im vorliegenden Falle den dreißigsten Teil der Acetonkonzentration, welche dieselbe Farbe hervorbringt wie die Acetessigsäure) mit dem Dezimalbruch multiplizieren, welche die Keilstellung bei Farbgleichheit bezeichnet. Die Kolorimetrie und Berechnung des Acetessigsäuregehalts des Harns ist wie folgt durchzuführen:

Ist der Acetessigsäuregehalt des Harns kleiner als 33 mg-Proz., d. h. ist die das Aceton enthaltende Röhre dunkler, dann geben wir

das Aceton in den Keil und den Harn in die Küvette und stellen rasch auf Farbgleichheit ein.

Die Dezimalbruchzahl, welche die Keilstellung bezeichnet, multiplizieren wir mit der Konzentration des Acetons (mit 1000) — weil 1000 mg in 100 ccm enthalten sind — und dividieren das Produkt mit 30 (weil die Farbenreaktion des Acetons, den gemachten Annahmen gemäß, 30 mal schwächer ist als die Farbenreaktion der Acetessigsäure. Die so erhaltene Zahl gibt den Acetessigsäuregehalt des Harns in Milligrammprozenten.

Ist der Acetessigsäuregehalt des Harns größer als 33 mg-Proz., jedoch kleiner als 100 mg-Proz., oder allgemein, wenn die den Harn enthaltende Röhre dunkler ist, dann geben wir den Harn in den Keil und das Aceton in die Küvette. Nun aber dividieren wir die Konzentration des Acetons (1000) mit der Dezimalbruchzahl, welche die Keilstellung bezeichnet, bei welcher Farbgleichheit eingetreten ist; der so erhaltene Quotient gibt, durch 30 dividiert, den Acetessigsäuregehalt des Harns in Milligrammprozenten. Ist der Acetessigsäuregehalt des Harns größer als 100 mg-Proz., jedoch kleiner als 200 mg-Proz. (d. h. wenn wir die vergleichende Kolorimetrie mit 1 ccm Aceton und 0,5 ccm Harn durchführen, dann ist der oben erhaltene Wert noch mit 2 zu multiplizieren; sind aber mehr als 200 mg-Proz. Acetessigsäure gegenwärtig, d. h. wenn wir 2 ccm Aceton mit 0,5 ccm Harn miteinander vergleichen), dann ist der Acetessigsäuregehalt = $\frac{2000}{\text{Skala} \cdot 30} \cdot 2 \text{ mg-Proz.}$

Beispiel. Bei der qualitativen Schätzung fand man, daß der Acetessigsäuregehalt des Harns etwa 140 mg-Proz. beträgt. Nachdem wir die mit 0,5 ccm Harn entstandene Farblösung in den Keil und die mit 1 ccm Aceton entstandene in die Küvette gegeben haben, finden wir bei 0,53 Keilstellung Farbgleichheit. Der Acetessigsäuregehalt ist also gleich: $\frac{1000}{0,53 \cdot 30} \cdot 2 = 125,8 \text{ mg-Proz.}$

Im Blute und Liquor geschieht die Bestimmung und Berechnung ebenso wie beim Harn, welcher weniger als 33 mg-Proz. Acetessigsäure enthält, d. h. der Acetessigsäuregehalt in Milligrammprozenten = $\frac{1000}{30} \cdot \text{Skala.}$

Wäre im Blute oder Liquor so viel Acetessigsäure gegenwärtig (mehr als 33 mg-Proz.), daß die Kolorimetrie auf diese Art nicht durchführbar wäre, dann wiederholen wir die Kolorimetrie in der Weise, daß wir von der Lösung, welche bei der vorigen Enteifung übriggeblieben ist, 0,1 ccm abmessen, dazu 0,3 ccm destilliertes Wasser geben und dieses auf obige Weise mit 1 ccm Aceton vergleichen;

das Resultat ist jedoch mit 4 zu multiplizieren. Die Kolorimetrie kann mit dem *Autenrieth'schen* Kolorimeter — natürlich — auch mit der gewöhnlichen Skala, sowie mit jedem beliebigen Kolorimeter durchgeführt werden.

Nach den Angaben der folgenden Tabelle stimmen die nach der hier beschriebenen Methode erhaltenen Werte mit jenen, welche die (nach *Folin* modifizierte) *Messinger-Huppertsche* Methode lieferte, sehr gut überein; andererseits konnte ich die zu den Körpersäften hinzugefügte, genau gemessene Acetessigsäure mit Hilfe dieser Methode sehr genau bestimmen.

Tabelle II.

Menge der Acetessigsäure.

Im Harn		Im Serum	
Nach <i>Messinger-Huppert</i> Prom.	Nach der neuen Methode Prom.	Nach <i>Messinger-Huppert</i> Prom.	Nach der neuen Methode Prom.
0.581	0.587	0.162	0.166
0.160	0.159	0.243	0.238
0.462	0.482	0.486	0.480
0.946	0.942	0.500	0.505
1.05	1.00		
3.05	3.00		

Kritik der Methoden.

Die makroquantitative Methode dient zur Bestimmung sowohl der Acetessigsäure als auch ihrer Salze und liefert hier sehr genaue Werte. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß sie ohne Destillation, auf direktem Wege die Acetessigsäure mißt. Das Aceton stört die Reaktion nicht, was deshalb sehr wichtig ist, weil wir ja wissen, daß von der Acetessigsäure sich fortwährend Aceton abspaltet. Da das Erhitzen mit H_2SO_4 auch andere Fettsäuren aus ihren Lösungen treibt, deshalb ist die Methode zur Messung des Diacetgehalts des Harns nicht geeignet, weil wir wohl wissen, daß flüchtige Fettsäuren auch mit Normalharn ausscheiden. Bei genauen Messungen muß man auch auf den CO_2 -Gehalt acht haben, weil das Titrieren mit Hilfe von Indikatoren geschieht, welche gegen CO_2 empfindlich sind. Das Entfernen von CO_2 auf oben bezeichnete Art oder aber in saurer Lösung, mit Durchströmen von CO_2 -freier Luft, bietet keine Schwierigkeit.

Die Mikromethode wird durch im Harn enthaltene andere Substanzen nicht gestört, ausgenommen das Aceton, welches jedoch dort in so geringer Menge vorhanden ist, daß es keine Reaktion liefert¹⁾.

¹⁾ L. Lorber, diese Zeitschr. 181, 375, 1927.

Die Methode, welche hauptsächlich klinischen Zwecken dient, gibt ebenfalls sehr genaue Werte.

Da die Nitroprussidreaktion eine Funktion der Zeit ist und die „Kurven“ der vom Aceton und von der Acetessigsäure herrührenden Farben nicht vollkommen gleich sind und das obige Verhältnis (1 : 30) 5 Minuten nach Beginn der Reaktion eintritt, ist es angezeigt, um genaue Werte zu erhalten, das Experiment so einzurichten, daß die Ablesung der Farbengleichheit genau am Ende der fünften Minute erfolgt.

Bei Hinzufügung des Nitroprussids müssen wir uns genau an obige Mengen halten, weil eine andere Menge das Verhältnis 1 : 30 ebenfalls ändert. Es ist jedoch zu bemerken, daß geringere Abweichungen nur unbedeutende Unterschiede (1 bis 2 Proz.) verursachen.

Die kolorimetrisierten Farben stimmen mit jenen im Keile vollkommen überein; in stark verdünnten Lösungen beeinflußt die braune Farbe des Nitroprussids ein wenig die Übereinstimmung der Farben. Arbeitet man mit ganz verdünnten Lösungen (etwa 0,01proz.), dann leistet bei der Ablesung eine vor das Fenster des Kolorimeters gebrachte gelblichbraune Glasplatte gute Dienste. Ich bemerke, daß die angegebenen Zahlen in Acetessigsäure und nicht in Aceton (wie allgemein gebräuchlich) berechnet sind.

Bei der Diacetbestimmung des Blutes arbeiten wir mit Serum oder Plasma. Ich habe nämlich die Erfahrung gemacht, daß hämolysierte normale rote Blutkörperchen auch ohne Beisein von Diacet die Farbenreaktion mit Nitroprussid geben. Die so entstandene Farbenreaktion tritt jedoch — gegenüber der von der Acetessigsäure und dem Aceton gelieferten Farbe — plötzlich mit voller Intensität auf und vergeht viel schneller.

Das quantitative Verhältnis des Acetons und der Acetessigsäure im Harn auf Grund der zu ihrem Nachweis gebrauchten qualitativen Proben.

Von
Leo Lorber.

(Aus dem Zentrallaboratorium der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Trotz der bisherigen Untersuchungen von *Arnoldi*¹⁾, *Emlden* und *Schliep*²⁾, *Engfeldt*³⁾, *Lichtwitz*⁴⁾ usw., welche sich mit diesem Gegenstand befassen, herrscht in der allgemeinen ärztlichen Praxis, ja sogar in einem großen Teile der Literatur hinsichtlich der Acetonsubstanzen des Harns große Unklarheit. Den Grund hiervon glaube ich in der unrichtigen Ausführung und Wertung der bei den alltäglichen klinischen Untersuchungen angewandten, sogenannten Acetonproben zu finden. Ich will mich deshalb im weiteren mit den gebräuchlichsten Aceton- und Acetessigsäureproben befassen und deren richtige Ausführung und Wertung angeben.

Zum qualitativen Nachweis des Harnacetons pflegen wir zwei Methoden anzuwenden: die *Legalsche* Nitroprussidprobe oder deren Modifikationen (*Lange*, *Rothera* usw.) und die *Jodoformprobe* nach *Lieben*. Als dritte erwähne ich noch die *Frommersche* Acetaldehydprobe, welche jedoch nur selten angewendet wird. Ich bemerke, daß die erwähnten drei Proben nicht spezifisch sind, sondern, wie schon frühere Untersuchungen gezeigt haben, weisen sie neben Aceton auch die Acetessigsäure nach.

Die Nitroprussidprobe.

Diese, welche nach den verschiedenen Lehr- und Handbüchern für Physiologie [*Hammarsten*⁵⁾, *Fränkel*⁶⁾], für innere Medizin [*Strü-*

¹⁾ *Arnoldi*, Wien. klin. Wochenschr. 1899, S. 218.

²⁾ *Emlden* und *Schliep*, Zentralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffes 1907, S. 250 u. 289.

³⁾ *Engfeldt*, diese Zeitschr. 159, 257, 1925.

⁴⁾ *Lichtwitz*, Berl. klin. Wochenschr. 1915, S. 399.

⁵⁾ *Hammarsten*, Lehrb. d. Physiol. Chem.

⁶⁾ *Fränkel*, Prakt. d. med. Chem. 1918.

pell¹⁾, Mehring²⁾, Umber³⁾, Seifert-Müller⁴⁾, Brugsch-Schittenhelm⁵⁾, Klopstock-Kowarsky⁶⁾ usw.], sogar nach solchen, welche sich speziell mit Harnchemie befassen [Neubauer⁷⁾, Späth⁸⁾ usw.], die gebräuchlichste zum Nachweis des im Harn befindlichen Acetons ist, kann, wie schon oben erwähnt, auch die Acetessigsäure nachweisen. Die Acetessigsäure liefert sogar die Probe mit einer viel stärkeren Farbe als das Aceton. So ist die ursprüngliche Legalsche Probe mit Acetessigsäure fünf- bis sechsmal stärker als mit ebensoviel Aceton. Die Modifikation nach Rothera gibt schon eine zwanzigmal stärkere Farbe, nach Engfeldt⁹⁾ ist die Acetessigsäure sogar in einer hundertfach verdünnteren Lösung als Aceton nachweisbar. Nach der von mir vorgeschriebenen Modifikation¹⁰⁾ ist, bei gleicher Konzentration, die Farbe der Acetessigsäure dreißigmal stärker als jene des Acetons mit Nitroprussid. Schon diese quantitativen Verhältnisse weisen darauf hin, daß diese Reaktion zum Nachweis des im Harn enthaltenen Acetons nicht geeignet ist, denn die im pathologischen Harn etwa, wenn auch in geringer Menge, vorkommende Acetessigsäure kann dieselbe leicht stören. Der Wert der Reaktion als Acetonprobe verliert besonders dann, wenn wir auf den Umstand hinweisen, daß der Nachweis mit Nitroprussid nur in Gegenwart von 5 prom. Aceton möglich ist¹¹⁾, geringere Konzentrationen als diese geben entweder nur schwache oder keinerlei Farbenreaktionen, wohingegen die Nitroprussidprobe gut nachweisbar positiv ist in solchen Harnen, welche nach Messinger-Huppert bestimmt 0,1 prom. Gesamtaceton enthalten. Der Grund dieses gegensätzlichen Verhaltens ist nicht in dem etwa aktivierenden Einfluß des Harns auf die Aceton-Nitroprussidprobe zu suchen [daß es solche Substanzen gibt, ist ja bekannt, z. B. das bei der Rothera-Probe benutzte $(\text{H}_4\text{N})_2\text{SO}_4$]. Denn l. es bleibt die Probe negativ, wenn wir zu Normalharn 0,5- oder sogar 1 prom. Aceton (also 10 mal so viel wie im obigen Harn Gesamtaceton

1) Strümpell, Spezielle Pathol. u. Therap.

2) Mehring, Lehrb. d. inn. Med.

3) Umber, Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten.

4) Seifert und Müller, Taschenbuch.

5) Brugsch-Schittenhelm, Lehrb. d. klin. Diagnost. u. Untersuchungsmethoden.

6) Klopstock-Kowarsky, Prakt. d. klin. Diagnost. u. Untersuchungsmethoden.

7) Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, I.

8) Späth, Chem. u. mikr. Unters. d. Harns.

9) l. c.

10) Lorber, diese Zeitschr. 181, 366, 1927.

11) Im weiteren ist unter Nitroprussidprobe die von mir vorgeschriebene (l. c.) Rothera-Modifikation zu verstehen, welche empfindlicher ist als die ursprüngliche Legalsche.

vorhanden ist) hinzugeben, 2. wird der stark positiv reagierende Harn negativ, wenn wir den sogenannten acetonhaltigen Harn warm abdestillieren und das Destillat mit dem Harn wieder vereinigen, oder wenn wir die Probe mit dem im Destillat vorhandenem Aceton selbst ausführen. Nach dem Bisherigen ersehen wir, daß *die Nitroprussidprobe im Harn nicht Aceton bestimmt, die Legalsche Probe daher hierzu nicht geeignet ist.*

Die Nitroprussidprobe weist nur die Acetessigsäure im Harn nach; dies beweisen folgende Untersuchungen. Es ist bekannt, daß das Aceton durch Entlüften aus dem Harn vollkommen entfernt werden kann [*Schwarz*¹⁾, *Waldvogel*²⁾]. Dieses beweist auch folgendes Experiment: 100 ccm 1proz. Aceton enthaltender Harn verliert innerhalb 10 Minuten 15 Proz., innerhalb 45 Minuten 98 Proz. Aceton, wenn wir denselben bei 35° heftig durchlüften. Wenn wir aber pathologischen Harn, welcher eine intensive Nitroprussidprobe gibt, stundenlang durchlüften und denselben, um den Wasserverlust zu ersetzen, mit destilliertem Wasser auf sein ursprüngliches Volumen füllen, und wir danach mit diesem, sowie mit dem ursprünglichen, nicht durchlüfteten Harn quantitativ vergleichende Nitroprussidproben anstellen (siehe Abhandlung über quantitative Bestimmung der Acetessigsäure), so finden wir, daß beide quantitativ vollkommen übereinstimmen, d. h. die Menge der chemischen Substanz, welche die Nitroprussidprobe gibt, hat sich im Harn nicht verändert (ist nicht flüchtig), ferner, daß die Acetonmenge des Harns bei der Farbenänderung der Nitroprussidreaktion keinen Einfluß hat.

Sehr überzeugend ist folgendes Experiment: Wenn wir obigen Harn ein wenig angesäuert in einer Eprouvete zuschmelzen, dann auf 5 Minuten in siedendes Wasser stellen, nach erfolgter Abkühlung gut durchschütteln und die Eprouvete öffnen, hierauf mit dem so behandelten Harn die Nitroprussidprobe ausführen, finden wir, daß dieselbe negativ geworden ist. Die Ursache hiervon ist, daß die Acetessigsäure, welche allein die Probe gibt, in saurem Mittel bei höheren Temperaturen — im Gegensatz zum Aceton, das keine Veränderung erleidet — leicht zersetzlich ist, sich zersetzte und die aus derselben sich gebildete äquivalente Menge Aceton die Probe nicht gibt. Wenn wir 100 ccm 2prom. Gesamtaceton enthaltenden Harn abdestillieren und das Destillat in wenig Wasser oder in Normalharn auffangen und die Nitroprussidreaktion in demselben ausführen, erhalten wir eine im Verhältnis zum ursprünglichen Harn schwach positive Reaktion. Vergleichen wir quantitativ die im ursprünglichen Harn auftretende

1) *Schwarz*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 40, 168, 1897.

2) *Waldvogel*, Die Acetonkörper.

Farbenreaktion mit jener des Destillats, so finden wir, daß letzteres die Reaktion dreißigmal schwächer gibt. Hiernach besteht zwischen der Nitroprussidreaktion des ursprünglichen Harns und des Destillats quantitativ ein ebensolcher Zusammenhang als zwischen der Nitroprussidfarbenreaktion des Acetons und der Acetessigsäure (siehe quantitativer Teil). *Die Nitroprussidreaktion dient also in der qualitativen Chemie des Harns nicht zur Bestimmung des Acetons, sondern nur zum Nachweis der Acetessigsäure allein.*

Die Liebenschsche Jodoformprobe,

welche eine sehr empfindliche Probe des Acetons ist, wird allgemein ebenfalls unrichtig ausgeführt. Ein großer Teil der verschiedenen Hand- und Lehrbücher (*Strümpell, Mehring* usw.) erwähnt nicht einmal diese Probe als Acetonprobe, ein anderer Teil wieder empfiehlt, um dieselbe empfindlicher zu machen, das Abdestillieren des Harns (*Neubauer, Neuberg, Hammarsten* usw.). Wie wir aus dem unten Folgenden ersehen werden, ist der Nachweis des im Harn nur in minimalen Mengen vorhandenen Acetons nur allein mit der *Liebenschschen* Probe möglich; die Probe durch das umständliche Destillieren empfindlicher zu machen, ist unnötig, ja sogar unzulässig, denn dann wird die einzige im Harn brauchbare Acetonprobe wieder nicht Aceton nachweisen. Die *Liebenschsche* Probe und ihre verschiedenen Modifikationen, welche die Probe *im Destillat* des Harns ausführen, weisen Acetessigsäure und nicht Aceton nach. Dieses beweisen folgende Experimente:

Nehmen wir einen Harn, welcher, nach *Messinger-Huppert* bestimmt, 0,2prom. Gesamtaceton enthält, eine Nitroprussidprobe gibt und die *Liebenschsche* Probe, auf allgemein gebräuchliche Art (mit starker Lauge + einige Tropfen *Lugolsche* Lösung) durchgeführt, im Harn auf direkte Art nicht gibt. Wenn wir denselben in der Weise destillieren, daß wir das Destillat in Normalharn auffangen, so ist die in diesem Normalharn durchgeführte *Liebenschsche* Probe stark positiv geworden. Der Grund hiervon besteht nicht darin, daß das im Normalharn immer vorhandene Aceton mit jenem des destillierten Harns summiert die Probe gegeben habe. Wenn wir nämlich obigen Harn schwach ansäuern und in zugeschmolzener Epruvette 3 Minuten lang in siedendem Wasserbad halten, dann nach erfolgter Abkühlung die *Liebenschsche* Probe durchführen, bekommen wir eine starke Trübung, welche von Jodoform herrührt. Der Grund des Unterschieds in der Intensität der im Destillat und im ursprünglichen Harn durchgeführten Proben ist (bei der Vergleichung habe ich die *Liebenschsche* Probe auf weiter unten angegebene Art durchgeführt), daß wir im Destillat des Harns nicht nur das präformierte, sondern auch das von der Acetessigsäure abgespaltene Aceton vorfinden. Mit diesem Verfahren also weisen wir

wieder nicht Aceton, sondern Acetessigsäure nach; es darf daher, um präformiertes Aceton nachzuweisen, der Harn nicht destilliert werden.

Führt man die *Liebensch* Probe mit der unten angegebenen Modifikation aus, dann wird sie auch ohne Destillieren in jedem Harn, der die Nitroprussidprobe gibt, positiv ausfallen, also in Wirklichkeit das präformierte, nicht aber das von der Acetessigsäure durch das Destillieren abgespaltene Aceton nachweisen; überdies erkennen wir dann die Jodoformbildung nicht nur an dem Geruch, sondern an der allenfalls auftretenden Trübung bzw. dem Niederschlag.

Führen wir die Jodoformprobe, wie allgemein gebräuchlich, mit wenig Jod enthaltender *Lugolscher* Lösung aus, so kommt es, wie meine Untersuchungen zeigten, sehr oft vor, daß die übrigen Bestandteile des Harns das in der *Lugolschen* Lösung enthaltene wenige Jod gebunden haben, so daß davon zur Bildung des Acetonjodoforms nichts übrig blieb; so hat 1,0 ccm Normalharn 1,5 ccm Lugollösung in dem Maße gebunden, daß das Jod auch nach nachträglichem Ansäuern nicht frei geworden ist. Nimmt man also zur Probe, welche außerordentlich empfindlich ist, statt der Lugollösung eine stärkere Jodlösung, dann wird sie in jedem Aceton enthaltenden Harn positiv ausfallen.

Aus nachfolgender Überlegung erkennt man, daß man mit der *Liebensch* Probe nicht nur im Aceton enthaltenden pathologischen Harn, sondern auch das unter normalen Verhältnissen entleerte Aceton muß nachweisen können.

Aus dem Obigen haben wir nämlich schon gesehen, daß der Harn selbst, wenn hinreichend Jod vorhanden ist, den Eintritt der Reaktion nicht hindert; ferner wissen wir, daß die *Lieben*-Probe, in reiner, wässriger Acetonlösung ausgeführt — in einer Verdünnung von 1 : 200000 —, sofort eine starke Trübung zeigt (bei einem Verhältnis von 1 : 800000 entsteht nur eine schwache Trübung nach etwa 20 bis 25 Minuten). Dieses bedeutet so viel, daß, wenn in 1,5 Liter Harn 7,5 mg Aceton vorhanden sind, sofort Trübung auftreten muß. Aus älteren Untersuchungen [*Jaksch*¹⁾] wissen wir aber, daß Aceton sich auch unter normalen Umständen, wenngleich in sehr geringer Menge, im Harn entleert. *Jaksch* fand aus dem Destillat von mehreren Litern Harn, daß es beiläufig 10 mg pro Tag beträgt. Nach obigem müßte man also auch diese nicht pathologische Acetonmenge mit der Jodoformprobe nachweisen können. Mit der von mir empfohlenen Modifikation ist dieses auch in allen Fällen gelungen.

Die Probe habe ich so ausgeführt, daß ich zu 6 ccm Harn etwa 2 ccm 20proz. NaOH-Lösung hinzugegeben habe und, um die Mischung

¹⁾ *Jaksch*, Über Acetonurie und Diaceturie.

von dem entstandenen Phosphatniederschlag zu befreien, filtriert habe. Das Filtrat habe ich in zwei Eprouvetten verteilt und in die eine $\frac{2}{3}$ Parties etwa 1,5proz. (ungefähr n/10) Jodlösung gegeben; nachdem diese gut durchgeschüttelt worden, habe ich, um den entstandenen schwarzen Jodnitrogenniederschlag zu lösen, noch einige Tropfen Laugenlösung hinzugegeben; der vorhandenen Acetonmenge entsprechend, ist sofort oder nach kurzem Stehen Trübung entstanden, welche sich nach und nach verstärkte. Die Trübung wird sehr auffallend, wenn wir damit den anderen Teil des Filtrats vergleichen. Auf diese Weise habe ich in 20 Fällen Normalharn untersucht und in jedem Falle eine intensive Trübung, begleitet von starkem Jodoformgeruch, bekommen.

Das über die *Liebensch*e Jodoformprobe bisher Gesagte zusammengefaßt, ist dieselbe, mit der von mir vorgeschlagenen kleinen *Modifikation direkt im Harn ausgeführt, die allein brauchbare Acetonprobe im Harn. Alle jene Modifikationen, welche die Probe im Destillat ausführen, weisen nicht Aceton, sondern Acetessigsäure nach.*

Die *Frommersche* Probe aber, da sie bei 70° ausgeführt wird, ist zum Nachweis des Acetons im Harn ebenfalls ungeeignet, weil bei dieser Temperatur sich auch Aceton von der Diacetsäure abspaltet. Übrigens hat *Engfeldt*¹⁾ schon in einer älteren Arbeit nachgewiesen, daß die Probe auch Acetessigsäure nachzuweisen imstande ist.

Nachdem ich im bisherigen darauf hingewiesen habe, daß die qualitativen Acetonproben nicht Aceton, sondern Acetessigsäure im Harn nachweisen, gehe ich auf die bisher einzig zum Nachweis der Acetessigsäure im Harn angewendete

Gerhardt-Probe

über.

Wenn im acidotischen Harn in Wirklichkeit nicht Aceton, sondern Acetessigsäure vorhanden ist, warum ist dann jeder nach *Legal* positive Harn nicht auch mit FeCl_3 positiv?

Um auf diese Frage antworten zu können, müssen wir die nach *Gerhardt* negativen acidotischen Harne in zwei Gruppen teilen: 1. die wenig Acetessigsäure enthaltenden Harne, 2. die Acetessigsäure enthaltenden Harne, welche noch innerhalb der Empfindlichkeit der FeCl_3 -Probe fallen [*Lichtwitz*²⁾]. Die wenig Acetessigsäure enthaltenden sind mit FeCl_3 natürlich negativ, weil die dort vorkommenden Mengen außerhalb der Empfindlichkeit der *Gerhardt*-Probe fallen. Die zur zweiten Gruppe gehörenden Mengen aber können mit FeCl_3 deshalb nicht nachgewiesen werden, weil man die Proben bisher unrichtig erklärte oder durchführte. An sehr vielen Stellen lesen wir, daß die *Gerhardt*-Probe nur

¹⁾ *Engfeldt*, Berl. klin. Wochenschr. 1915, S. 18 u. 30.

²⁾ *Lichtwitz*, l. c.

dann positiv ist, wenn der Harn mit FeCl_3 eine bordeauxrote Farbe erhält [*Hammarsten*¹⁾, *Seifert-Müller*¹⁾, *Strümpell*¹⁾, *Hoppe-Seyler-Thierfelder*²⁾], an wenigen Stellen, daß auch die mahagonibraune Farbe auf Acetessigsäure hinweist [*Brugsch-Schittenhelm*³⁾]. Ferner lesen wir, daß den verschiedenen anderen Verbindungen, welche mit FeCl_3 eine Farbenreaktion geben, so unterschieden werden können, daß wir den Harn aufkochen, und wenn Entfärbung auftritt, so hat die Diacetsäure die Farbe gegeben. Einzelne führen dieses Aufkochen, in unrichtiger Weise, so aus, daß sie den mit FeCl_3 versetzten Harn in zwei Teile teilen und den einen Teil aufkochen; schwächt sich die Farbe, so sagen sie, die Reaktion sei positiv, wenn nicht, dann sei sie negativ.

Wenn wir die Probe richtig ausführen bzw. die entstandene Farbe richtig erklären, dann ist die *Gerhardt*-Probe bei Harnen, welche zu der oben erwähnten zweiten Gruppe gehören, immer positiv. Hinsichtlich der Ausführung der Probe ist folgendes zu bemerken: Die wässrige Lösung der Acetessigsäure gibt mit FeCl_3 — dem allgemeinen Enolreagens — weder eine burgundrote, noch eine mahagonibraune Farbe, sondern eine violette Farbe. Geben wir aber Acetessigsäure zum Harn und führen die Probe so aus, dann bekommen wir, je nach der Menge der Acetessigsäure, eine schwach gelbe oder eine dunkel mahagonibraune Farbe und bei viel Acetessigsäure eine dunkel-bordeauxrote Farbe. Diese Farbe verschwindet auf Ansäuern, erscheint aber auf Alkalisieren wieder.

Kocht man 1 bis 2 Minuten lang die angesäuerte Lösung und neutralisiert nach erfolgter Abkühlung von neuem, dann kehrt die braune Farbe — weil die Acetessigsäure sich zersetzt hat — nicht mehr zurück.

Besonders unrichtig ist jene Art der Untersuchung auf Acetessigsäure⁴⁾, wenn man den mit FeCl_3 gefärbten Harn in zwei Teile teilt, den einen Teil aufkocht und von der Farbenschwächung auf das Vorhandensein der Acetessigsäure folgert. Hierbei kommt es nämlich oft vor, daß der erwärmte Teil, statt sich zu entfärben, infolge der hydrolytischen Zersetzung des FeCl_3 eine noch dunklere Farbe annimmt und die etwaige Farbenschwächung vollkommen verdeckt wird.

Unter Berücksichtigung des oben Dargelegten muß die *Gerhardt*-Probe in folgender Weise ausgeführt werden:

Wir gießen gleiche Mengen (etwa 5 ccm) Harn in zwei Eprouvetten und säuern die eine mit $\text{n H}_2\text{SO}_4$ (10 Tropfen) an, kochen heftig auf

1) l. c.

2) *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, *Physiol.- u. pathol.-chem. Analyse*.

3) l. c.

4) *Späth*, l. c., S. 129.

(etwa 1 Minute lang), kühlen ab, neutralisieren mit n NaOH (die NaOH stellen wir auf n H_2SO_4 ein und halten beide in Tropfgläsern): zum nicht erwärmten Teile geben wir behufs Alkalisieren einen Tropfen NaOH. Hernach geben wir zu beiden etwa 10proz. $FeCl_3$ -Lösung. Vergleicht man die zwei Eprouvetten, so wird bei positiver *Gerhardt*-Probe die nicht erwärmte Eprouvette gelber bzw. röter sein als die Kontrollröhre. Führt man die Reaktion in dieser Weise aus, dann erhält man in jedem Falle ein positives Resultat in Harnen, welche eine mittelstarke *Legal*-Probe geben. In jedem nach *Legal* positiven Harn ist die Probe deshalb nicht positiv, weil sie weniger empfindlich als die Nitroprussidprobe ist¹⁾.

Zusammenfassung.

1. Die Nitroprussidreaktion und die *Liebensch*e Probe, welche letztere wir im Destillat des Harns ausgeführt haben, weisen im sogenannten acetonhaltigen Harn nicht Aceton, sondern Acetessigsäure nach.

2. Die *Liebensch*e Probe wurde in der Weise modifiziert, daß sie im Harn selbst ausgeführt werden kann und dann in Wirklichkeit Aceton nachweist.

3. Wurde die richtige Ausführungsart der *Gerhardt*schen Probe mitgeteilt.

¹⁾ Siehe über die Frage ausführlich: *Lorber*, diese Zeitschr. 181, 383, 1927.

Untersuchungen über die tautomeren Enol- und Ketoformen der Acetessigsäure.

Von
Leo Lorber.

(Aus dem Zentrallaboratorium der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Aus den bisherigen Untersuchungen geht unzweifelhaft hervor, daß mit dem Harn bei Acetonurie nicht Aceton, sondern Acetessigsäure entleert wird, bzw. daß das im Urin anwesende Aceton im Verhältnis zur Acetessigsäure verschwindend gering ist¹⁾. Auf Grund der mitgeteilten Untersuchungen ist aber auch evident geworden, daß auch die bei der Harnuntersuchung gebräuchliche Nitroprussidprobe Acetessigsäure nachweist. Doch kommt es häufig vor, daß neben der positiven Nitroprussidprobe die *Gerhardtsche* Probe, welche bei der Harnuntersuchung zum Nachweis der Acetessigsäure gebraucht wird, negativ war.

*Lichtwitz*²⁾ beschäftigte sich eingehender mit dem abweichenden Verhalten dieser beiden Proben der Acetessigsäure und nahm an, daß die beiden Proben auf die Anwesenheit zweier verschieden strukturierter Acetessigsäuren hinweisen. Nach ihm weist die Nitroprussidprobe die Keto-, die Ferrichloridprobe die Enolform nach. Diese Hypothese wurde seither von mehreren Autoren angenommen [*Krehl*³⁾, *Umber*⁴⁾]. *Lichtwitz* kann die Theorie nicht beweisen, zur Unterstützung derselben teilt er Angaben mit, welchen zufolge der positive Ausfall der Ferrichloridprobe der Acetessigsäure, vom Gehalt des Harns an Acetessigsäure in weiten Grenzen unabhängig ist. *Lichtwitz* zieht im Zusammenhang mit der Theorie auch die Folgerung, daß das Erscheinen der Enolform der Acetessigsäure im Harn das Zeichen einer schwereren Acidosis sei.

1) *Lorber*, diese Zeitschr. 181, 375, 1927.

2) *Lichtwitz*, Berl. klin. Wochenschr. 1915, S. 399.

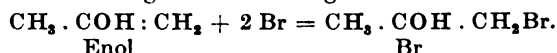
3) *Krehl*, Pathol. Physiol.

4) *Umber*, Stoffwechselkrankheiten.

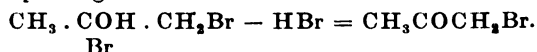
Im folgenden möchte ich mich mit den beiden Formen der Acetessigsäure beschäftigen, im Zusammenhang damit ferner auf die Fehler der obigen Theorie hinweisen.

Für die Ketone ist, älteren Untersuchungen zufolge, die CO-Gruppe charakteristisch, d. h. ihre chemische Form wird durch das Schema $R-CO-R$ veranschaulicht. Neuere Untersuchungen wiesen aber nach, daß die meisten Ketone nicht nur in der obigen sogenannten Ketoform anwesend sind, sondern von der Mischung der Enol- und Ketoformen gebildet werden. Für die Enolform ist eine Doppelbindung und die CHO-Gruppe charakteristisch. Bei der Acetessigsäure z. B. zeigt die Enolform $CH_3-COH=CH-COOH$, die Ketoform $CH_3-CO-CH_2-COOH$.

Die Anwesenheit dieser beiden Formen beim Aceton und dem Äthylester der Acetessigsäure konnte man schon bisher nachweisen¹⁾, bei diesen beiden Ketonen ist die Ketoform im Übergewicht, im Gegensatz zur Acetessigsäure, bei welcher, wie ich es im weiteren beweisen möchte, die Enolform dominiert. Beim Acetessigester verhalten sich beide zueinander nach den Untersuchungen *Meyers*²⁾ derart, daß in 100 Teilen 0,4 Enol-, 99,6 Ketoformen anwesend sind. Zusammen mit den strukturellen Unterschieden zeigen die beiden Formen auch sonstige chemische Differenzen. Im allgemeinen ist die Enolform infolge der Doppelbindung die reaktionsfähigere. Mit Ferrichlorid gibt sie violette Farbe, verschiedene Atome bzw. Atomkomplexe vermag sie aufzunehmen. Eine sehr wichtige Reaktion neben der Ferrichloridreaktion ist ihre brombindende Fähigkeit, welche mit dem Aceton nach folgender Gleichung abläuft:



Nach Abspaltung eines Moleküls HBr:



Dieses zufolge also bindet ein Enolmolekül zwei Atome Brom, während sie selbst die Ketoform annimmt.

*Mayer*³⁾ gebrauchte diese Reaktion in der Mischung der Enol- und Ketoformen zur quantitativen Bestimmung der Enolform. Infolge dieser Reaktion wird in der Lösung auch das Enol-Ketogleichgewicht gestört. Dieses gestörte Gleichgewicht jedoch wird bei den verschiedenen Ketonen nach kürzerer oder längerer Zeit wieder hergestellt durch die Bildung neuer Enolformen.

Nach den Untersuchungen *Meyers* ist dieser Prozeß ziemlich langsam, so daß er die Messung der Enolformen durch direkte Titration mit Bromlösung ausführt.

Bevor wir die Gleichgewichtsverhältnisse der Acetessigsäure im allgemeinen untersuchen, wollen wir dieselben in diaceturischen Harnen untersuchen, bei welchen der Gleichgewichtszustand nach *Lichtwitz* veränderlich wäre. Diese Hypothese ist schon a priori unwahrscheinlich, denn wir ersehen bereits aus dem Obigen, daß der Gleichgewichtszustand

¹⁾ *Gattermann*, Praxis des org. Chemikers 1925, S. 234.

²⁾ *Derselbe*, l. c.

³⁾ *Meyer*, Liebigs Ann. 1911, S. 380.

auch dann wieder hergestellt wird, wenn wir die quantitativen Verhältnisse beider Formen künstlich verändert haben; ferner auch auf Grund jener Untersuchungen *Mayers*, aus welchen wir wissen, daß der Enol-Ketogleichgewichtszustand bei gleichen physikalischen Verhältnissen in verschiedenen Lösungsmitteln konstant ist¹⁾.

Auf Grund der unten mitgeteilten quantitativen Messungen aber, nach denen die mit Nitroprussid und Ferrichlorid gemessene Acetessigsäure im Harn quantitative, vollkommen parallel sich ändernde Werte ergibt, können wir sagen, daß der Gleichgewichtszustand in den von mir untersuchten Harnen nicht veränderlich war, ferner, nachdem auch die reine Acetessigsäurelösung gegenüber den beiden Proben sich genau ähnlich verhielt, daß wir diese Gesetzmäßigkeit auf sämtliche Harne gleich zu Recht bestehend aussagen können.

Die quantitative Bestimmung der Acetessigsäure mit Ferrichlorid (nach *Lichtwitz* der Enolform).

Notwendige Lösungen:

1. 1 prom. Salicylsäurelösung.
2. 5 proz. Ferrichloridlösung.

3. Acetessigsäure, deren Bereitung nach *Ljungren*²⁾ folgenderweise geschieht: Von acetessigsäurem Äthylester messen wir 1,3 ccm ab, fügen 11 ccm NaOH dazu, nach 7 Stunden neutralisieren wir gegen Lackmus mit HCl und das Ganze füllen wir mit Wasser auf 100 ccm auf.

Die Entfernung des Alkohols ist hier nicht notwendig, weil derselbe die Reaktion nicht stört. Der Acetessigsäuregehalt der Lösung ist etwa 1 proz. Die Lösung wird auf Eis gehalten. Bei Gebrauch bestimmen wir den Titer mittels der mitgeteilten Makromethode³⁾, oder rascher mittels der FeCl_3 -Salicylsäure-kolorimetrischen Messung (s. weiter). Ich bemerke, daß der Titer der genau neutralisierten Lösung auch nach längerer Zeit nur wenig sinkt.

Die Ausführung der Bestimmung geschieht folgendermaßen:

Die neutralisierte Acetessigsäure oder ihr Salz wird in eine Epruvette gemessen, dazu 0,3 ccm von der Lösung 2 gegeben und das Ganze auf 10 ccm aufgefüllt. Die entstandene violette Farbe wird mit einer solchen Salicylsäurelösung (s. Lösung 1) verglichen, welche in 10 ccm ebenfalls 0,3 ccm FeCl_3 enthält. (Die Menge der zum Vergleich dienenden Salicylsäure wird durch die annähernde Konzentration der zu messenden Acetessigsäure bestimmt.)

¹⁾ *Gattermann*, l. c., S. 239.

²⁾ *Ljungren*, diese Zeitschr. 145, 422, 1924.

³⁾ *Lorber*, diese Zeitschr. 181, 366, 1927.

Da ich die Farbe des FeCl_3 + Salicylsäure 3.04mal stärker fand als die Farbe des FeCl_3 + Acetessigsäure, darum ergibt die die Farbengleichheit gebende mg-proz. Salicylsäuremenge multipliziert mit 3,04 die Acetessigsäuremenge in mg-proz.

Im Harn ist die Bestimmung auf so einfache Weise nicht ausführbar, denn 1. die Eisen-Acetessigsäure ist hier von brauner bzw. bordeauxroter Farbe, 2. der Harn hat eine saure Reaktion, endlich 3. im Harn gibt es auch andere, mit Eisen braune Farbe gebende Substanzen.

Die Elimination dieser drei störenden Momente erreichte ich folgenderweise:

1. Die zur Bestimmung der Acetessigsäure dienende genaue Acetessigsäure (s. weiter unten) gab ich ebenfalls zum Harn, wodurch die messende Lösung mit Eisen ebenfalls braune Farbenreaktion gab [allgemeine Kompensationsmethode¹⁾].

2. Ich alkalisierte ein wenig den Harn.

3. Die anderen mit Eisen eine braune Farbe gebenden Substanzen bestimmte ich besonders und zog sie ab vom Endresultat.

Zur Bestimmung der Acetessigsäure im Harn mittels der *Gerhardt*-schen Probe sind außer der obigen, mit 3. bezeichneten Acetessigsäurelösung noch folgende Lösungen erforderlich:

4. 10proz. FeCl_3 -Lösung.

5. Etwa n H_2SO_4 -Lösung.

6. Etwa n NaOH -Lösung (letztere beiden Lösungen muß man zueinander titrieren).

7. 1prom. Phenolrot oder 1proz. Phenolphthalein.

Die Ausführung der Bestimmung.

In jede von vier Eprouvetten messen wir 5 ccm Harn. In die erste Eprouvette geben wir drei Tropfen von der Indikatorlösung Nr. 7 und dann vom n NaOH so viel Tropfen, bis der Inhalt der ersten Eprouvette schwach alkalisch wird. Die zur schwachen Alkalisierung notwendige NaOH -Menge messen wir auch in die Eprouvetten Nr. 2, 3 und 4. Die erste Eprouvette ist zu den weiteren Manipulationen nicht mehr erforderlich. Dann geben wir 10 Tropfen von der n H_2SO_4 in das zweite Reagenzglas, stellen es auf 4 Minuten in siedendes Wasser, zwecks Zersetzung der Acetessigsäure, kühlen dann ab und fügen zwecks Neutralisation eine der 10 Tropfen H_2SO_4 äquivalente Menge NaOH (Lösung Nr. 6) hinzu und nach gutem Mischen 5 ccm FeCl_3 (Lösung Nr. 4). Die jetzt entstandene Farbe ist die Farbe der nicht aus Acetessigsäure entstandenen Stoffe mit FeCl_3 . In die dritte Eprouvette geben wir 5 ccm FeCl_3 ; hier erhalten wir die Farbe der anderen

¹⁾ Lorber, Allgemeines. Diese Zeitschr. 162, 354, 1925.

Stoffe + Acetessigsäure + FeCl_3 . Zur vierten Eprouvette messen wir außer den 5 ccm FeCl_3 auch aus der obigen genauen Acetessigsäure, deren Menge annähernd gleich sein soll mit dem Acetessigsäuregehalt der abgemessenen Menge Urins. Nachher füllen wir die Lösungen der Reagenzgläser Nr. 2, 3 und 4 auf gleiche Volumina auf und kolorimetrieren. Die Messungen führte ich mit dem *Autenrieth-Königsberger*-schen Kolorimeter aus, dessen ursprüngliche Skala ich zwecks Vereinfachung der Berechnung auf die in meinem Aufsatz: „Zwei einfache Methoden der quantitativen Bestimmung der Acetessigsäure“ ausführlich beschriebene Weise veränderte. Die Messungen gesehahen auf folgende Weise:

1. Den Inhalt des vierten Reagenzröhrchens füllte ich in den Keil, vom Inhalt des dritten Reagenzröhrchens gab ich ein wenig in die Küvette und führte die Kolorimetrie aus. Die der Farbgleichheit entsprechende Bruchzahl (der Skalenteil der neuen Einteilung) wird verzeichnet. Durch diese Messung wurde die gesamte Farbe der Acetessigsäure + andere Stoffe + FeCl_3 , in Acetessigsäure ausgedrückt, bestimmt. Nachher reinigen wir den Keil und die Küvette.

2. Jetzt gießen wir den Inhalt der dritten Eprouvette in den Keil und den der zweiten Eprouvette in die Küvette und kolorimetrieren. Die so erhaltene Bruchzahl, welche besagt, der wievielte Teil der braunen Farbe des Inhalts der dritten Eprouvette nicht von der Acetessigsäure stamme, wird gleichfalls notiert.

Aus den beiden Messungen wird der Acetessigsäuregehalt der abgemessenen Menge Harns folgendermaßen berechnet:

Die ganze braune Farbe, in Acetessigsäure gemessen, ergibt sich aus der allgemeinen Gleichung (l. c.) aus den Angaben der Messung Nr. 1:

$$x = a \frac{y}{z - y},$$

wobei a die hinzugegebene genaue Menge der Acetessigsäure in Milligrammen, z (die Konzentration der im Keil befindlichen Flüssigkeit) = 1 bedeutet, y ist der bei dieser Messung abgelesene Skalenteil (Bruchzahl). Wenn wir vom so berechneten x die nicht von Acetessigsäure herrührende braune Farbe (in Acetessigsäure ausgedrückt) abziehen, erhalten wir den Acetessigsäuregehalt der Lösung.

Der nicht auf Acetessigsäure entfallende Quotient kann leicht mittels der bei der Kolorimetrie Nr. 2 gefundenen Bruchzahl folgendermaßen berechnet werden: wenn die bei der Kolorimetrie gefundene Bruchzahl = n ist, so ist die nicht von Acetessigsäure stammende braune Farbe = $n \cdot x$, der *Acetessigsäuregehalt aber* = $x - n \cdot x$, oder aus obiger Gleichung Acetessigsäure = $a \frac{(y - n y)}{z - y}$.

Die mit dem Nitroprussid gegebene Farbenreaktion (nach *Lichtwitz* die Ketoform) maß ich mit der von mir mitgeteilten Methode¹⁾, jedoch gebrauchte ich, damit die Verhältnisse identisch mit der oben mitgeteilten FeCl_3 -quantitativen Methode seien, auch hier keine Vergleichslösung, sondern wandte auch hier die allgemeine Kompensationsmethode an auf folgende Weise: In zwei Reagenzgläser maß ich je 1 ccm des Harns, in das eine außerdem 1 ccm aus der oben beschriebenen genauen Acetessigsäurelösung (abhängig vom Acetessigsäuregehalt des Urins mehr oder weniger) und ergänzte beide auf 4 ccm. In zwei andere Eprouvetten maß ich je 5 ccm $(\text{H}_4\text{N})_2\text{SO}_4$, 0,5 ccm Nitroprussidlösung und 0,5 ccm Ammoniak. (Die ausführliche Beschreibung der Lösungen siehe l. c.) Den Inhalt der letzteren beiden Reagenzgläser goß ich auf einmal in die den Harn enthaltenden Eprouvetten. Nach gründlichem Durchschütteln kolorimetrieren wir (abhängig von der Intensität der entstandenen Farbe) nach 3 bis 5 Minuten. Der Acetessigsäuregehalt kann ebenfalls aus der Gleichung

$$x = a \frac{y}{z - y}$$

berechnet werden, wo a = die hinzugefügte Acetessigsäure in Milligrammen, $z = 1$, y = der am Kolorimeter abgelesene Skalenteil ist.

In mittels beider Methoden quantitativ verglichenen Urinen fand ich innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler die Acetessigsäure, d. h. nach *Lichtwitz* die Enol- und Ketoformen, vollkommen übereinstimmend. Ich bemerke, daß die durch die Vergleichung gewonnenen Resultate auch in absoluten Werten sehr gut mit dem auf jodometrischem Wege gemessenen Acetessigsäurewert übereinstimmten. Die untersuchten Harne stammten teils von Kranken mit alimentärer, teils mit diabetischer Acetonurie, deren Acetessigsäuregehalt sehr verschieden war.

Tabelle I.
Menge der Acetessigsäure.

Aus der FeCl_3 - Farbenreaktion Prom.	Aus der Nitroprussid- reaktion Prom.	Aus der FeCl_3 - Farbenreaktion Prom.	Aus der Nitroprussid- reaktion Prom.
0,402	0,384	1,030	1,00
0,172	0,191	2,930	3,030
0,545	0,560	3,530	3,500
0,840	0,830	0,472	0,443
0,340	0,360	0,750	0,720
0,562	0,587	1,900	1,920

¹⁾ *Lorber*, l. c.

Wir ersehen also aus den vergleichenden Werten der Tabelle, daß im Gegensatz zu den Ergebnissen *Lichtwitz'*, die beiden Reaktionen quantitativ vollkommen parallel gehen. Demzufolge sind auch die von *Lichtwitz* gezogenen Schlüsse nicht zu Recht bestehend. Ich sehe den Grund der Abweichung zwischen den Untersuchungen von *Lichtwitz* und den obigen Messungen in der unrichtigen Ausführung der FeCl_3 -Probe. *Lichtwitz* stellte nämlich seine eben erwähnte Theorie auf Grund derjenigen Untersuchungen auf, aus denen er sah, daß es Harne gibt, welche quantitativ weit über die Empfindlichkeit der FeCl_3 -Probe sich erhebende Menge Acetessigsäure enthalten und die qualitative Probe dennoch negativ war. Die Ursache dieser Abweichung kann natürlich außer der Verminderung der Enolform auch die Außerachtlassung der Reaktionsbedingungen sein.

Da wir von der FeCl_3 -Probe wissen, daß sie die spezifische Probe der Enole ist, ferner da wir den obigen Messungen zufolge mit der FeCl_3 - und Nitroprussidprobe identische Werte erhielten, könnten wir denken, daß auch die Nitroprussidprobe bloß die Enole anzeige. Der Parallelismus macht die Hypothese nicht sicher, denn es handelt sich um einen Gleichgewichtszustand, wo bei Änderung der Gesamtmenge der Acetessigsäure auch die proportionale Veränderung der zusammensetzenden Teile eintritt.

Die gleichzeitige Anwendung der Brommethode (*Mayer*) und der Nitroprussidprobe gibt uns Gelegenheit, die Hypothese vollständig zu verifizieren.

Wir wissen nämlich (s. oben), daß 1 Molekül Enol 2 Atome Brom bindet, währenddessen es sich in die Ketoform umlagert, und meine früheren Untersuchungen zeigten, daß die bromierte Acetessigsäure die Nitroprussidprobe nicht gibt.

Wenn wir also zu einer bekannten Quantität Acetessigsäure eine Bromlösung von bekannter Konzentration hinzufügen, so sinkt mit der Menge des Broms proportional die Enolform, also muß auch — nach der Hypothese — die Nitroprussidprobe proportional abnehmen. Nach dem folgenden Versuch ist es in der Tat so. Den Versuch führte ich so aus, daß ich eine genau bekannte Acetessigsäurelösung in zwei Reagenzgläser maß, zu dem einen eine genau bekannte Br-Lösung gab, mit beiden die Nitroprussidreaktion ausführte und das Verhältnis der entstandenen Farben bestimmte, und zwar so, daß ich die bromierte Lösung in die Küvette, die ursprüngliche jedoch in den Keil goß. Die abgelesene Bruchzahl am Kolorimeter (siehe l. c.) multipliziert mit der ursprünglichen Menge der Acetessigsäure ergibt die die Nitroprussidreaktion gebende Acetessigsäure.

Tabelle II.

n/200 Acet- essigsäure	Hinzugefügte n/200 Br-Lösung	Die mit der Nitro- prussidprobe gefundene	Die aus dem hinzugefügtem Br berechnete
ccm	ccm	Verminderung des Enols	
0,92	0,44	0,20	0,22
0,92	0,88	0,415	0,44
0,92	1,76	0,83	0,88
1,00	2,10	1,00	1,05

Da laut der Tabelle der mit dem Nitroprussid gemessene Verlust an Acetessigsäure vollkommen mit dem aus dem hinzugefügten Brom berechneten Enolverlust übereinstimmt, folgt hieraus, daß die Nitroprussidprobe ähnlich der FeCl_3 -Probe eine Enolprobe ist. Aus dem Versuch ersehen wir auch, daß die Diacetsäure in der größten Menge in Enolform vorhanden ist.

Zusammenfassung.

1. In acetonurischen Harnen gehen die FeCl_3 - und die Nitroprussidprobe quantitativ vollkommen parallel.
2. Die Nitroprussidprobe ist analog der FeCl_3 -Probe eine Enolprobe.
3. Die Acetessigsäure ist überwiegend in Enolform vorhanden, sowohl im Urin als in reiner Diacetylösung.
4. Die Ursache der Verschlechterung des acidotischen Zustandes ist nicht das Auftreten einer Acetessigsäure von neuerer Struktur (Enol) (nach *Lichtwitz*).
5. Ich teile die quantitative Bestimmung der *Gerhardt*-Probe der Acetessigsäure in reinen Diacetylösungen und im Urin mit.

Einfache mikro-kolorimetrische Eisenbestimmungsmethode.

Von
Leo Lorber.

(Aus dem Zentrallaboratorium der jüdischen Gemeinde in Budapest.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

Die allgemein gebräuchlichen Makromethoden sind zur Bestimmung des Eisens in den verschiedenen Körperflüssigkeiten, z. B. im Blut, nicht geeignet, da deren Ausführung, abgesehen von ihrer Umständlichkeit, auch viel Materie benötigen.

Die ältesten Mikromethoden, welche die rote Farbe des Eisenrhodans zu qualitativen Bestimmungen anwenden [*Jolles*¹⁾], geben, wie schon längst bewiesen ist²⁾, keine genauen Werte. Die neueren Methoden [*Autenrieth*³⁾ u. a.], welche ebenfalls die obengenannte $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ -Reaktion zur Kolorimetrie anwenden, benötigen zwar wenig Blut, sind aber noch ziemlich umständlich; die von *Autenrieth* gebrauchte Extraktion mit Äther erschwert das präzise Arbeiten sehr. Die Methode, welche ohne Extraktion arbeitet [*Pincussen*⁴⁾], nimmt keine Rücksicht auf die Acidität der zu untersuchenden Lösungen. Wir wissen aber, daß die Intensität des $\text{Fe}(\text{SCN})_3$ neben Eisengehalt auch vom Säuregehalt der Lösung abhängig ist.

Mit Rücksicht auf das oben Erwähnte teile ich in der Folge eine sehr einfache Eisenbestimmungsmethode mit, bei welcher 1. wenig Materie benötigt wird, 2. die nur 10 bis 12 Minuten dauert, 3. bei der die zur Zerstörung der vorhandenen organischen Stoffe notwendige Säure auf die Kolorimetrie keinen Einfluß ausübt.

Die Methode im allgemeinen.

Es wird die Reaktion von Eisen und Sulfosalicylsäure zur Kolorimetrie verwendet. Die hier entstandene Farbe wird aber ebenfalls durch Säuren beeinflusst; geben wir aber zur Eisensulfosalicyllösung im Überschuß $(\text{H}_4\text{N})\text{O H}$ -Lösung hinzu, so geht die rote Sulfosalicyl-eisenfarbe in eine sehr schöne gelbe Farbe über, welche von der Eisenkonzentration abhängig und von der Konzentration des Ammoniaks

¹⁾ *Neubauer*, Analyse des Harns, 11. Aufl., S. 188.

²⁾ *Krüß*, Kolorimetrie und Spektralanalyse. Hamburg 1891; *Schwenkenbaker*, Arch. f. klin. Med. 75, 3. bis 5. Heft.

³⁾ *Autenrieth* und *Funk*, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 14.

⁴⁾ *Pincussen*, Mikromethodik.

in weiten Grenzen unabhängig ist. In verdünnten wässrigen Lösungen wird das Eisen (in Ferro- und Ferriverbindung) einfach durch Hinzufügen der Reagenzien kolorimetrisch bestimmt. Das organisch gebundene Eisen muß zuerst mit dem weiter unten beschriebenen, einfachen Verfahren in Freiheit gesetzt und hernach ebenso bestimmt werden.

Die zur Bestimmung notwendigen Gefäße.

1. Mit 5,0 bzw. 10,0 ccm bezeichnete, 20,0 cm hohe und 20 mm weite Eprouvetten aus Jenaer Normalglas.
2. Eine kalibrierte Pipette zum Abmessen von 0,1 ccm Blut.
3. Kolorimeter.

Notwendige Lösungen.

1. 0,1 prom. Eisenlösung: die wir so herstellen, daß wir 0,497 g von mit Alkohol gefälltem $\text{FeSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$ oder von $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2(\text{NH}_4)_2 + 6 \text{aq.}$ (Mohrsches Salz) 0,7032 g in 1 Liter destillierten Wassers lösen, in welches wir 3 bis 4 Tropfen konzentrierter H_2SO_4 gegeben.

2. Eine 20proz. Sulfosalicylsäurelösung. (Bei Harnanalysen gebraucht).

3. Eine 10proz. offizinelle Ammoniaklösung.

4. Zur Zerstörung von organischen Substanzen eine aa-Mischung von konzentrierter H_2SO_4 und HNO_3 .

Die Reagenzien sollen eisenfrei sein und sollen nach obiger Reaktion keine Gelbfärbung geben. Sie sind jedoch, wenn auch nicht eisenfrei, brauchbar, wenn nur deren Eisengehalt bekannt ist. Den Eisengehalt können wir mit dem weiter unten angegebenen Verfahren bestimmen.

Bestimmung des anorganischen, im Ionenzustande anwesenden Eisens.

Die auf Eisen zu untersuchende Lösung wird in einem Reagenzglas abgemessen; dann fügen wir dazu 0,4 ccm von Lösung 2 und ebensoviel von Lösung 3. Die Mischung wird mit destilliertem Wasser so ergänzt, daß in 1 ccm nicht mehr als 0,05 mg Fe sei.

Die entstandene gelbe Farbe wird im Kolorimeter mit einer aus Lösung 1 ebenso bereiteten und bekannten Eisenlösung verglichen. Die Vergleichslösung soll ungefähr so viel Eisen enthalten, wie die zu untersuchende; die Berechnung geschieht nach den allgemeinen Regeln der Kolorimetrie.

Bestimmung des organisch gebundenen Eisens.

Bestimmung im Blut. Das Blut wird, ähnlich dem Reststickstoffverfahren von *Acél*, im Reagenzglas aus Jenaer Glas zerstört. Das Blut messen wir mit der in 0,1 ccm kalibrierten Pipette in eine trockene

Jenaer Eprouvette, geben dazu von der Säuremischung 0,25 ccm. Die Mischung wird anfangs vorsichtig hoch über die Flamme gehalten und gekocht. In die Öffnung des Reagenzglases geben wir ein wenig angefeuchtete Watte, um die starken SO_2 - und NO_2 -Dämpfe zu verschlucken. Wenn die Mischung stärker spritzt oder knallt, dann halten wir die Eprouvette höher über der Flamme. Während des Kochens ist das Gemisch farblos oder schwach gelb; gegen Ende der Zerstörung wird es etwas stärker gelb oder manchmal auch braun. Tritt diese stärker gelbe (braune) Farbe auf, so halten wir das Reagenzglas unmittelbar in die Flamme und kochen weiter, bis die Mischung farblos wird. Wird das Gemisch nach längerem Kochen nicht farblos, so geben wir einen Tropfen 33proz. H_2O_2 -Lösung dazu. Das H_2O_2 tropfen wir unmittelbar ins Gemisch und achten darauf, daß nur wenig davon auf die Wand des Reagenzglases kommen soll, und kochen 1 bis 2 Minuten weiter. Allgemein dauert eine Zerstörung nicht länger als 3 Minuten. Nachdem die Zerstörung beendet ist und das Gemisch abgekühlt worden ist, geben wir ungefähr 3 ccm destilliertes Wasser dazu und kochen noch 2 Minuten weiter. Dieses Kochen ist sehr wichtig, denn hierbei geht das am Reagenzglas angelegte Eisen in Lösung, ohne welche nämlich das Eisen die obige Reaktion nicht gibt.

Nun wird das Gemisch unter Wasser abgekühlt und 8 Tropfen (0,4 ccm) Sulfosalicylsäure hinzugefügt; dann so viele Tropfen H_4NOH hinzugegeben, bis die anfangs entatandene rote Farbe in eine lebhaft gelbe Farbe überschlägt, wozu ungefähr 0,6 bis 0,7 ccm H_4NOH nötig sind. (Ein weiteres Eintropfen ändert an der Farbe nichts.) Das Ganze wird auf 5 ccm, oder bei viel Eisen auf 10 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Diese Lösung wird kolorimetrisch mit einer Lösung verglichen, welche in 1 ccm 0,01 mg Eisen enthält. Diese wird so hergestellt, daß wir aus Lösung 1 10 ccm abmessen, je 4 ccm aus Lösung 2 und 3 hinzufügen und das Ganze mit destilliertem Wasser auf 100 ccm ergänzen; diese Lösung enthält in 1 ccm 0,01 mg Fe.

Nach den allgemeinen Regeln der Kolorimetrie gibt die der Farbengleichheit entsprechende Menge Fe multipliziert mit der Verdünnung (5 oder 10) die in 0,1 ccm Blut enthaltene Eisenmenge.

Mit dieser Methode können wir in verdünnten Lösungen das Eisen ebensogut im Ferro- wie im Ferrizustande bestimmen; in verdünnten Lösungen wird nämlich das Ferroeisen zu Ferri oxydiert und so durch die Reaktion bestimmt. Konzentriertere Ferrolösungen werden durch einen Tropfen H_2O_2 oder etwas Chlorwasser zu Ferri oxydiert. In diesem Falle muß aber die Lösung länger kochen, um das in Überschuß gebliebene Oxydationsmittel aus der Lösung zu entfernen, da die Oxydationsmittel die Reaktion dadurch stören, daß sie die schöne gelbe Farbe bräunen. Unter den übrigen Metallen stören Kupfer,

Nickel und Kobalt die Reaktion, wenn sie in größerer Menge vorhanden sind; dieselben geben nämlich unter obigen Voraussetzungen ebenfalls eine, jedoch grüne oder braune Farbenreaktion. Diese Stoffe sind in den Körpersäften niemals vorhanden; aus Legierungen oder Mineralien, wo sie in größeren Mengen vorhanden sind, muß man sie nach entsprechenden Verfahren entfernen. Die mit Kupfer entstandene grüne Farbe wird mit einigen Tropfen 5proz. KCN-Lösung leicht beseitigt.

Ich weise wiederholt darauf hin, daß es sehr wichtig ist, bei der Bestimmung des Eisen noch vor Hinzugabe der Sulfosalicylsäure in vollständig gelösten Zustand zu bringen; wir müssen deshalb neutrale Eisensalzlösungen vor der Reaktion mit H_2SO_4 ein wenig ansäuern, um das durch Hydrolyse entstandene $Fe(OH)_3$ zu lösen.

Die folgende Tabelle enthält die Ergebnisse einiger Bestimmungen, welche ich mit der Methode ausgeführt habe. Es wurden mit der Methode 1. genau gemessene Eisenlösungen bestimmt, 2. das im Blute gebundene Eisen gemessen und mit den Resultaten der Makromethode nach *Neumann* verglichen. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, gab die Bestimmung gut übereinstimmende Resultate.

Eisenmenge in mg	
Mit der Methode bestimmt	Genau gemessen
0,051	0,051 8
0,027	0,027 7
0,0425	0,042 16
0,071	0,071 08
Zu Harn gemessen und bestimmt	
0,872	0,890
1,777	1,780
3,559	3,560
4,600	4,450
Im Blut	Nach <i>Neumann</i> bestimmt
0,038 22	0,039 0
0,031 75	0,032 72
0,030 8	0,030 7
0,049 95	0,050 7
0,055 2	0,054 0
0,064 1	0,064 0
0,045 0	0,047 4
0,028 5	0,028 4
0,042 4	0,043 4
0,047 8	0,047 8

Über den Stoffwechsel der Leucocyten.

Von

W. Fleischmann und Fritz Kubowitz.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1926.)

I. Frühere Arbeiten über den Stoffwechsel der Leucocyten.

P. A. Levene und G. M. Meyer¹⁾ entdeckten die glykolytische Wirkung der Leucocyten. Ihr Versuchsmaterial waren Exsudatleucocyten, die Suspensionsflüssigkeit neutrale Phosphatlösung. Ihre Arbeit behandelte noch nicht die quantitative Seite des Stoffwechsels.

E. Grafe²⁾ untersuchte die Atmung leukämischen Blutes und fand, daß es stärker atmet als normales Blut. Aus seiner Arbeit folgte, daß die Leucocyten einen erheblichen oxydativen Stoffwechsel haben.

A. Bakker³⁾ untersuchte die Atmung und die Milchsäurebildung von Exsudatleucocyten. Die Atmung (Q_{O_2}) findet er gleich 0,4, die Gärung ($Q_M^{O_2}$) etwa gleich 6.

II. Methoden.

Zur Gewinnung von *Blutleucocyten* verwendeten wir Gänse. Die Tiere wurden entblutet, ihr Blut in Citratlösung nach H. J. Hamburger⁴⁾ aufgefangen (0,7 g NaCl + 1,1 g Na₃-Citrat + 100 ccm Wasser. Von dieser Lösung 1 Volumen + 3 Volumen Blut). Dann wurde kurz zentrifugiert, wobei sich die roten Blutzellen schneller absetzen als die weißen. Die Leucocytensuspension wurde von dem roten Sediment abgehoben und nötigenfalls durch weiteres kurzes Zentrifugieren konzentriert. Die Verunreinigung mit roten Blutzellen wurde kolori-

¹⁾ P. A. Levene und G. M. Meyer, Journ. Biol. 11, 361, 1912.

²⁾ E. Grafe, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 102, 406, 1911.

³⁾ A. Bakker, Dissertation Groningen 1926.

⁴⁾ Abderhaldens Arbeitsmethoden.

metrisch bestimmt, durch Vergleich mit Färbungen, die bekannte Volumina roter Blutzellen erzeugten, und zwar nach Wasserhämolyse und Zentrifugieren eines aliquoten Teiles der Zellsuspension. Die Verunreinigung betrug bis zu 10 Proz. Bei dem geringen Stoffwechsel der roten Blutzellen¹⁾ war nicht ihr Stoffwechsel, sondern nur ihr Gewicht bei der Berechnung des Leucocytenstoffwechsels zu berücksichtigen. Das Gewicht der Leucocyten wurde durch Zentrifugieren eines aliquoten Teiles in einem graduierten Röhrchen bestimmt, nachdem das Verhältnis zwischen Volumen und Trockensubstanz gemessen worden war.

Zur Gewinnung von *Exsudatleucocyten* verwendeten wir Kaninchen und verfahren nach der Vorschrift von *H. J. Hamburger*. 200 ccm steriler (bicarbonatfreier) Ringerlösung wurden in die Bauchhöhle injiziert. Nach 24 Stunden wurde die Injektion wiederholt. 3 bis 6 Stunden nach der zweiten Injektion wurde die Bauchhöhle punktiert und das Exsudat in Citratlösung aufgefangen, wobei die Mischungsverhältnisse die gleichen waren, die oben für Blut angegeben sind. Die so gewonnenen Leucocyten waren fast ausschließlich polynucleäre. Vorwiegend mononucleäre erhielten wir, gleichfalls nach *Hamburger*, durch Injektion von 75 ccm sterilem Paraff. liquid. in die Bauchhöhle. Nach 9 Tagen wurde das Kaninchen punktiert und die Bauchhöhle mit Ringerlösung ausgewaschen. Das Paraffin des Exsudats wurde durch Zentrifugieren entfernt. Rund 75 Proz. der in diesem Exsudat enthaltenen Leucocyten waren mononucleäre, der Rest polynucleäre. Die Verunreinigung mit Blut in sachgemäß gewonnenen Exsudaten war ganz zu vernachlässigen.

Wäscht man das Citrat fort und ersetzt es durch Serum oder Ringerlösung, so verkleben die Leucocyten und werden für Stoffwechselfmessungen ungeeignet. Deshalb haben wir unsere Messungen in Citratlösung ausgeführt. Schädigt das Citrat den Stoffwechsel — wofür wir keine Anhaltspunkte gefunden haben —, so sind die von uns angegebenen Werte Minimalwerte und die wahre Atmung und Gärung liegen noch höher.

Die Messung des Stoffwechsels geschah manometrisch, nach den für Serum beschriebenen Methoden²⁾, anaerob mit Hilfe eines Einzelgefäßes, aerob mit Hilfe eines Gefäßpaares. Zu beachten war folgendes:

1. Die Citratringerlösungen waren mit 5 Vol.-Proz. Kohlensäure gesättigt. Die durch das Citrat bewirkte Retention war zu vernachlässigen.

¹⁾ Nach *E. Negelein*, diese Zeitschr. 158, 121, 1925 ist Q_{O_2} für die roten Blutzellen normaler Gänse = 0,58, $Q_M^{N_2} + 0,41$.

²⁾ *O. Warburg*, Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin, J. Springer, 1926.

2. In den anaeroben Versuchen wurden die Gasmischungen über glühendem Kupfer vom Sauerstoff befreit.

3. In den aeroben Versuchen wurden die Zellkonzentrationen, nicht die Zellmengen, konstant gehalten. In die beiden Gefäße des Paares wurden je 7 und 3 ccm derselben Leucocyten suspension eingefüllt. Zur Berechnung waren die beobachteten Ausschläge zunächst auf gleiche Zellmengen umzurechnen.

Im übrigen sei auf die Protokolle verwiesen, in denen je ein Versuch mit Blutleucocyten und mit Exsudatleucocyten ausführlich wieder gegeben ist¹⁾.

III. Ergebnisse.

Die folgende Tabelle enthält das Ergebnis von acht Versuchen.

Versuchstemperatur 37,5°.

Art der Leucocyten	Q_{O_2}	$Q_M^{O_2}$	$Q_M^{N_2}$	Bemerkungen
Weiße Blutzellen der Gans	— 3,6	+ 2,1	+ 9,0	Protokoll 1
	— 5,2	+ 1,4	+ 16	
	— 4,4	+ 0,8	+ 7,4	
	— 4,3	+ 3,0	+ 14	
Exsudatleucocyten des Kaninchens (Ringerexsudat)	— 4,8	+ 19	+ 32	Protokoll 2
	— 3,5	+ 10	+ 13	
	— 4,8	+ 14	+ 18	
Exsudatleucocyten des Kaninchens (Paraffinexsudat)	— 4,9	+ 13	+ 30	

In der Tabelle ist bemerkenswert:

1. Die anaerobe Gärung ($Q_M^{N_2}$) liegt zwischen 7 und 32, was bedeutet, daß pro Stunde 2,8 bis 12,8 Proz. des Leucocytentrockengewichts an Milchsäure gebildet wurden. Der Höchstwert ist sehr nahe²⁾

¹⁾ Wenn es auch, nach allen vorliegenden Erfahrungen, fast überflüssig schien, die manometrische Milchsäurebestimmung mit einer chemischen Milchsäurebestimmung zu vergleichen, so haben wir doch in einem Versuch, nachdem die Drucke abgelesen waren, den Milchsäurezuwachs jodometrisch nach Clausen bestimmt und ihn dem manometrisch bestimmten gleichgefunden.

²⁾ O. Warburg, Stoffwechsel der Tumoren. Nach den neuesten Arbeiten von Carrel und von A. Fischer, scheint es, daß die Ursprungszellen des Roussarkoms Leucocyten sind. Die große anaerobe Gärung der Leucocyten ist auch in dieser Hinsicht von Interesse.

gleich der anaeroben Gärung junger Embryonen oder gleich der mittleren anaeroben Gärung der Tumoren.

Was die Schwankungen der Gärungswerte anbetrifft, so hängen sie nicht mit der Versuchstechnik, sondern mit der Natur der Zellen — vielleicht mit ihrer Jugend — zusammen.

2. In normalen Gewebezellen ist $Q_M^{N_2}$ in der Regel kleiner oder gleich $2 Q_{O_2}$, was bedeutet, daß die Atmung imstande wäre, die Gärung zum Verschwinden zu bringen. Eine Ausnahme machen die roten Blutzellen der Säugetiere (nicht die kernhaltigen der Vögel) und, wie die Tabelle lehrt, auch die weißen Blutzellen. In den roten und weißen Blutzellen ist $Q_M^{N_2}$ größer als $2 Q_{O_2}$. Für die roten Blutzellen wissen wir, daß dieser Zustand sich im Laufe des Zugrundegehens im Kreislauf herausbildet und daß ihre Atmung in der Jugend größer¹⁾ ist. Für die weißen Blutzellen ist ein gleiches zunächst nicht zu beweisen, aber wahrscheinlich, wenn wir sehen, daß die Abweichung von dem Normalzustand im Exsudat größer ist als im Blut.

3. Sowohl die Atmung, als auch die Gärung sind weitaus größer, als sie *Bakker* fand. Die Atmung ist rund 10 mal größer (Q_{O_2} etwa 4,0 gegen 0,4).

IV. Protokolle.

Protokoll I.

Leucocyten aus Gänseblut, gemessen in Citratplasma, dem 2 g Glucose pro Liter zugesetzt war. 37,5° C. Bicarbonatgehalt: $2,8 \cdot 10^{-2}$ Mole/Liter. 3 ccm Suspension enthielten 7,0 mg Leucoxytrockensubstanz.

	Gefäß A	Gefäß B	Gefäß C
Gaarsum	5 Proz. CO ₂ in Luft	5 Proz. CO ₂ in Luft	5 Proz. CO ₂ in N ₂
Volumina ccm	$V_F = 7,0$ $V_G = 6,44$	$V_F = 3,0$ $V_G = 9,96$	$V_F = 3,0$ $V_G = 9,61$
Gefäßkonstanten . . qmm	$K_{O_2} = 0,584$ $K_{CO_2}^{Ringer} = 0,945$ $\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_C = 0,046$ $K_{CO_2} = 1,267$	$k_{O_2} = 0,883$ $k_{CO_2}^{Ringer} = 1,038$ $\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_C = 0,046$ $k_{CO_2} = 1,176$	$k_{CO_2}^{Ringer} = 1,007$ $\left(\frac{\Delta u}{\Delta p}\right)_M = 0,064$ $k_{CO_2} = 1,199$
Druckänderung in 30'	$H = -11,5$ mm	$h = +5,5$ mm	$h = +39$ mm
" " 30'	$H = -10,5$ mm	$h = +5,5$ mm	$h = +41$ mm
	$Q_{O_2} = -4,27$ $Q_M^{O_2} = +3,28$		$Q_M^{N_2} = +13,7$

¹⁾ *O. Warburg*, Hoppe-Seyler 59, 112, 1909; *P. Morawitz*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 60, 298, 1909; *E. Negelein*, diese Zeitschr. 158, 121, 1925.

Protokoll II.

Kaninchen-Exsudatleucocyten, fast ausschließlich polynucleäre, gemessen in Citratexsudat, dem pro Liter 2 g Glucose zugesetzt war. 37,5° C. Bicarbonatgehalt: $3,2 \cdot 10^{-2}$ Mole/Liter. 3 ccm Suspension enthielten 2,25 mg Leucocytentrockensubstanz.

	Gefäß A	Gefäß B	Gefäß C
Gaaraum	5 Proz. CO ₂ in Luft	5 Proz. CO ₂ in Luft	5 Proz. CO ₂ in N ₂
Volumina ccm	$V_F = 7,0$ $V_G = 6,44$	$V_F = 3,0$ $V_G = 10,76$	$V_F = 3,0$ $V_G = 9,61$
Gefäßkonstanten . . qmm	$K_{O_2} = 0,584$ $K_{CO_2} = 0,945$	$k_{O_2} = 0,953$ $k_{CO_2} = 1,108$	$k_{CO_2} = 1,007$
Druckänderung in 30'	$H = + 29,0$ mm	$h = + 12,5$ mm	$h = + 20,0$ mm
" " 30'	$H = + 32,0$ mm	$h = + 14,5$ mm	$h = + 19,0$ mm
	$Q_{O_2} = - 4,84$ $Q_M^{O_2} = + 14,26$		$Q_M^{N_2} = + 17,45$

Zum Schluß sprechen wir Herrn *Otto Warburg* für die Hilfe bei dieser Arbeit unsern Dank aus.

Kritisches und Experimentelles über die Bestimmung des Nucleinsäuregehalts von Organen.

Von

Nikolaus Alders.

(Aus der Abteilung für physiologische Chemie im Wiener physiologischen Universitätsinstitut.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1926.)

Da keine Reaktionen der Nucleinsäure bekannt sind, die ihre *direkte Bestimmung in Organen* mit ausreichender Schärfe gestatten würden, so muß ihre quantitative Bestimmung auf die eines ihrer *Bestandteile* zurückgeführt werden. Dabei ergibt sich von vornherein eine Schwierigkeit: Die ermittelte Komponente (Purinbasen, Phosphorsäure) kann in dem untersuchten Organ auch *frei, d. h. nicht nur als Bestandteil der Nucleinsäure* (N.S.) enthalten sein und so bei der Umrechnung auf die N.S.-Formel einen zu hohen Gehalt an N.S. vortäuschen.

Für *Pyrimidinbasen* fehlt noch jede Bestimmungsmethode; im hiesigen Institut ausgeführte Versuche, N.S. aus ihrem *Kohlehydratgehalt* zu bestimmen, haben vorläufig zu keinem praktisch verwertbaren Resultat geführt.

Im folgenden werden zuerst die wichtigsten Bestimmungsmethoden der *Purinbasen* einer experimentellen Kritik unterzogen und dann der Versuch gemacht, die Bestimmung des N.S.-Gehalts von Organen auf die Ermittlung des N.S.-*Phosphors* zurückzuführen.

Als Grundlage unserer Berechnung diene uns die Formel *Levenes* (1) für die tierische N.S.

I. Kritik der Bestimmungsmethoden für Purinbasen.

Aus der erwähnten N.S.-Formel ergibt sich ein Molekulargewicht von 1421; von den 15 Stickstoffatomen der N.S. entfallen $10 N = 140$ auf die Purinbasen Adenin und Guanin. Durch Multiplikation des in einem Organ bestimmten Purinbasenstickstoffs mit 10 ergibt sich

somit fast genau der N.S.-Gehalt des Organs, *unter der Voraussetzung, daß alle Purinbasen desselben Bestandteile der N.S. sind.*

Da nun einerseits diese Voraussetzung sicher nicht zutrifft, andererseits keine fixe Relation zwischen „freien“ und „gebundenen“ Purinbasen besteht, erscheint uns die Ermittlung des N.S.-Gehalts eines Organs durch Bestimmung seiner Purinbasen *schon aus dem angeführten Grunde nicht exakt.*

Dazu kommt noch, daß — wie gleich gezeigt werden soll — die bestehenden *Methoden* für die Purinbasenbestimmung *nichts weniger denn einwandfrei* sind.

1. Die Fällung der Purinbasen mit CuSO_4 und NaHSO_3 .

Diese von *Krüger* und *Wulff* (2) empfohlene Methode besteht darin, daß die durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in Freiheit gesetzten Purinbasen bei schwach essigsaurer Reaktion durch ein Gemisch gleicher Teile 10proz. Kupfersulfat- und 30proz. Natriumbisulfitleösung niedergeschlagen werden. Der Niederschlag wird ausgewaschen, in ihm der *Stickstoff nach Kjeldahl* bestimmt und auf die Formel der Purinbasen umgerechnet.

Während *Krüger* und *Wulff* ursprünglich behaupteten, daß Harnstoff, Kreatin, Kreatinin, Aminosäuren, Peptone und Albumosen durch das Reagens nicht gefällt würden, fanden *Burian* und *Schur* (3), *His d. J.* und *Hagen* (4), *Huppert* (5) und *Salkowski* (6) durch Mitfällung eines Teiles der Albumosen stets zu hohe Werte, ein Befund, den *Krüger* und *Schittenhelm* (7) später selbst bestätigten. Bei der Untersuchung reiner Nucleinsäuren fand *G. Kollmann* (8) durch Fällung mit dem Kupfersulfat-Natriumbisulfitreagens 0,090 bis 0,114 g Purinbasen-N in je 1 g N.S., also annähernd die berechnete Menge.

Wir haben nun *erstens reines Eiweiß* in 5proz. H_2SO_4 3 Stunden lang hydrolysiert, von dem Hydrolysat einen aliquoten Teil über Asbest abgenutscht, das klare Filtrat zuerst mit NaOH schwach alkalisch, dann mit Essigsäure schwach sauer gemacht und mit dem Kupferbisulfitreagens gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit H_2O gründlich ausgewaschen und in ihm nach *Kjeldahl* der Stickstoff bestimmt. *Ferner* haben wir in zwei Versuchen in *Kalbsbries* die Purinbasen ebenso und vergleichsweise nach der Methode von *Krüger-Schittenhelm* (siehe unten unter 3) bestimmt und die Werte miteinander verglichen (siehe Tabelle I).

Aus der Tabelle I ist ersichtlich, daß die *Fällung mit Kupfersulfat und Natriumbisulfid in reinem Fibrin und Casein einen Purinbasengehalt vortäuscht und in Purinbasen enthaltenden Organen zu hohe Werte ergibt.*

Tabelle I.

Verwendetes Material	Menge des verwendeten Materials in g	N im Kupfer-niederschlag in g	Aus der Bestimmung berechneter scheinbarer Nucleinsäuregehalt in Proz.	Nucleinsäuregehalt nach Krüger-Schittenhelm in Proz.
Fibrin	6	0,038	6,3	—
Fibrin	4	0,022	5,5	—
Gelatine	5	θ	θ	—
Casein (<i>Hammarsten</i>)	2	0,005	2,5	—
Kalbsbries I	4	0,120	30,0	21,9 *
Kalbsbries II	4	0,098	24,5	17,7 *

*) Vergleiche diese Werte mit den durch P-Bestimmung ermittelten.

2. Die Fällung der Purinbasen mit ammoniakalischem Silber.

Die, wie oben beschrieben, in Freiheit gesetzten Purinbasen werden durch ammoniakalische Silbermagnesiummischung gefällt; im ausgewaschenen Niederschlag wird, nachdem durch Kochen mit *Magnesia usta* das Ammoniak ausgetrieben ist, der Stickstoff bestimmt.

Diese — älteste — Methode der Purinbasenbestimmung wird von *Burian* und *Schur* (3), *His* und *Hagen* (4), *Krüger* und *Schittenhelm* (7) u. a. abgelehnt, da bei Vorhandensein von Albumosen ein Teil der Purinbasen der Ag-Fällung entgeht. [So fanden *Krüger* und *Schittenhelm* (l. c.) von 15 g in 1proz. Wittepeptonlösung gelöstem *Adenin* durch Fällung mit ammoniakalischem Silber nur 1,3 bis 1,7 g, also nur etwa 10 Proz. wieder.] *Burian* und *Schur* (l. c.) schlagen vor, im *Filtrat* der Ag-Fällung nach Entfernung der Albumosen durch *Bleiacetat neuerlich* mit Silber zu fällen: „Methode der korrigierten Werte“.

3. Bestimmung der Purinbasen durch kombinierte Kupfer-Silberfällung.

Der Kupferniederschlag *Krüger-Wulffs* (siehe unter 1) wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und nach Entfernung des Kupfersulfids wird mit ammoniakalischer Silbermagnesiummischung gefällt. Diese von *Krüger* und *Schittenhelm* (7) ausgearbeitete Methode (die Autoren schlagen auch *zweimalige Kupferfällung* vor) wurde schon von *His* und *Hagen* (4) angewendet, doch kommen letztere zu dem Schluß, daß die Kupferfällung, trotzdem sie mehr Stickstoff liefert als die direkte Silberfällung, den Basenstickstoff nicht vollkommen enthalte, daß somit auch die kombinierte Fällung keine exakten Werte ergeben könne.

Da wir im folgenden diese Methode, die uns von den zur Verfügung stehenden immerhin als die einzig anwendbare erscheint, zur Ermittlung von Parallelwerten benutzen, wollen wir an dieser Stelle ein zahlenmäßig belegtes Beispiel ihrer Ausführung geben: 2 g getrocknete Thymus (*Kalbsbries*) werden 3 Stunden in 100 ccm 5proz. H_2SO_4 unter Rückflußkühlung gekocht. Es wird auf 155 ccm aufgefüllt und davon 145 ccm (entsprechend

1,87 g Thymus) über Asbest abgenutscht. Das vollkommen klare, weingelbe Filtrat wird mit NaOH schwach alkalisch gemacht und dann mit Essigsäure angesäuert. Es wird mit 20 ccm 10proz. CuSO_4 + 20 ccm 30proz. NaHSO_3 gefällt; nach Absitzen des Niederschlags wird derselbe filtriert und mit H_2O nachgespült, bis das Filtrat farblos abläuft. Nun wird das Filter samt Niederschlag in einen größeren Erlenmeyerkolben gebracht, bis der Niederschlag fein verteilt ist; darauf wird Na_2S in Substanz *im Überschuß* zugefügt und weitere 5 Minuten kochen gelassen, worauf mit Essigsäure angesäuert wird. Jetzt wird — siedend heiß — schnell über doppeltem Filter abgenutscht. Die Filter werden mit dem auf ihnen liegenden Cu S-Niederschlag mindestens zweimal ausgekocht; das Kochwasser wird nochmals filtriert. Die vereinigten Filtrate werden nach Zusatz von etwa 10 ccm 10proz. HCl auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Nun wird der Rückstand in HCl-haltigem Wasser aufgenommen; zur Entfernung weniger brauner, humusartiger Flocken, die sich stets bilden, wird filtriert und das stark ammoniakalisch gemachte Filtrat mit Silbermagnesiummischung versetzt. Der feinflockige Niederschlag wird abfiltriert, sodann muß gründlich mit H_2O nachgewaschen werden. Der Niederschlag wird nach Durchstoßen des Filters mit reichlich Wasser in einen großen Kjeldahlkolben gespült. Nach Zusatz von MgO wird gekocht, bis aller NH_3 entwichen ist, d. h. bis befeuchtetes rotes Lackmuspapier von den entweichenden Dämpfen nicht mehr gebläut wird. Jetzt wird konzentrierte H_2SO_4 , CuSO_4 und K_2SO_4 in Substanz zugefügt, in gewohnter Weise verascht und nach *Kjeldahl* Stickstoff bestimmt. In diesem Beispiel fanden wir 40,95 mg N, entsprechend 409,5 mg Nucleinsäure, woraus sich ein Wert von 21,9 Proz. Nucleinsäure der trockenen Thymus ergibt.

Bei der Untersuchung verschiedener reiner Nucleinsäuren fand *G. Kollmann* (8): „Die Mehrzahl der mit kombinierter Kupfer-Silberfällung erhaltenen Resultate liegen zwischen 0,07 bis 0,085 g Purinbasen-N pro 1 g Nucleinsäure, statt des theoretischen Wertes von 0,1 bzw. 0,108. Wir sehen sonach, daß trotz sorgfältigen Arbeitens man im allgemeinen bei diesem Vorgang mit einem Fehlbetrag von 20 bis 30 Proz. zu rechnen hat ...“

Wie Tabelle II zeigt, konnten wir die Ergebnisse *Kollmanns* sowohl bei der Untersuchung reiner Nucleinsäure (wir verwendeten ein nucleinsaures Natrium „*Merck*“) als auch bei Zusatz von Eiweiß bestätigen.

Tabelle II.

Verwendete Menge Nucleinsäure in g	Art und Menge des zugesetzten Eiweißes	Menge des gefundenen Purinbasenstickstoffs in g	Ausbeute in Prozenten
1,0	—	0,084	84
1,0	—	0,075	75
0,942	10g Gelatine	0,0829	88
0,87	5g Fibrin	0,079	91

Die Methode *Krüger-Schittenhelm* gibt somit jedenfalls zu geringe und — wie auch aus den bei *Kollmann* angegebenen Zahlen ersichtlich ist — nicht konstante Werte; trotzdem ist diese Methode die einzige, die es erlaubt, wenigstens vergleichsweise Purinbasen annähernd zu bestimmen.

4. Guaninbestimmung.

A. C. Chapman (9) gibt folgende Methode zur Bestimmung von N.S. an: Reine N.S. wird 2 Stunden in der vierfachen Menge 10proz. Schwefelsäure gekocht. Zu der heißen Lösung wird starkes Ammoniak zugefügt, bis die Lösung einen Überschuß von etwa 2 Proz. davon enthält. Guanin fällt als ziegelroter Niederschlag aus. Der Niederschlag wird mit NH_3 ausgewaschen und in ihm nach Austreibung des NH_3 durch Kochen mit *Magnesia usta* der Stickstoff bestimmt. Durch Multiplikation des Guaninstickstoffs mit 20 ergibt sich der entsprechende N.S.-Wert.

Wir haben diese Methode nachgeprüft und gefunden (s. Tabelle III), daß sie für *reine N.S.* gute Werte ergibt, ebenso bei Zusatz geringer Eiweißmengen, daß jedoch bei *Zusatz größerer Eiweißmengen* — wahrscheinlich durch Adsorption des Guanins — die Fällung mit NH_3 überhaupt ausbleibt. Auch Kombination mit vorhergehender Kupferfällung führte zu keinem Ergebnis. *Somit ist diese Methode für Guaninbestimmung in Organen nicht anwendbar.*

Tabelle III.

Verwendete Menge Nucleinsäure in g	Art und Menge des zugesetzten Eiweißes	Menge des gefundenen Purinbasenstickstoffs in g	Ausbeute in Prozenten
1,88	—	1,85	98,4
0,942	—	0,918	97,4
1,88	2g Gelatine	1,77	94,1
1,88	2g „	1,75	93,0
0,91	10g Fibrin	0	0

Es besteht nach allem dem der von His und Hagen (4) ausgesprochene Schluß auch heute noch zu Recht, nämlich: „daß wir eine für alle Fälle gültige Methode der Basenbestimmung nicht besitzen“.

II. Versuche zur Bestimmung des Nucleinsäuregehalts von Organen aus dem Nucleinsäurephosphor.

1. Prinzip.

Will man den N.S.-Gehalt eines Organs aus dem N.S.-Phosphor bestimmen, so ergibt sich die Aufgabe, den nicht den N.S. zugehörigen Phosphor von der Bestimmung auszuseiden.

Der *Gesamtphosphor* eines Organs setzt sich aus folgenden Faktoren zusammen:

1. ätherlöslicher (Phosphatid) P,
2. anorganischer P,
3. eiweißgebundener P,
4. N.S.-P.

Zu 1. Der ätherlösliche Phosphor ist durch entsprechende *Behandlung mit Äther* restlos zu entfernen.

Zu 2. Der anorganische Phosphor wäre durch gründliches Auskochen mit H_2O ebenfalls extrahierbar. Da jedoch auch andere phosphorhaltige Verbindungen — Nucleoproteide — in H_2O löslich sind, kommt diese Art der Entfernung der anorganischen Phosphate hier nicht in Betracht. Wir wählten darum *mehrmaliges kurzes Aufkochen des Organs in sehr verdünnter Essigsäure*, die sich als Lösungsmittel der anorganischen Phosphate von H_2O nicht unterscheidet, die Nucleoproteide dagegen nicht löst.

Zu 3. Vom Casein und den Dottereisweißkörpern abgesehen, liegen für das Vorhandensein organischer Verbindungen, die *Phosphorsäure* enthalten, *welche nichts mit N. S. zu tun hat, keine bestimmten Anhaltspunkte vor*. Zum mindesten scheint es vorläufig unmöglich (vgl. diesbezüglich: *O. Kestner*, Chemie der Eiweißkörper, 4. Aufl., 1925, S. 316), „die Phosphorproteide des Zellprotoplasmas“, wie sie aus verschiedenen Organen gewonnen worden sind, von den den Zellkernen entstammenden N.S.-Eiweißverbindungen auseinanderzuhalten.

Zu 4. Der nach anscheinend restloser Entfernung des ätherlöslichen und anorganischen Phosphors im Organ verbleibende Rest kann vorderhand wohl als *Nucleinsäure-P* bezeichnet werden.

Entsprechend der *Leveneschen* Formel (siehe oben) berechnen wir den N.S.-Gehalt eines Organs aus der Relation:

$$\text{N.S.-P} : \text{N.S.} = 124 : 1421$$

(4 P) (N.S.)

2. Ausführung.

Es soll nun in einem zahlenmäßig ausgeführten Beispiel gezeigt werden, wie wir den N.S.-Gehalt eines Organs aus der *Bestimmung des N.S.-Phosphors* zu ermitteln versuchten.

Ein frisches Kalbsbries (Thymus B) wurde fein zerschnitten und 2 Tage lang in — einmal gewechseltem — 96proz. Alkohol liegengelassen. (In einer kleinen Probe des unveränderten Organs wurde der *Trockengehalt* desselben mit 16,5 Proz. ermittelt.) Durch Trocknen und feines Zerreiben des Alkoholkoagulums erhielten wir ein *feines, rein weißes Pulver*. Diese *Vorbehandlung* ermöglicht die exakte Durchführung der folgenden Prozeduren.

10,0 g dieses Pulvers wurden 48 Stunden lang im Soxhletapparat mit *Äther* extrahiert. Die extrahierte Substanz wurde darauf mit je 250 cem $\frac{1}{4}$ - bis $\frac{1}{2}$ proz. Essigsäure so oft *kurz aufgekocht*, bis das Kochwasser — mit Salpetersäure und Ammoniummolybdat versetzt — Fehlen von Phosphorsäure zeigte. (Dies pflegt nach drei- bis viermaligem Aufkochen der Fall zu sein.) Dadurch wurden aber nicht nur die anorganischen Phosphate — wie wir wohl mit Recht annehmen können, *restlos* — entfernt, sondern auch geringe Mengen von *Purinbasen* mit ausgekocht. Wir fanden in den gesammelten Dekokten nach *Krüger-Schittenhelm* 14,84 mg Purin-N (was etwa 7 Proz. der Gesamtpurine entspricht). Ob diese ausgekochten

Tabelle IV.

1	2	3	4	5	6
Organ	Trockengehalt in Prozenten	Nucleinsäure- gehalt, berechnet aus dem Nuclein- säurephosphor, in Proz. der Trockensubstanz	Nucleinsäure- gehalt, berechnet aus dem Purin- basengehalt, in Proz. d. Trocken- substanz	Bei Entfernung d. anorganischen Phosphate aus- gekochter Purin- basenstickstoff in Proz. der Trockensubstanz	Menge des (unter 5 ver- zeichneten) Purinbasen- stickstoffs in Proz. d. Gesamt- purinstickstoffs
Kalbsthymus A	15,5	19,1	17,7	0,10	5,6
Kalbsthymus B	16,5	22,9	21,2	0,15	7,0
Rindsniere . .	17,2	5,3	4,5	0	0
Rindspankreas	25,0	8,5	11,7	0,36	30,8
Pferdemilz . .	21,3	10,4	6,6	0,05	7,5
Rindsmilz . .	21,1	8,1	7,8	0,04	5,1

Purinkasen frei, d. h. nicht als Bestandteile von N.S., im Organ vorhanden waren, oder durch das Kochen mit Essigsäure aus den N.S. in Freiheit gesetzt wurden, können wir nicht entscheiden. Jedenfalls sind die ausgekochten Mengen — wie Tabelle IV zeigt — recht gering, so daß sie vernachlässigt werden können, *auch falls sie N.S. entstammen sollten. Beim Auskochen wurde jeglicher Verlust von Material vermieden.* Das Pulver wurde getrocknet und wog nun 7,72 g. 0,772 g des mit Äther und verdünnter Essigsäure extrahierten Pulvers entsprachen somit 1,0 g des unveränderten.

In 0,3857 bzw. 0,3372 g der extrahierten Substanz wurde nun nach *Neumann-Gregersen* (Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. I, Teil 3, S. 825) der Phosphorgehalt bestimmt. Wir verbrauchten 17,5 bzw. 15,3 ccm n/2 NaOH, entsprechend 9,975 bzw. 8,744 mg P, was einer N.S.-Menge von 114,3 bzw. 100,2 mg gleichkommt. Die zur Bestimmung verwendeten Mengen des extrahierten Pulvers entsprachen 0,4996 bzw. 0,4368 g der unveränderten Substanz. So ergibt sich ein N.S.-Gehalt des untersuchten trockenen Organs von 22,87 bzw. 22,95 Proz., im Mittel 22,9 Proz.

Wie wir nach Fertigstellung dieser Arbeit sahen, bestimmte *Kossel* (10) im Jahre 1882 in Organen den „Nucleinphosphor“: Nach Vorbehandlung des zu untersuchenden Organs mit Gerbsäure und HCl wurde es etwa 1½ Stunden lang mit sehr verdünnter kalter Salzsäure und Alkohol sowie Äther extrahiert und in ihm nach Veraschung mit Soda und Salpeter der Phosphor bestimmt und als „Nucleinphosphor“ bezeichnet. Die vollständige Entfernung der anorganischen Phosphate durch Übergießen mit kalter HCl, sowie die der ätherlöslichen durch einfaches Nachwaschen mit Alkohol und Äther erscheint uns keineswegs gewährleistet. Daß von *Kossel* eine dem Organ zugefügte Menge phosphorsaurer Natriums mit kalter HCl völlig extrahiert werden konnte, besagt nichts über das Verhalten der im Organ enthaltenen anorganischen Phosphate.

Kürzlich veröffentlichten *M. Javillier* und *H. Allaire* (11) eine Methode zur Bestimmung des Nucleinphosphors in Organen: Nach Trocknen des Gewebes im Vakuum und Extraktion der Lipide mit Äther-Alkohol wird es mit 15proz. NaCl-Lösung behandelt. Für die Behauptung, daß die Kochsalzlösung die Nucleinsäuren quantitativ extrahiere, bringen die Autoren keinerlei Belege. In der Kochsalzlösung werden die N.S. mit HCl gefällt und im abzentrifugierten Niederschlag die P-Bestimmung vorgenommen.

3. Beispiele.

Es seien einige Beispiele für die Bestimmung des N.S.-Phosphors mitgeteilt. Um einen *Anhaltspunkt für die Verlässlichkeit* der ermittelten Werte zu gewinnen, wurden in den untersuchten Organen Purinbasenbestimmungen vorgenommen. Wir verwendeten die Methode von *Krüger-Schittenhelm* (siehe oben). Dabei sind wir uns dessen bewußt, daß die eingangs angeführten Einwände — einerseits gegen die Ermittlung des N.S.-Gehalts von Organen *aus ihrem Purinbasengehalt*, andererseits gegen die benutzte *Methode* — zu Recht bestehen. Eine Übersicht über unsere Ergebnisse gibt Tabelle IV.

a) Kalbsbries.

Bessau und *Schmid* (18) fanden in der Feuchtsubstanz 0,33 Proz. Purinbasen-N, entsprechend etwa 20,6 Proz. N.S. der Trockensubstanz, *R. Burian* und *J. Walker Hall* (13) 0,429 bis 0,482 Proz. Purinbasen-N der Feuchtsubstanz, entsprechend 26,8 bis 30,1 Proz. N.S. der Trockensubstanz, die letztgenannten Autoren ferner (14) 0,402 Proz. Purinbasen-N im feuchten Organ, entsprechend 25,1 Proz. N.S. im trockenen; *Neumann* (15) gewann aus 1 kg Reintymus 30 bis 35 g reine Nucleinsäure, was einem N.S.-Gehalt von 18,7 bis 21,9 Proz. des getrockneten Organs gleichkommt. Der von *Javillier* und *Allaire* (11) gefundene Wert von 1,25 Proz. P, d. i. 14,3 Proz. N.S., ist sicherlich zu niedrig, was nach dem oben Gesagten nicht zu verwundern ist.

Wir untersuchten zwei Kalbsbriese und fanden durch N.S.-Phosphorbestimmung 19,1 bzw. 22,9 Proz., durch Bestimmung der Purinbasen 17,7 bzw. 21,2 Proz. N.S. in getrocknetem Organ. Wir stellten also beide Male *aus der N.S.-Phosphorbestimmung um einige Prozente höhere Werte als aus der Purinbasenbestimmung* fest. Bezüglich der übrigen Daten verweisen wir auf die Tabelle IV.

b) Rinderniere.

Werte der Literatur: *Bessau* und *Schmid* (12): 0,08 Proz. Purinbasen-N der Feuchtsubstanz, entsprechend 4,7 Proz. N.S. der Trockensubstanz; *Kossel* (10) 0,29 Proz. Nucleinphosphorsäure (H_3PO_4), entsprechend 4,2 Proz. N.S.; *Fellenberg* (16) 0,786 Proz. Purinbasen-N, entsprechend 7,86 Proz. N.S. der Trockensubstanz.

Auch hier fanden wir aus der N.S.-Phosphorbestimmung einen etwas höheren N.S.-Wert als aus der Purinbasenbestimmung, nämlich 5,3 gegen 4,5 Proz. N.S. im trockenen Organ (vgl. Tabelle IV).

c) Rinderpankreas.

Werte der Literatur: *Kossel* (10) 0,58 bis 0,6 Proz. Nucleinphosphorsäure (H_3PO_4), entsprechend 8,4 bis 8,8 Proz. N.S.; *Javillier* und *Allaire* 0,651 Proz. P, entsprechend 7,5 Proz. N.S. der Trockensubstanz; *R. Burian* und

Walker Hall (13) 0,183 Proz. Purinbasen-N der Feuchsubstanz, entsprechend 7,3 Proz. N.S. der Trockensubstanz.

Aus unserer N.S.-Phosphorbestimmung stellten wir einen N.S.-Gehalt des von uns untersuchten Pankreas von 8,5 Proz. fest, während wir aus der Purinbasenbestimmung im nicht extrahierten Organ einen weit höheren Wert, 11,7 Proz., ermittelten. Dieser große Unterschied dürfte auf das Vorhandensein größerer Mengen — vielleicht auch *postmortal* entstandener — extrahierbarer Purinbasen oder purinbasenhaltiger Komplexe (Guanylsäure und dergleichen) zurückzuführen sein. Weicht doch auch die — in der Tabelle IV unter 5 verzeichnete — beim Entfernen der anorganischen Phosphate in Lösung gegangene Purinbasenmenge erheblich von den übrigen Werten dieser Kolonne ab.

d) Milz.

Werte der Literatur: *Kossel* (10) 0,59 bis 0,87 Proz. Nucleinphosphorsäure (H_3PO_4) im frischen, entsprechend 9,7 bis 14,5 Proz. N.S. im trockenen Organ; *Javillier* und *Allaire* (11) 0,38 Proz. P, entsprechend 4,4 Proz. N.S. der Trockensubstanz (auch dieser Wert ist auffallend niedrig); *H. C. Corper* (17), Adenin, Guanin, Xanthin und Hypoxanthin zusammen 0,24 Proz. der Feuchsubstanz, entsprechend etwa 5,5 Proz. N.S. im getrockneten Organ; *Fellenberg* (16) 0,91 Proz. Purinbasen-N, entsprechend 9,1 Proz. N.S. der Trockensubstanz.

Bei einer *Rindermilz* ermittelten wir den N.S.-Gehalt aus dem N.S.-Phosphor mit 8,1 Proz., aus der Purinbasenbestimmung mit 7,8 Proz. Bei einer *Pferdemilz* dagegen fanden wir durch Bestimmung des N.S.-Phosphors einen bedeutend höheren Wert (10,4 Proz. N.S.) als durch die Purinbasenbestimmung (6,6 Proz. N.S.). Da wir das Vorhandensein eines unbekanntem phosphorhaltigen Eiweißkörpers in der Pferdemilz kaum annehmen können, können wir für diesen einen Befund keine sichere Erklärung geben. Möglicherweise enthielt das Milzhydrolysat einen Körper, der die vollständige Ausfällung der Purinbasen verhindert.

Zusammenfassend ist über diese Versuchsreihe folgendes zu sagen: Die vorgeschlagene Methode ergibt gegenüber der auf der Purinbasenbestimmung beruhenden im allgemeinen etwas höhere Werte, die — nach dem oben über die Purinbasenbestimmung Gesagten — der Wahrheit näher zu stehen scheinen. Wenn auch die Ermittlung des Nucleinsäuregehalts eines Organs aus der Bestimmung seines Nucleinsäurephosphors wegen der mannigfaltigen durchzuführenden Manipulationen nicht als die endgültige Methode der Wahl bezeichnet werden kann, so ist doch dieser Weg, da er auf einer gut fundierten analytischen Methode beruht, als der verlässlichste der bestehenden zu empfehlen — allerdings nur insoweit, als keine anderen phosphorhaltigen Eiweißkörper oder sonstige wasserunlösliche phosphorhaltige Substanzen bekannt geworden sind.

Zusammenfassung.

1. Der Nucleinsäuregehalt eines Organs läßt sich vorderhand nur aus seinem Gehalt an *Purinbasen* oder an *Nucleinphosphor* ermitteln.

2. Es werden die *Einwände* angeführt, die sich gegen die Feststellung des Nucleinsäuregehalts eines Organs aus der Purinbasenbestimmung erheben.

3. Die bestehenden *Methoden zur Purinbasenbestimmung* werden einer experimentellen Kritik unterworfen, wobei sich zeigt, daß keine derselben als verläßlich zu bezeichnen ist.

4. Es wird (in Übereinstimmung mit einem seinerzeit von *A. Kossel* angegebenen Prinzip) *ein Weg zur Bestimmung des Nucleinsäurephosphors und somit der Nucleinsäuren in Organen vorgeschlagen*. Derselbe beruht auf Bestimmung der Phosphorsäure, die nach *Beseitigung der ätherlöslichen Phosphatide* durch Soxhletextraktion mit Äther sowie der *anorganischen Phosphate* durch wiederholtes kurzes Aufkochen mit essigsäurehaltigem Wasser zurückbleibt.

Diese Methode ergibt im allgemeinen etwas höhere Werte als die Purinbasenmethode und erscheint mehr Vertrauen zu verdienen als die Umrechnung aus dem Purinbasengehalt.

5. Die Menge der *Purinbasen*, die durch *wiederholtes kurzes Auskochen* mit ganz verdünnter Essigsäure dem Organ *entzogen* werden, entsprechen im allgemeinen nur einem geringen Bruchteil der Gesamtpurine des Organs. Das *Pankreas* nimmt diesbezüglich scheinbar eine Ausnahmestellung ein, welche vielleicht durch die rasche postmortale fermentative Spaltung von Nucleinsäuren in diesem Organ bedingt sein könnte.

Literatur.

- 1) *Levene*, Journ. of biol. Chem. 48, Nr. 1, 119 bis 125, 1921. —
- 2) *M. Krüger* und *C. Wulff*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 176, 1895. —
- 3) *R. Burian* und *H. Schur*, ebendasselbst 23, 55, 1897. — 4) *W. His d. J.* und *W. Hagen*, ebendasselbst 30, 350, 1900. — 5) *Huppert*, ebendasselbst 22, 556. —
- 6) *Salkowski*, zitiert nach Chem. Centralbl. 1897, I, 1076. — 7) *M. Krüger* und *A. Schittenhelm*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 16, 1905. — 8) *G. Kollmann*, diese Zeitschr. 144, 219, 1924. — 9) *A. C. Chapman*, zitiert nach Chem. Centralbl. 1919, II, 898. — 10) *A. Kossel*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 7, 1882/83. — 11) *M. Javillier* und *H. Allaire*, Bull. de la Soc. de Chim. Biol. 216, 486, 1925. — 12) *Bessan* und *Schmid*, Therap. Monatshefte 1910, S. 116. — 13) *R. Burian* und *J. Walker Hall*, Chem. Centralbl. 1903, II, 221. — 14) *J. Walker Hall* und *R. Burian*, ebendasselbst 1902, I, 1169. —
- 15) *Neumann*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1898, S. 374; zitiert nach *Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod.*, Abt. I, Teil 8, S. 15. — 16) *Fellenberg*, diese Zeitschr. 88, 331, 1918. — 17) *H. J. Corper*, Journ. of biol. Chem. 11, 27, 1912.

Über den Abbau der β -Oxybuttersäure in der Leber.

Von

I. Snapper und A. Grünbaum.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität Amsterdam.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1926.)

Seit den berühmten Experimenten von *Emden* und seiner Schule gilt die Leber als Organ der Entstehung der Ketokörper. Weniger fest steht aber, in welchem Organ die Ketokörper abgebaut werden. In dieser Mitteilung wollen wir uns auf die Frage beschränken, ob die Leber β -Oxybuttersäure zum Verschwinden bringen kann.

Schon *Emden*, *Salomon* und *Schmidt* (1) haben im Jahre 1906 nachgewiesen, daß, wenn man Blut, dem β -Oxybuttersäure zugesetzt ist, durch die überlebende Leber führt, beträchtliche Mengen Diacetsäure entstehen. Enthielt das Durchströmungsblut 3 bis 3,5 g β -Oxybuttersäure, so konnten sie nach der Durchströmung der Leber im Blute 400 bis 500 mg Diacetsäure nachweisen. Hieraus ergibt sich, daß die überlebende Leber β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure oxydieren kann.

Es ist deutlich, daß die Oxydation der β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure in der Leber nur indirektes Interesse für die Verbrennung der β -Oxybuttersäure hat, denn wenn umgekehrt die Leber mit Diacetsäure durchströmt wird, bilden sich da große Mengen β -Oxybuttersäure. Die Reduktion der Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure geht in der Leber selbst viel schneller vor sich als die Oxydation der β -Oxybuttersäure zur Diacetsäure. Daraus ist zu ersehen, daß ein etwaiges Verschwinden bzw. Verbrennen der β -Oxybuttersäure in der Leber schwerlich über Diacetsäure führen kann, weil dann der größte Teil der gebildeten Diacetsäure wieder zu β -Oxybuttersäure zurückgebildet wird.

Pribram (2) hat im Jahre 1912 die *Emdenschen* Versuche wiederholt und sich dabei die Frage gestellt, ob bei der Durchströmung der Leber mit β -Oxybuttersäure sämtliche verschwundene β -Oxybuttersäure als Diacetsäure zurückgefunden wird, oder ob die Leber imstande ist, die β -Oxybuttersäure nicht nur zu Diacetsäure zu oxydieren, sondern

außerdem wirklich einen Teil der β -Oxybuttersäure zum Verschwinden zu bringen.

In den Versuchen *Pribrams* fanden sich beim Zusatz von 1,17 bis 2 g β -Oxybuttersäure zum Blute nach der Durchströmung 0,150 bis 0,200 g Diacetsäure. Nach der Durchströmung waren also 10 Proz. der β -Oxybuttersäure im Blute als Diacetsäure vorhanden. Diese Zahl stimmt mit den *Embdenschen* ziemlich gut überein. Wenn *Pribram* aber die β -Oxybuttersäure vor und nach der Durchströmung bestimmte, ließen sich nur 30 Proz. der zugesetzten β -Oxybuttersäure im Blute zurückfinden. Er schloß daraus, daß die Leber nicht nur 10 Proz. der zugesetzten β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure oxydieren kann, sondern daneben wirklich große Mengen der β -Oxybuttersäure zum Verschwinden bringen kann.

Der Vollständigkeit wegen sei erwähnt, daß verschiedene Untersucher versucht haben, die hier gestellte Frage zu lösen, durch Zusatz von β -Oxybuttersäure zu dem Leberbrei.

So sahen z. B. *Wakeman* und *Dakin* (3), daß, wenn sie 100 g Leberbrei mit 680 mg β -Oxybuttersäure vermischten, höchstens 50 mg, meistens nur 20 bis 30 mg Diacetsäure entstanden. Dieses geschah nur, wenn dem Gemisch von Leberbrei und β -Oxybuttersäure noch Blut zugesetzt wird, weil offenbar Zusatz von Blut die Oxydation von β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure durch den Leberbrei fördert.

Dagegen fand *Marriott* (4) später, daß 50 bis 70 g Leberbrei aus 100 bis 180 mg β -Oxybuttersäure nur winzige Mengen Diacetsäure entstehen ließen. *Marriott* hat aber der Mischung von Leberbrei mit β -Oxybuttersäure kein Blut zugesetzt.

Es steht also wohl fest, daß die überlebende Leber imstande ist, einen Teil der zugesetzten β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure zu oxydieren. Nicht steht fest, ob die überlebende Leber außer dieser Oxydation, welche stark reversibel ist, wirklich ein Verschwinden von β -Oxybuttersäure herbeiführen kann. Bei den *Pribramschen* Versuchen ist ja nur der β -Oxybuttersäuregehalt des durchströmten Blutes bestimmt, dagegen sind die Mengen Diacetsäure und β -Oxybuttersäure, welche nach der Durchströmung *in der Leber* vorhanden sind, vernachlässigt. Deshalb haben wir die alten *Embdenschen* und *Pribramschen* Versuche der Durchströmung der überlebenden Hundeleber mit β -Oxybuttersäure wiederholt, aber dabei sorgfältige Analysen der Leber vor und nach der Durchströmung angestellt.

Durchströmt wurde Hundeleber. Als Durchströmungsflüssigkeit diente immer Hundeblood, vom gesunden Hunde gewonnen, bisweilen war es durch eine kleine Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Durchströmungsversuche wurden mit dem *Embdenschen* Apparat ausgeführt. Der Druck des zufließenden Portabluts war nie

höher als 20 bis 40 mm, die Dauer des Versuchs $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden. Die Durchströmungsgeschwindigkeit war groß, so daß das Blut 20- bis 30mal durch die Leber geführt wurde. Die linksdrehende β -Oxybuttersäure, die dem Durchströmungsblut zugesetzt war, war aus dem reinen Zinkcalciumsalz der l - β -Oxybuttersäure bereitet. Diese l - β -Oxybuttersäure war durch Extraktion aus Diabetikerharn gewonnen.

Die genaue Methodik der Aceton- bzw. Diacetsäure- und β -Oxybuttersäurebestimmungen haben wir in einer früheren Abhandlung ausführlich mitgeteilt (5). Die Methodik war kurz wie folgt:

a) Aceton und Diacetsäure. 50 bis 100 ccm Blut bzw. 50 bis 100 g Organbrei, vermischt mit 300 ccm Wasser, wurden mit Wasserdampf destilliert, bis 300 ccm übergegangen waren¹⁾. Destillat mit H_2O_2 und Lauge, nachher mit *Fehlingscher* Lösung am Rückflußkühler gekocht und dann destilliert. Das Redestillat mit H_2SO_4 und $HgSO_4$ nach *van Slyke* gekocht und der Acetongehalt gravimetrisch bestimmt.

b) β -Oxybuttersäure. 50 ccm Blut bzw. 50 g Organbrei mit 800 ccm Wasser plus 50 ccm H_2SO_4 $\frac{2}{3}$ n vermischt und über Nacht stehengelassen. Am nächsten Tage werden 50 ccm 10proz. Natriumwolframatlösung zugesetzt, Auffüllen auf 1 Liter. Nach einigen Stunden abfiltrieren. Zu 750 ccm Filtrat werden 40 ccm 10proz. $CuSO_4$ und 100 ccm 20proz. $Ca(OH)_2$ zugesetzt. Auffüllen auf 1 Liter. Filtrieren. 600 ccm (öfters auch 850 ccm) Filtrat erst 10 Minuten destillieren nach Zusatz von H_2SO_4 , um Aceton und Diacetsäure zu vertreiben. Destillat verwerfen. Dann Oxydation mit Bichromat nach *Shaffer-Engfeldt*. Destillat¹⁾ mit H_2O_2 und Lauge, dann mit *Fehlingscher* Lösung am Rückflußkühler kochen und dann destillieren. Das Redestillat mit H_2SO_4 und $HgSO_4$ nach *van Slyke* kochen und den Acetongehalt gravimetrisch bestimmen.

In einigen Versuchen haben wir vor der Durchströmung ein Stück der Leber entfernt, um den Ketokörpergehalt der normalen Leber mit berechnen zu können. Nachher haben wir einen konstanten Wert für die Ketokörper pro Gramm normaler Hundeleber angenommen.

Ehe wir die eigentlichen Versuche anfangen, haben wir erst Blut und β -Oxybuttersäure während $1\frac{1}{2}$ Stunden durch den Durchströmungsapparat geführt, ohne daß eine Leber eingeschaltet war, um zu untersuchen, ob Blut, bei 37 bis 39° mit Sauerstoff vermischt, einen Einfluß auf β -Oxybuttersäure ausübt. Immer konnten wir aber im Gegensatz zu den *Pribramschen* Angaben unter diesen Versuchsbedingungen alle zugesetzte β -Oxybuttersäure unverändert zurückfinden.

Erst dann schritten wir zu den eigentlichen Leberdurchströmungen, die in Tabelle I zusammengefaßt sind.

¹⁾ Wenn nur kleine Mengen Aceton und Diacetsäure vorhanden sind, wird eine bekannte Menge Aceton (4 mg) diesem Destillat zugesetzt, bevor die folgende Behandlung stattfindet.

Bei der Betrachtung dieser Tabelle I ergibt sich, daß in Übereinstimmung mit den *Embdenschen* Angaben, welche auch schon von *Pribram* bestätigt waren, ein beträchtlicher Teil der zugesetzten β -Oxybuttersäure bei der Leberdurchströmung zu Diacetsäure oxydiert wird.

Tabelle I.

Blutmenge		Lebergewicht		Blut vor Durchströmung		Leber vor Durchströmung		Blut nach Durchströmung		Leber nach Durchströmung	
vor	nach	vor	nach	Aceton + Diacetsäure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacetsäure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacetsäure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacetsäure	β -Oxybuttersäure
Durchströmung		Durchströmung									
ccm	ccm	g	g		mg		mg	mg	mg	mg	mg
1000	809	419	610	Spuren	521	Spuren	24.4	81	180	13.4	180
850	700	245	395	-	438	-	16	72	163	8.2	132
990	840	265	415	-	469	Ange-	20	54	247	7.6	165
800	623	188	365	-	414	nom-	13	58	162	5.2	105
790	730	240	300	-	419	men	16	34	252	3.3	96

Im Blute fanden wir nach der Durchströmung von den zugesetzten 400 bis 500 mg β -Oxybuttersäure 35 bis 80 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) zurück. Dieses stimmt gut überein mit den *Embdenschen* Angaben, der berechnete, daß aus 3 bis 3,5 g β -Oxybuttersäure 400 bis 500 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) entstehen und mit den *Pribramschen* Versuchen, wo aus 1,5 bis 2 g β -Oxybuttersäure 85 bis 116 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) nach der Durchströmung im Blute nachzuweisen waren.

Zweitens ergibt sich aus unseren Tabellen, daß tatsächlich im Durchströmungsblut nur 40 bis 60 Proz. der zugesetzten β -Oxybuttersäure zurückzufinden sind. *Pribram* fand in seinen Versuchen 25 bis 30 Proz. zurück. Wenn man also nur das Durchströmungsblut in Anmerkung nimmt, bekommt man tatsächlich den Eindruck, als ob ein großer Teil der β -Oxybuttersäure von der Leber verbrannt wird.

Aus unserer Tabelle ergibt sich aber, daß von der zugeführten β -Oxybuttersäure noch ein großer Teil in der Leber anwesend ist. Nach der Durchströmung ist die Leber immer schwerer als zuvor, d. h. ein Teil des Durchströmungsblutes befindet sich in der Leber. Dieses in der Leber gestaute Blut muß eine gewisse Menge Diacetsäure und β -Oxybuttersäure enthalten. Wenn man berechnet, wieviel dies sein kann, dann ergibt sich, daß die Menge Diacetsäure in der Leber, nach der Durchströmung tatsächlich vorhanden, übereinstimmt mit der Menge Diacetsäure, die in dem in der Leber zurückbleibenden Blute anwesend ist. Das stimmt nicht hinsichtlich der β -Oxybuttersäure; hiervon findet man nach dem Versuch in der Leber viel mehr

als der im Leberblut vorhandenen Menge entspricht. Man muß deshalb schließen, daß die Leber bei der Durchströmung elektiv die β -Oxybuttersäure adsorbiert.

	Menge Blut in der Leber ccm	Diacetsäure in Leber		β -Oxybuttersäure in Leber	
		Theoretisch berechnet	Tatsächlich	Theoretisch berechnet	Tatsächlich
I	191	191 · 81 = 19,1 mg	13,4 mg	191 · 180 = 42,5 mg	180 mg
		809		809	
II	150	150 · 72 = 15 "	8 "	150 · 163 = 35 "	132 "
		700		700	
III	150	150 · 53,4 = 9,5 "	7,6 "	150 · 247 = 44 "	165 "
		840		840	
IV	177	177 · 57,7 = 16,4 "	5,3 "	177 · 162 = 46 "	105 "
		623		623	
V	60	60 · 34,1 = 2,8 "	3,3 "	60 · 252 = 20,7 "	95,6 "
		730		730	

Aus dieser kleinen Tabelle ersieht man, daß nach der Durchströmung die Leber große Mengen β -Oxybuttersäure enthält, die offenbar an der Lebersubstanz adsorbiert sind. Die Frage liegt auf der Hand, ob unter Berücksichtigung der β -Oxybuttersäure, welche die Leber nach der Durchströmung enthält, doch ein Verschwinden der β -Oxybuttersäure nachzuweisen ist.

Die Bilanzen der Durchströmungen haben wir in Tabelle II zusammengestellt. Um die Übersicht zu erleichtern, haben wir alle Zahlen (auch die der Diacetsäure) in Milligramme β -Oxybuttersäure umgerechnet.

Tabelle II.

	Vor Durchströmung β -Oxybuttersäure mg	Nach Durchströmung	
		Aceton + D.acetsäure mg	β -Oxybuttersäure mg
Versuch I.			
Blut	521	Blut	81
Leber	24,4	"	180
	545,4	Leber	24
		"	180
			530
Versuch II.			
Blut	438	Blut	72
Leber	16	"	163
	454	Leber	15
		"	132
			440

Tabelle II (Fortsetzung).

	Vor Durchströmung β -Oxybuttersäure mg	Nach Durchströmung		
		Aceton + Diacetsäure mg	β -Oxybuttersäure mg	
Versuch III.				
Blut	469	Blut	54	96
Leber	20	"		247
	489	Leber	7,6	13
		"		165
				521
Versuch IV.				
Blut	414	Blut	58	104
Leber	13	"		162
	427	Leber	5,2	11
		"		105
				382
Versuch V.				
Blut	419	Blut	34	61
Leber	16	"		252
	435	Leber	3,3	6
		"		96
				415

Aus dieser Tabelle ergibt sich:

Im ersten Versuch von 545 mg β -Oxybuttersäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 530 mg zurückgefunden (hiervon 170 mg oder 32 Proz. als Diacetsäure).

Im zweiten Versuch von 454 mg β -Oxybuttersäure im Blute nach der Durchströmung in Blut und Leber 440 mg β -Oxybuttersäure zurückgefunden (hiervon 145 mg oder 32 Proz. als Diacetsäure).

Im dritten Versuch von 489 mg β -Oxybuttersäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 521 mg zurückgefunden (hiervon 109 mg oder 21 Proz. als Diacetsäure).

Im vierten Versuch von 427 mg β -Oxybuttersäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 382 mg zurückgefunden (hiervon 115 mg oder 30 Proz. als Diacetsäure).

Im fünften Versuch von 435 mg β -Oxybuttersäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 415 mg zurückgefunden (hiervon 67 mg oder 16 Proz. als Diacetsäure).

Wenn man bedenkt, daß bei den Analysen leicht kleine Unterschiede entstehen können, so muß man auf Grund von diesen Angaben eigentlich schließen, daß bei der Durchströmung der überlebenden

Hundeleber zwar 16 bis 32 Proz. der zugesetzten β -Oxybuttersäure in Diacetsäure bzw. Aceton umgesetzt werden, daß aber kaum β -Oxybuttersäure verschwindet¹⁾.

Inzwischen ist dieser Schluß noch nicht erlaubt, denn wenn man die normale Leber mit normalem Blute durchströmt, entstehen deutliche Mengen Diacetsäure und β -Oxybuttersäure.

Friedmann und *Maase* (6) haben nach der Durchströmung der normalen Leber mit normalem Blute ohne Zusatz nach der Durchströmung im Blute 40 mg Diacetsäure und 65 mg β -Oxybuttersäure nachgewiesen, in einem zweiten Versuch 33 mg Diacetsäure, aber keine β -Oxybuttersäure, in einem dritten Versuch 38 mg Diacetsäure und 70 mg β -Oxybuttersäure, in einem vierten Versuch 32 mg Diacetsäure und 110 mg β -Oxybuttersäure.

Auch *Pribram* hat analoge Resultate erhalten. In einem Versuch fand er nach der Durchströmung der normalen Leber mit normalem Blute 93 mg Diacetsäure und 35 mg β -Oxybuttersäure, in dem zweiten Versuch 110 mg Diacetsäure und 68 mg β -Oxybuttersäure.

Bei der Wiederholung dieser Versuche erhielten wir kleinere Zahlen.

Nach der Durchströmung normaler Leber mit normalem Blute:

Versuch 1.

Blut: 14,2 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet),
27,4 „ β -Oxybuttersäure.
Leber: Spuren Diacetsäure,
47,8 mg β -Oxybuttersäure.

Versuch 2.

Blut: 9,3 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet),
30,5 „ β -Oxybuttersäure.
Leber: Spuren Diacetsäure,
25 mg β -Oxybuttersäure.

Hierbei muß man bedenken, daß vor der Durchströmung in der Leber ± 15 mg, in 700 cem normalen Hundebluts ± 25 mg β -Oxybuttersäure schon anwesend sind.

Wenn also eine normale, überlebende Hundeleber mit Blut durchströmt wird, dem β -Oxybuttersäure zugesetzt ist, so müßte man, wenn keine β -Oxybuttersäure verschwindet, nach dem Versuch eigentlich ± 50 mg β -Oxybuttersäure mehr finden als zugesetzt wurde. Wir haben höchstens die zugesetzten Mengen zurückgefunden.

¹⁾ Kleine Verluste können auch auf folgende Weise entstehen. Von der Diacetsäure, die während der Durchströmung entstanden ist, kann, wie wir in unserem folgenden Aufsatz zeigen werden, ein kleiner Teil verschwinden durch Umsetzung zu Aceton und Verdampfung, ohne daß die Leber hiermit etwas zu tun hat.

Zusammenfassung.

Nach Durchströmung der normalen überlebenden Hundeleber mit Blut, dem β -Oxybuttersäure zugesetzt ist, findet man in Blut und Leber nach der Durchströmung fast sämtliche zugesetzte β -Oxybuttersäure zurück, wenn auch einen erheblichen Teil (16 bis 32 Proz.) in Form von Diacetsäure.

Bei diesen Versuchen wird ein beträchtlicher Teil der β -Oxybuttersäure an die Lebersubstanz adsorbiert, so daß in der Leber nach der Durchströmung viel mehr (meistens viermal mehr) β -Oxybuttersäure anwesend ist, als mit dem β -Oxybuttersäuregehalt des in der Leber vorhandenen Blutes übereinstimmt.

Die Möglichkeit, daß die Leber einen Teil der β -Oxybuttersäure abbaut, ist nicht auszuschließen, weil die normale Leber, mit normalem Blute durchströmt, schon kleine Mengen Diacetsäure und β -Oxybuttersäure bildet. Nach der Durchströmung mit Blut, dem β -Oxybuttersäure zugesetzt ist, müßte man also, wenn kein Abbau in der Leber stattfindet, eigentlich ± 50 mg mehr β -Oxybuttersäure zurückfinden als zugesetzt ist; wir fanden jedoch im allgemeinen höchstens die zugesetzten Mengen zurück.

Literatur.

- 1) *Emden, Salomon und Schmidt*, Hofmanns Beiträge 8, 146, 1906. —
- 2) *Pribram*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 10, 286, 1912. — 3) *Wake-man und Dakin*, Journ. biol. Chem. 6, 373, 1909. — 4) *Marriott*, ebendasselbst 18, 255, 1914. — 5) *Snapper und Grünbaum*, diese Zeitschr. 175, 357, 1926. —
- 6) *Friedmann und Maase*, ebendasselbst 27, 474, 1910.

Über den Abbau der Diacetsäure bei der Leberdurchströmung.

Von

I. Snapper und A. Grünbaum.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der Universität Amsterdam.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1926.)

Aus unserer vorstehenden Mitteilung (1) über die Veränderungen der β -Oxybuttersäure durch die Leber ergibt sich, daß bei Durchströmung von Leber mit Blut, dem β -Oxybuttersäure zugesetzt ist, große Mengen Diacetsäure aus der β -Oxybuttersäure entstehen. Wenn man aber mit in Berechnung zieht, wieviel β -Oxybuttersäure und Diacetsäure an die Lebersubstanz adsorbiert werden, ergibt sich, daß die Leber im Durchströmungsexperiment nur imstande ist, große Mengen (16 bis 32 Proz.) β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure zu oxydieren, aber keine größere Mengen β -Oxybuttersäure zum Verschwinden bringen kann. Wenn man bei den verschiedenen Durchströmungen die als Diacetsäure vorhandenen Mengen β -Oxybuttersäure mit in Berechnung zieht, ergibt sich, daß nur wenig β -Oxybuttersäure verschwindet.

Es lag auf der Hand zu untersuchen, ob die Leber vielleicht größere Mengen *Diacetsäure* im Durchströmungsexperiment zum Verschwinden bringen kann.

Tatsächlich kennt man Versuche, woraus sich ergibt, daß Diacetsäure von der Leber leichter angegriffen wird als β -Oxybuttersäure. *Emden* und *Michaud* (2) fanden, daß, wenn Diacetsäure zu Leberbrei zugesetzt wird, größere Mengen Diacetsäure verschwinden; nachher fanden *Dakin* und *Wakeman* (3), daß dieses Verschwinden der Diacetsäure unter Einwirkung von Leberbrei von einem Entstehen von β -Oxybuttersäure begleitet wird: 15 Proz. der zugesetzten Diacetsäure wurden von dem Leberbrei zu β -Oxybuttersäure reduziert. Diese Reduktion der Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure unter Einfluß der Fermente des Leberbreis geht, wie sich aus der *Dakinschen* Abhandlung ergibt, leichter vor sich als die Oxydation von β -Oxybuttersäure zu Diacetsäure. *Marriott* (4) sah ebenfalls kräftige Reduktion von Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure durch Leberbrei. Auch in seinen Versuchen werden ungefähr 15 Proz. der Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure reduziert. *Marriott* schließt aus seinen Versuchen, genau

wie *Dakin*, daß Leber besser Diacetsäure als β -Oxybuttersäure angreifen kann. *Friedmann* und *Maase* (5) fanden ebenfalls, wenn Leberbrei mit Diacetsäure vermischt wurde, nach einigen Stunden eine erhebliche Linksdrehung, herrührend von entstandener β -Oxybuttersäure. Auch hier wurden 15 bis 20 Proz. der zugesetzten Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure reduziert.

Friedmann und *Maase* haben weiter untersucht, was geschieht, wenn Diacetsäure bei der künstlichen Durchströmung durch die Leber geführt wird. Daß unter diesen Umständen β -Oxybuttersäure entsteht, hatten *Embsen* und seine Mitarbeiter schon nachgewiesen. *Friedmann* und *Maase* haben versucht, die quantitativen Verhältnisse festzustellen. Sie meinten aus ihren Versuchen schließen zu müssen, daß die Leber nicht nur aus Diacetsäure β -Oxybuttersäure bildet, sondern daß auch ein nicht unbeträchtlicher Teil der Diacetsäure bei der Durchströmung verschwindet. So sahen sie, daß, wenn bei der Durchströmung 1,873 g Diacetsäure zugesetzt waren, 849 mg Diacetsäure verschwanden und nur 544 mg β -Oxybuttersäure entstanden waren. In einem zweiten Versuch waren 1,977 g Diacetsäure dem Durchströmungsblood zugesetzt und waren nach 1 ½ Stunden 1,555 g Diacetsäure verschwunden, während nur 484 mg β -Oxybuttersäure nachgewiesen werden konnten.

Die Versuchsanordnung und die Analysen von *Friedmann* und *Maase* waren sicher korrekt. Die Schlußfolgerung war aber falsch, denn man muß hier mit folgenden Fehlerquellen Rechnung halten.

1. Wenn durch Blut, dem Diacetsäure zugesetzt ist, Sauerstoff geführt wird, geht ein Teil der Diacetsäure verloren.

2. Es findet eine Adsorption von β -Oxybuttersäure an der Lebersubstanz statt, genau wie wir das in unseren vorigen Versuchen bei der Durchströmung der Leber mit β -Oxybuttersäure beobachtet hatten.

Was die erste Fehlerquelle betrifft, so sieht man, daß, wenn Diacetsäure mit Blut vermischt wird, hieraus eine beträchtliche Menge Aceton entsteht. Wenn Aceton mit Blut auf 37° erwärmt wird, im Durchströmungsapparat herumgeführt und mit Sauerstoff gemischt wird, muß natürlich ein Teil des Acetons verschwinden. Tatsächlich hat sich ergeben, daß, wenn wir Blut, mit Diacetsäure vermischt, im *Embsen*-schen Durchströmungsapparat herumführten, ohne daß eine Leber eingeschaltet war, ein Teil der Diacetsäure verschwindet.

1. 800 ccm Blut, dem 324 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) zugesetzt sind, werden während 2 Stunden im Durchströmungsapparat herumgeführt, ohne daß eine Leber eingeschaltet ist. Nach 2 Stunden sind nach 280 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) nachzuweisen: Verlust 14 Proz.

2. 800 ccm Blut, dem 290 mg Diacetsäure (als Aceton berechnet) zugesetzt sind, werden auf dieselbe Weise behandelt. Nach 2 Stunden sind noch 257 mg nachzuweisen: Verlust 11 Proz.

Es ist deutlich, daß derartige Verluste größer sein müssen, wenn eine Leber im Apparat eingeschaltet ist. Selbst wenn man annimmt,

daß die Leber keine Diacetsäure abbaut, muß von der Oberfläche der Leber eine größere Menge Aceton, aus Diacetsäure entstanden, verdampfen. Eine derartige Verdampfungsoberfläche ist bei den Versuchen, wo das Blut nur durch den Durchströmungsapparat geführt wird, ohne daß eine Leber eingeschaltet ist, nicht vorhanden. Beträchtliche, nicht genau zu berechnende Verluste von Diacetsäure sind also bei derartigen Leberdurchströmungsversuchen schwer zu vermeiden. Aus den blinden Versuchen ergibt sich, daß man wenigstens mit einem Verlust von 10 bis 15 Proz. zu rechnen hat. Es ist wohl sicher, daß eigentlich diese Verluste größer sind.

Auch die Adsorption von bei der Durchströmung entstandener β -Oxybuttersäure an die Lebersubstanz muß bei der Berechnung dieser Versuche berücksichtigt werden. Bei den Leberdurchströmungen mit Diacetsäure entstehen große Mengen β -Oxybuttersäure, die für einen beträchtlichen Teil an die Lebersubstanz adsorbiert werden. Um eine einigermaßen genaue Bilanz von diesen Versuchen aufstellen zu können, muß also die Lebersubstanz genau analysiert werden.

Wir haben deshalb von neuem die überlebende Hundeleber durchströmt mit Hundeblood, dem Diacetsäure zugesetzt war. Auch jetzt wurde immer großer Wert gelegt auf schnelle Durchströmung bei niedrigem Druck (20 bis 40 mm). Für die Technik der Durchströmung und die Analysenmethodik für Diacetsäure und β -Oxybuttersäure in Blut und Leber siehe unsere vorige Abhandlung. Das Blut wurde in 1½ Stunden 20- bis 30 mal durch die Leber geführt.

Tabelle I.

Blutmenge		Lebergewicht		Blut vor Durchströmung		Leber vor Durchströmung		Blut nach Durchströmung		Leber nach Durchströmung	
vor	nach	vor	nach	Aceton + Diacet.säure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacet.säure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacet.säure	β -Oxybuttersäure	Aceton + Diacet.säure	β -Oxybuttersäure
Durchströmung		Durchströmung		mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
ccm	ccm	g	g								
855	670	325	510	173	17,1	Spur	23	31	77,7	6,5	83,1
890	819	265	336	207	39,2	.	19	133	182,5	8,6	136
840	780	250	310	302	11	.	18	101	160	8,3	85
870	710	380	540	303	16,7	.	27	60,2	145	15	150
876	689	248	435	293	—	.	18	99	109	17,7	164

Genau wie *Emden*, *Friedmann* und *Maase* beschrieben haben, sieht man auch bei unseren Versuchen (Tabelle I), daß die Leber große Mengen der zugesetzten Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure reduzieren kann. Wenn wir nur die Analysenzahlen des *Blutes* betrachten, sehen wir, daß 25, 35, 30, 25 und 20 Proz. der zugesetzten Diacetsäure als β -Oxybuttersäure im Blute zurückzufinden sind. Diese Zahlen stimmen

gut überein mit den Angaben von *Friedmann* und *Maase*, die einmal 25 Proz., einmal 27 Proz. der zugesetzten Diacetsäure als β -Oxybuttersäure im Blute zurückfanden.

Es ist aber falsch, nur die Analysenzahlen des Blutes zu berücksichtigen, denn bei unseren Versuchen ergibt sich, daß ein großer Teil der gebildeten β -Oxybuttersäure an die Lebersubstanz adsorbiert wird. In der Leber ist viel mehr β -Oxybuttersäure anwesend als übereinstimmt mit dem β -Oxybuttersäuregehalt des Blutes, das in der Leber nach der Durchströmung vorhanden ist. Auch in dieser Versuchsreihe fällt wieder auf, daß diese Adsorption an die Lebersubstanz elektiv die β -Oxybuttersäure betrifft; die Diacetsäure wird viel weniger stark von der Lebersubstanz festgehalten, wie sich aus Tabelle II ergibt.

Tabelle II.

	Menge Blut in der Leber ccm	Diacetsäure in Leber		β -Oxybuttersäure in Leber	
		Theoretisch berechnet	Tatsächlich	Theoretisch berechnet	Tatsächlich
I	185	$\frac{185}{670} \cdot 31 = 8,5$ mg	6,5 mg	$\frac{185}{670} \cdot 77,7 = 21,5$ mg	83,1 mg
II	71	$\frac{71}{819} \cdot 133 = 11,5$ "	8,6 "	$\frac{71}{819} \cdot 182,5 = 15,8$ "	136 "
III	60	$\frac{60}{780} \cdot 101 = 7,8$ "	8,3 "	$\frac{60}{780} \cdot 160 = 12,3$ "	85 "
IV	160	$\frac{160}{710} \cdot 60,2 = 13,5$ "	15 "	$\frac{160}{710} \cdot 145 = 33,5$ "	153 "
V	187	$\frac{187}{689} \cdot 99 = 27$ "	17,7 "	$\frac{187}{689} \cdot 109 = 29,6$ "	164 "

Es ist nun die Frage, ob, wenn man die Mengen Diacetsäure und β -Oxybuttersäure, die in der Leber anwesend sind, mitberechnet, bei der Durchströmung der Leber mit Diacetsäure dennoch ein Verschwinden dieser Säure auftritt. Hierbei müssen wir bedenken, daß, wie oben mitgeteilt, allein durch die Apparatur, ohne Einschaltung von einer Leber, aus Blut mit Diacetsäurezusatz, schon ungefähr 10 bis 15 Proz. der Diacetsäure verschwindet, wahrscheinlich, weil ein Teil in Aceton übergeführt wird und verdampft. Diese Verluste müssen nach Einschaltung der Leber größer sein, weil dann die Verdampfungsoberfläche größer wird. Wir haben diesen Verdampfungsverlust auf 15 Proz. angenommen, wahrscheinlich ist dieser Verlust höher.

Durch diese Fehlerquelle werden die Bilanzen der Versuche ungenau. Wir haben die Zahlen in Tabelle III zusammengestellt. Alle Zahlen, auch die der β -Oxybuttersäure, sind in dieser Tabelle in Milligrammen Aceton ausgedrückt, um die Übersichtlichkeit der Bilanzen zu erleichtern.

Tabelle III.

Vor Durchströmung		Nach Durchströmung	
I. Blut:	Diacetsäure	173 mg	31 mg
	β -Oxybuttersäure	9,5 "	43,4 "
	Leber: β -Oxybuttersäure	23 "	6,5 "
		195,5 mg	46,3 "
	15 Proz.	83,1 mg	127,2 mg
II. Blut:	Diacetsäure	287 mg	133 mg
	β -Oxybuttersäure	21,9 "	102 "
	Leber: β -Oxybuttersäure	19 "	8,7 "
		319,4 mg	76 "
	15 Proz.	136 mg	319,7 mg
III. Blut:	Diacetsäure	302 mg	101 mg
	β -Oxybuttersäure	6 "	89,5 "
	Leber: β -Oxybuttersäure	18 "	8,3 "
		318 mg	45,4 "
	15 Proz.	85 mg	244,2 mg
IV. Blut:	Diacetsäure	303 mg	60,2 mg
	β -Oxybuttersäure	9 "	81 "
	Leber: β -Oxybuttersäure	27 "	15 "
		327 mg	85 "
	15 Proz.	153 mg	241,2 mg
V. Blut:	Diacetsäure	293 mg	99 mg
	β -Oxybuttersäure	— "	59,5 "
	Leber: β -Oxybuttersäure	18 mg	17,7 "
		303 mg	90 "
	15 Proz.	164 mg	266,2 mg

Aus der Tabelle III ergibt sich folgendes:

Im ersten Versuch werden von 166,2 mg Diacetsäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 127,2 mg zurückgefunden (54 Proz. als β -Oxybuttersäure, 23 Proz. als Diacetsäure).

Im zweiten Versuch werden von 271,4 mg Diacetsäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 319,7 mg zurückgefunden (66 Proz. als β -Oxybuttersäure, 62 Proz. als Diacetsäure).

Im dritten Versuch werden von 270 mg Diacetsäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 244,2 mg Diacetsäure zurückgefunden (50 Proz. als β -Oxybuttersäure, 41 Proz. als Diacetsäure).

Im vierten Versuch werden von 278 mg Diacetsäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 241,2 mg zurückgefunden (60 Proz. als β -Oxybuttersäure, 27 Proz. als Diacetsäure).

Im fünften Versuch wurden von 258 mg Diacetsäure nach der Durchströmung in Blut und Leber 266,2 mg zurückgefunden (58 Proz. als β -Oxybuttersäure, 45 Proz. als Diacetsäure).

Wenn man die unkontrollierbare Fehlerquelle der Verdampfung der Diacetsäure in der Form von Aceton aus dem strömenden Blute auf 15 Proz. annimmt, dann ergibt sich also, daß bei der Durchströmung der überlebenden Hundeleber mit Diacetsäure der größte Teil (50 bis 60 Proz.) als β -Oxybuttersäure in Blut und Leber zurückzufinden ist, daß aber nur relativ wenig Diacetsäure verschwindet.

Man hat hierbei genau wie bei der Durchströmung der Leber mit β -Oxybuttersäure Rechnung zu halten mit der Menge Ketokörper, welche die normale Leber bei der Durchströmung mit normalem Blute bildet. Tatsächlich haben wir im zweiten und fünften Versuch mehr β -Oxybuttersäure und Diacetsäure zurückgefunden als wir vor der Durchströmung zugesetzt hatten. In den anderen Versuchen ist also bei der Leberdurchströmung eine gewisse, wenn auch nur kleine, Menge Diacetsäure verschwunden.

Zusammenfassung.

Nach Durchströmung normaler überlebender Hundeleber mit Blut, dem Diacetsäure zugesetzt ist, waren in Blut und Leber nach der Durchströmung zweimal etwas mehr Ketokörper, als der zugesetzten Menge entsprach, vorhanden, dreimal weniger, und zwar waren nur 77, 89 und 87 Proz. nachzuweisen. Der größte Teil (50 bis 60 Proz.) ist in der Form von β -Oxybuttersäure anwesend.

Auch bei diesen Versuchen wird ein erheblicher Teil der gebildeten β -Oxybuttersäure an der Lebersubstanz adsorbiert. Nach der Durch-

strömung ist in der Leber viel mehr (vier- bis neunmal mehr) β -Oxybuttersäure vorhanden als mit dem β -Oxybuttersäuregehalt des in der Leber anwesenden Blutes übereinstimmt.

Es scheint also, daß die Leber tatsächlich leicht Diacetsäure zu β -Oxybuttersäure reduziert, obgleich auch der Diacetsäure gegenüber das zerstörende Vermögen der überlebenden Leber nur schwach ist.

Literatur.

- 1) *Snapper* und *Grünbaum*, diese Zeitschr. **181**, 410, 1927. — 2) *Embden* und *Michaud*, Beitr. z. chem. Physiol. **11**, 336, 1908. — 3) *Dakin* und *Wakeman*, Journ. of biol. Chem. **8**, 97, 102, 1910. — 4) *Marriott*, ebendasselbst **18**, 241, 1914. — 5) *Friedmann* und *Maase*, diese Zeitschr. **27**, 474, 1913.

Zellatmung.

V. Mitteilung:

Über den Oxydationsmechanismus einiger Pflanzen.

Von

A. v. Szent-Györgyi.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Reichsuniversität zu Groningen.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1926.)

Vor einiger Zeit wurde der Oxydationsmechanismus der Kartoffeln einer Analyse unterzogen¹⁾, in der Hoffnung, bei dieser Arbeit Gesichtspunkte für die Erforschung der tierischen Oxydationen zu gewinnen. Diese Arbeit nahm ihren Ausgangspunkt aus der Arbeit *W. Palladins* und stützte sich weiter auf die Arbeit von *J. Wolff* und *M. W. Onslow* und *M. E. Robinson*. Als Grundlage dieser Versuche wurde die klassische Guajakreaktion gebraucht. Es wurde festgestellt, daß das untersuchte Oxydationssystem der Kartoffeln im wesentlichen aus drei Gliedern besteht, aus einer Phenoloxydase, einem Phenol (mit o-Dihydroxygruppe) und der Gruppe der Dehydrasen. Das Phenol hat die Funktion des Wasserstofftransporteurs und wird einerseits durch die Oxydase (plus Sauerstoff) zum o-Diketochinon oxydiert. Dieses wird dann durch die Dehydrasen wieder zum Brenzcatechin reduziert. Werden in diesem System die Dehydrasen (mit den dehydrierbaren Substanzen) durch Guajakharz ersetzt, so wird nun an Stelle des aktivierten Wasserstoffs der Nährstoffe der labile Wasserstoff des Harzes durch das Chinon aboxydiert, welche Oxydation sich durch die entstehende Blaufärbung erkennen läßt. Im wesentlichen ist diese Arbeit in der letzten Zeit durch *Onslow* und *Robinson*²⁾ bestätigt worden.

Weiterhin wurde bei der obigen Arbeit die schwarzbraune Verfärbung untersucht, die die mit Chloroformdämpfen behandelten Schnitte der Kartoffeln an der Luft eingehen. Es wurde gezeigt,

¹⁾ Diese Zeitschr. 162, 399, 1925.

²⁾ Biochem. Journ. 20, 1138, 1926.

daß diese durch eine vierte Substanz bedingt wird, die mit dem o-Diketochinon reagiert, wenn dieses nicht durch die Dehydrasen reduziert wird. Diese Substanz wurde *Tyrin* genannt.

Untersucht man verschiedene Pflanzen mit derselben Methode, d. h. mit der Guajakreaktion, und der Beobachtung der schwarzbraunen Verfärbung an der Luft, so zeigen die verschiedenen Pflanzen, wie bereits aus den Arbeiten von *Wolff*, *Onslow*, *Onslow* und *M. E. Robinson*, *B. Moore* und *E. Whitley* bekannt, ein durchaus verschiedenes Verhalten. Einige Pflanzen zeigen diese Reaktionen diffus an der ganzen Schnittfläche, andere zeigen sie nur stellenweise, andere wieder gar nicht, oder in ganz anderer Form. Wie durch *Wolff*, *Onslow* und *Robinson* bekannt, enthalten auch nicht alle Pflanzen aromatische Substanzen mit einer o-Dihydroxygruppe.

Die Frage, die ich mir zunächst vorgelegt habe, war die, ob dieses System Dehydrase—aromatischer Wasserstofftransporteur—Phenoloxydase bloß das Eigentum gewisser Pflanzen sei, die die obigen Reaktionen geben, oder aber, ob alle Pflanzen, die mir zugänglich waren, auch die, die keine Guajakreaktion geben, ein derartiges Oxydationssystem besitzen.

Es wurden also 13 verschiedene Pflanzen bzw. die Früchte, Knollen oder Wurzeln der Pflanzen untersucht. Diese waren die folgenden: Kartoffel (*Solanum tuberosum*), Apfel (*Pirus malus*), Birne (*Pirus communis*), Bohne (*Phaseolus vulgaris*), Banane (*Musa sapientum*), Traube (*Vitus vinifera*), Rübe (*Beta vulgaris*), Melone (*Cucumis melo*), Zeller (*Apium graveolens*), Ananas (*Ananassa sativa*), Karotten (*Daucus carota*), Meerrettigwurzel (*Rafanus sativus niger*) und Gurke (*Cucumis sativus*).

Die Arbeit ergab, daß in allen daraufhin untersuchten Pflanzen ein analoges Oxydationssystem gefunden werden konnte. Die wesentlichste Variation ergab sich nur in der chemischen Konstitution des aromatischen Wasserstofftransporteurs mit der damit Hand in Hand gehenden etwas verschiedenen Einstellung und Leistungsfähigkeit der zugehörigen Phenoloxydase. Dieser Unterschied ist auch genügend, um das verschiedene Verhalten der Pflanzen in den obigen Reaktionen zu erklären.

Experimenteller Teil.

1. *Die Guajakreaktion.* Die untersuchten Pflanzen lassen sich auf Grund dieser Reaktion in drei Gruppen einteilen: in solche, die die Reaktion an der ganzen Schnittfläche geben, in solche, die die Reaktion nur stellenweise, und in solche, die die Reaktion gar nicht geben.

Pflanzen mit diffuser Guajakreaktion. Zu dieser Gruppe gehören die Früchte der folgenden Pflanzen: Kartoffel, Apfel, Birne, Banane und die Hülse der Bohne. Auf Grund der Untersuchungen von *J. Wolff*, *M. W. Onslow* und *M. E. Robinson* können wir sagen, daß diese Pflanzen das oben

beschriebene dreigliedrige Oxydationssystem besitzen und hierbei als aromatischen Wasserstofftransporteur eine Substanz mit *o*-Dihydroxygruppe gebrauchen. Dieser Körper wird durch die Oxydase zu einem *o*-Diketochinon oxydiert.

Die Guajakreaktion und hiermit auch die Leistungsfähigkeit des Systems ist nicht in allen Teilen der Früchte gleich und ist am stärksten in den peripheren Teilen, wo auch die Sauerstoffkonzentration am höchsten ist. In der Banane scheinen die in Längsrichtung laufenden, strangartigen Bildungen Stätten besonders intensiver Oxydationen zu sein.

Pflanzen, die nur stellenweise die Guajakreaktion geben, sind: die Rübe, Traube, Karotte und Zeller. Die erste Frage, die sich beim Aufstellen dieser Gruppe aufdrang, war die nach der Ursache des negativen Ausfalls der Reaktion an gewissen Teilen der Schnittfläche. Unter den untersuchten Pflanzen ist die Rübe ein besonders schönes, man könnte sagen klassisches Beispiel. Schneidet man eine Scheibe aus dieser Wurzel, so finden wir, daß diese ganz weiß ist, nur an der Peripherie einen dünnen braunen Saum aufweist. Beim Stehen an der Luft verändert sich die weiße Farbe nicht. Bestreicht man nun die ganze Schnittfläche mit Guajaktinktur, so erscheint bald im peripheren, dünnen Saume, der sich auch ohne Guajak durch seine braune Farbe erkennen läßt, eine intensive blaugrüne Farbe. Die große zentrale Masse bleibt ungefärbt. Wird aber vorher in diesem zentralen Teile mit einem Glasstäbchen etwas Brenzkatechin an der Oberfläche des Schnittes verrieben und dann die Guajaktinktur aufgebracht, so erscheint an dieser Stelle, die mit Brenzkatechin behandelt war, bald die schöne blaugrüne Farbe. Die Rübe besitzt also in allen ihren Teilen eine recht aktive Oxydase für Brenzkatechin, die diese Substanz unter Bildung des *o*-Diketochinons oxydiert, nur ist in der Pflanze, abgesehen vom schmalen peripheren Saume, keine Substanz mit *o*-Dihydroxyformation anwesend. Diese Folgerung kann auch durch die direkte chemische Analyse gestützt werden. Die aus den zentralen Teilen der Pflanze gewonnenen Extrakte zeigen keine Brenzkatechinreaktion.

Wir können die im Innern der Rübe anwesende aktive Phenoloxydase auch direkt nachweisen, wenn wir auf die Oberfläche Brenzkatechin oder Pyrogallolguajak aufbringen. Die Stellen, die wir mit diesen Substanzen behandelt haben, zeigen bald eine dunkle, braune Verfärbung. Die Reaktion ist am stärksten in den zirkulär angeordneten sekundären Gefäßbündeln. Auch die Guajakreaktion ist hier am stärksten (nach vorhergehender Behandlung mit Brenzkatechin).

Die Rübe hat also in ihrer ganzen Masse eine recht aktive Phenoloxydase, die Brenzkatechin in intensiver Weise zum *o*-Diketochinon oxydiert. Der zu dieser Oxydase gehörende aromatische Körper (der also kein Brenzkatechinderivat ist) kann leicht nachgewiesen werden, wenn wir die Scheiben in Chloroformdämpfen an der Luft stehenlassen. Die Schnitte zeigen dann eine dunkle, blauschwarze Verfärbung, die nicht anders als durch die Oxydation eines aromatischen Körpers erklärt werden kann.

Dieses Beispiel zeigt auch, daß die Einteilung und Schlußfolgerung von *Onslow* zu streng gefaßt ist. *Onslow* teilt die Pflanzen ein in solche, die die Guajakreaktion geben, und in solche, die die Guajakreaktion nicht geben, und kommt weiter zu der Schlußfolgerung, daß die Gewebe, die die Reaktion nicht geben, keinen aromatischen Körper mit *o*-Dihydroxygruppe enthalten, und daß diese Gewebe, die keine solche Substanz enthalten,

auch nicht imstande sind, Brenzcatechin zu oxydieren. Daß dieser Schluß zu streng gefaßt ist, dafür gibt auch das weitere Material dieser Arbeit verschiedene Beispiele (s. weiter unten).

Ein der Rübe analoges Verhalten zeigt die *Traube*. Bestreicht man die Schnittfläche mit Guajak, so bleibt die große Masse ungefärbt, nur um die Kerne hin erscheint ein schmaler grüner Saum mit positiver Guajakreaktion. Bestreicht man jedoch die Schnittfläche mit Brenzcatechin und dann mit Guajak, so zeigt sich bald eine sehr intensive positive Reaktion. Auch die Farbe kann also in ihrer ganzen Masse Brenzcatechin zum o-Diketochinon oxydieren, trotzdem sie, wie auch die direkte chemische Analyse zeigt, keinen aromatischen Körper mit o-Dihydroxygruppe enthält. Auch die nach *Omslow* gereinigten Oxydasen der Traube zeigen in Gegenwart von Brenzcatechin eine positive Guajakreaktion.

Die Karotten zeigen in ihrer äußersten Schale die Guajakreaktion äußerst intensiv. Macht man mit der Spitze eines Messers einige Striche an der Oberfläche der Wurzel und bringt dann Guajaktinktur auf, so zeigen die Striche gleich eine dunkel blaugrüne Farbe. An dem Querschnitt der Wurzel läßt sich dieser Saum intensiver Reaktion wegen seiner Schmalheit kaum nachweisen. Der Querschnitt zeigt in einem breiten peripheren Saume eine schwächere, jedoch recht deutliche Guajakreaktion. Die zentrale Partie ist negativ und zeigt nur unregelmäßig zerstreute Punkte mit positiver Reaktion.

Beim *Zeller* finden wir einen schmäleren peripheren Saum positiver Reaktion. Hiernach folgt an der Schnittfläche nach innen zu ein schmaler Ring mit negativer, dann ein Ring mit schwacher positiver Reaktion, die stellenweise strangförmig radiär gegen das Zentrum einstrahlt. Diese Stellen positiver Reaktion lassen sich schon an der frischen Schnittfläche durch ihre bräunliche Verfärbung erkennen. Die mir zur Verfügung stehenden Exemplare schienen ziemlich alt zu sein.

Zur Gruppe der negativen Pflanzen gehören Gurken, Meerrettigwurzel, Melonen und Ananas [s. auch *B. Moore* und *E. Whitley*¹⁾]. Bei Meerrettigwurzel darf die Einteilung nicht ganz scharf gefaßt werden. Bei einigen alten Exemplaren von Meerrettigwurzeln fand ich an der Schnittfläche einen doppelten peripheren Saum positiver Reaktion. Diese Stelle positiver Reaktion ließ sich bereits im voraus an der schwachen bräunlichen Verfärbung erkennen. Bei der Melone fand ich stellenweise an bereits normal dunkelbraun gefärbten Stellen der äußersten Schale eine positive Reaktion.

Behandelt man die Schnittfläche dieser Pflanzen mit Brenzcatechin und bringt dann Guajak auf, so bleibt die Reaktion negativ. Die nach *Omslow* aus diesen Pflanzen präparierten Oxydasen waren ebensowenig imstande, Guajak zu bläuen, auch nicht nach Zufügung von Brenzcatechin. Diese Pflanzen enthalten also keine Oxydase, die Brenzcatechin zum o-Diketochinon zu oxydieren vermag.

Die Frage war nun, ob diese Pflanzen nun überhaupt kein dem obigen analoges Oxydationssystem enthalten, oder ob das System unter den gegebenen Umständen nur nicht nachgewiesen werden kann. Diese Frage war für uns von besonderem Interesse, da die Gewebe phylogenetisch höher stehender Tiere nach ihren Reaktionen sich gleich dieser dritten Gruppe verhalten.

¹⁾ Biochem. Journ. 4, 136, 1909.

Daß Glieder dieser dritten Gruppe trotz der obigen negativen Reaktion ein analoges System bzw. eine recht aktive Phenoloxydase besitzen, läßt sich am Beispiel der Gurke einfach nachweisen.

Wird die Schnittfläche der Frucht mit Pyrogallol bestrichen, so zeigt sie bald eine dunkelbraune Verfärbung, die auf eine intensive Oxydation dieses Phenols hinweist.

Eingehender wurden auf ihre Wirksamkeit bei allen vier Pflanzen die anlehnend an die *Onslow*sche Methode präparierten Oxydasen untersucht.

Bei der Augurke wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Frucht wurde dünn geschält. Der zentrale, weichere, wasserreichere Teil wurde entfernt, der Rest in dünne Schnitte geschnitten und dann sofort in das dreifache Volumen 96proz. Äthylalkohol gesetzt. Nach mehrmaligem gründlichen Durchrühren und Durchkneten wurde etwa eine Stunde später über Watte filtriert, dann in der *Buchnerschen* Presse bei 300 Atmosphären Druck ausgepreßt. Der Rest wurde nochmals aus einem geringeren Volumen Alkohol versetzt, nochmals ausgepreßt, dann in vacuo getrocknet und zerkleinert.

Bei der Melone wurde in derselben Weise gearbeitet, nur wurden die zweimal mit Alkohol extrahierten und ausgepreßten Gewebe noch mit Äther gründlich extrahiert. Bei Ananas wurde außer der Schale die zentrale, faserige Achse entfernt.

Bei der Meerrettigwurzel wurde das mit Alkohol extrahierte Gewebe mit einer geringeren Menge Wasser versetzt, dessen Volumen ungefähr ein Viertel des Volumens der verwendeten Gewebe entsprach. Mit dem Wasser wurde das Gewebe bei 37° 1 Stunde lang digeriert. Dann wurde an der *Buchner*-Presse bei 200 Atmosphären Druck ausgepreßt, der Preßsaft zentrifugiert, dann mit dem dreifachen Volumen Alkohol präzipitiert. Das Präzipitat wurde am *Büchner*-Filter abgeschieden und samt dem Filtrierpapier in vacuo getrocknet. Stückchen des Papiers mit der anhaftenden Oxydase wurden dann zum Oxydaseversuch verwendet.

Der Oxydaseversuch wurde folgendermaßen ausgeführt: 0,5 ccm des entsprechenden Phenols wurden in einem kleinen, etwa 6 ccm fassenden Mikrobecher mit 1 ccm eines 0,2 mol. Phosphatpuffers versetzt. Die Amine wurden vorher selbst auch noch auf das gewünschte p_H gebracht. Das p_H entsprach stets dem p_H des frischen Preßsaftes der entsprechenden Pflanze. Außerdem wurde mit der Oxydase der Augurke und der Meerrettigwurzel noch ein Versuch bei p_H 7 bzw. 6,8 angestellt. Von Adrenalin Dopa und Tyrosin wurden schwächere Lösungen verwendet. Die Oxydation des Phenols wurde nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur aus der dunklen Verfärbung abgelesen. Bei allen Versuchen wurden natürlich auch Kontrollversuche ohne Oxydase angestellt, um die spontane Oxydation des Phenols auszuschließen.

Die Resultate sind in der umstehenden Tabelle verzeichnet. Die Intensität der Oxydation steigt in folgender Weise: 0, Spur, \pm , (+), +, ++.

Alle verwendeten Phenole werden durch Kartoffeloxydase in intensiver Weise oxydiert. Bei den hier verwendeten Pflanzen bleibt, wie aus der Tabelle ersichtlich, der größte Teil der Phenole unoxydiert. Wenn wir von den Anidophenolen, deren Oxydation nach der letzt erschienenen Arbeit von *Handovsky*¹⁾ in besonderer Weise beurteilt werden muß, absehen, so sehen wir, daß alle vier Oxydasen am stärksten das Pyrogallol angreifen,

¹⁾ Biochem. Journ. 20, 1114, 1926.

	p-Phenylendiamin	m-Phenylendiamin	o-Phenylendiamin	p-Amidophenol	Phenol	o-Kresol	m-Kresol	p-Kresol	Hydrochinon	Resorcin	Brenzcatechin	Pyrogallol	Phloroglucin	Adrenalin	Dopa (3, 4-Dioxy-phenylalanin)	Tyrosin
Augurke, $p_H = 6$	±	±	0	±	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
$p_H = 7$	±	±	0	±	0	0	0	0	±	0	(+)	+	±	0	±	0
Meerrettigwurzel $p_H = 5,5$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	Spur	0	0
$p_H = 6,8$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	±	++	0	±	Spur	0
Melone $p_H = 6,8$?	?	0	+	+	0	0	0	0	0	±	+	±	0	0	0
Ananas (KH_2PO_4)	0	0	0	++	0	0	0	0	±	0	(+)	+	±	0	±	0

für dessen Oxydation unter den verwendeten Phenolen das geringste Oxydationspotential nötig ist. Daß die Vorliebe für Pyrogallol nicht in einer spezifischen Struktur des Moleküls, sondern eher im nötigen Oxydationspotential gesucht werden muß, zeigt der Umstand, daß bei niedrigerem p_H auch andere Phenole angegriffen werden. Die Leistungsfähigkeit der Oxydasen gegenüber Pyrogallol ist eine recht intensive und mit der Intensität der Leistungsfähigkeit der Oxydasen anderer Pflanzen recht vergleichbar.

Der negative Ausfall der Guajakreaktion bei diesen Pflanzen, auch nach Zufügung von Brenzcatechin, ließ vermuten, daß die Oxydasen das Brenzcatechin nicht oxydieren. Wie aus der Tabelle jedoch ersichtlich, wird diese Substanz doch oxydativ angegriffen. Die zugesetzte Guajak-tinktur bleibt aber auch in diesen Versuchen trotz der Oxydation des Phenols ungefärbt, also auch unoxydiert. Da das o-Diketochinon Guajak glatt oxydiert, muß angenommen werden, daß das Oxydationsprodukt bei diesen Pflanzen nicht das o-Diketochinon, sondern ein anderes (vielleicht ein Monoketochinon) ist. Auch die Farbe des bei diesen Versuchen entstehenden Chinons weicht deutlich von der Farbe des o-Diketochinons ab. Scheinbar kann das zur Bildung des o-Diketochinons nötige hohe Oxydationspotential durch diese Oxydasen nicht erreicht werden.

Alle die vier Pflanzen also, die Guajak auch nach Zufügung von Brenzcatechin ungebläut lassen, enthalten recht aktive Phenoloxydase, so daß wir annehmen können, daß auch diese Pflanzen mit dem dreigliedrigen Systems Dehydrase, aromatischer Wasserstofftransporteur, Phenoloxydase arbeiten. Um diese Konklusion noch weiter zu stützen, versuchte ich, bei der Meerrettigwurzel die Anwesenheit des aromatischen Wasserstofftransporteurs, der durch die Phenoloxydase oxydiert wird, direkt nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurde der primäre alkoholische Extrakt, der bei der Herstellung der Oxydasen erhalten wurde, mit 5 Proz. einer 25proz. Bleiacetatlösung versetzt. Nach einiger Zeit wurde an der Büchner-Kerze filtriert oder zentrifugiert, das Filtrat durch Schwefelsäure von Blei befreit und dann der Alkohol im Vakuum abgesogen. Die auf das nötige p_H gebrachte Flüssigkeit zeigt, mit Oxydase versetzt, nach einigem Stehen eine braungelbe Verfärbung.

2. Die Braunfärbung. Bekanntlich zeigen viele Pflanzen bzw. Früchte, wenn irgendwie beschädigt, eine dunkelbraune Verfärbung. Diese ist von der Farbe absterbender Äpfel und Birnen oder Bananen allgemein zur

Genüge bekannt. Diese letzteren Pflanzen geben bereits nach kürzerem Stehen an ihrer Schnittfläche die Verfärbung. Weitere Pflanzen, wie z. B. Kartoffeln oder Karotten, müssen in irgend einer Weise, z. B. mit Chloroformdämpfen beschädigt werden, um die Farbe zu geben. Andere Pflanzen wieder, wie Tomaten und Augurken, geben die Verfärbung unter keinen Umständen.

Wie eingangs erwähnt, konnte bei der früher ausgeführten Analyse bei Kartoffeln (zitiert S. 425) gezeigt werden, daß diese Farbe zum größten Teil bedingt wird durch die Oxydation einer besonderen Substanz, *Tyrin* genannt. Es wurde auch gezeigt, daß diese Substanz weder durch den Luftsauerstoff, noch durch die Oxydasen zu Pigment oxydiert wird. Sie wird, ebenso wie das Guajakharz, durch das o-Diketochinon oxydiert, das unter Einwirkung von Oxydase aus aromatischen Substanzen mit o-Dihydroxygruppe gebildet wird. Durch minder aktive Chinone wird das Tyrin unter Bedingungen, die in den Pflanzen vorkommen, nicht oxydiert¹⁾.

Nachdem das *Tyrin* in allen Pflanzen anwesend zu sein scheint, kann erwartet werden, daß alle Pflanzen oder Pflanzenteile, die eine aromatische Substanz mit o-Dihydroxygruppe und neben dieser eine Oxydase enthalten, die die Dihydroxyverbindung zu o-Diketochinon zu oxydieren vermögen, unter entsprechenden Bedingungen auch die typische dunkelbraune Verfärbung zeigen. Trifft eine dieser Bedingungen nicht zu, ist keine Substanz mit o-Dihydroxygruppe oder keine genügend aktive Oxydase anwesend, so können wir auch keine typische Braunfärbung erwarten.

Da wir das Zusammentreffen einer o-Dihydroxygruppe mit genügend aktiver Oxydase auch mit Guajak nachweisen können, konnte erwartet werden, daß die Stellen der Braunfärbung in den verschiedenen Pflanzen mit den Stellen positiver Guajakreaktion zusammenfallen werden, da die Bedingungen der Oxydation des Guajaks und des Tyrins identisch sind und beide Oxydationen Ausdruck desselben Prozesses sind²⁾.

Die Versuche zeigten, daß dies auch durchweg der Fall ist. Alle Pflanzen oder Pflanzenteile, die eine positive Guajakreaktion zeigten, zeigten unter entsprechenden Bedingungen auch die typische Braunfärbung, hingegen gaben die Pflanzen oder Pflanzenteile, die keine Guajakreaktion gaben, die typische Braunfärbung auch unter keinen Umständen.

Einige Pflanzen, wie z. B. die Karotten, zeigen die Braunfärbung erst nach längerem Behandeln mit Chloroformdämpfen, während die Guajakreaktion auch ohne Chloroform positiv ausfällt. Dies kann aber nicht wundernehmen, da das *Tyrin* schwerer oxydierbar ist als das Guajakharz, und sein Oxydationsprodukt ist auch viel minder farbenreich, also schwerer erkennbar.

¹⁾ Das p-Chinon oxydiert das Tyrin in erheblichem Maße erst bei hoher Konzentration, alkalischer Reaktion und erhöhter Temperatur.

²⁾ Es sei daran erinnert, daß das aus Adrenalin und Dopa unter Einwirkung der Oxydasen gebildete Chinon keinen Guajak zu bläuen vermag. Die Oxydationskraft dieser o-Chinone scheint durch die Seitenketten abgeschwächt zu sein. Es kann also erwartet werden, daß Pflanzen, die mit derartigen Wasserstofftransporteuren arbeiten, trotz der Gegenwart der o-Dihydroxygruppe und der aktiven Oxydasen keine Guajakreaktion geben werden und wahrscheinlich auch keine typische Braunfärbung zeigen.

Mit Chloroformdämpfen behandelt, gibt auch die Rübe an ihrer ganzen Schnittfläche eine dunkle Verfärbung, obwohl die zentrale Masse der Pflanze keine Guajakreaktion gibt. Diese Farbe ist aber von der Farbe des oxydierten *Tyrins* durchaus verschieden, kann also nicht von der Oxydation dieser Substanz herrühren. Das Tyrin gibt eine dunkelbraune Farbe, während die Rübe eine in Lila spielende blauschwarze Farbe annimmt.

Zusammenfassung.

Es wurden 13 verschiedene Pflanzen bzw. ihre Früchte, Knollen oder Wurzeln mit Hilfe der Guajakreaktion untersucht. Die Gewebe dieser Pflanzen können sich in dreierlei Weise verhalten: 1. sie bläuen das auf die Schnittfläche aufgebrauchte Guajak ohne besondere Zufügung, 2. sie bläuen Guajak erst nachdem Brenzcatechin auf die Schnittfläche aufgebracht ist, 3. sie lassen Guajak auch in Gegenwart von Brenzcatechin ungebläut.

Alle untersuchten Pflanzen besitzen das dreigliedrige Oxydationssystem: Dehydrase, aromatischer Wasserstofftransporteur, Phenoloxydase. Gewebe mit direkter Guajakreaktion haben einen Wasserstofftransporteur mit einer o-Dihydroxygruppe (*J. Wolff, M. W. Onslow M. E. Robinson*), der zum o-Diketochinon oxydiert wird (*v. Szent-Györgyi*). Gewebe, die das Guajak erst nach Zugabe von Brenzcatechin bläuen, haben eine Phenoloxydase, die Brenzcatechin ebenfalls zum o-Diketochinon zu oxydieren vermag, diese Pflanzen arbeiten aber mit einem anderen aromatischen Wasserstofftransporteur, dessen Oxydationsprodukt Guajak nicht zu oxydieren vermag. Pflanzen, die auch nach Zufügen von Brenzcatechin keine Guajakreaktion geben, besitzen Phenoloxydasen, die das Brenzcatechin nicht zum o-Diketochinon zu oxydieren vermögen.

Ein Teil der untersuchten Früchte bzw. Knollen oder Wurzeln zeigt an der ganzen Schnittfläche ein der Gruppe 1 entsprechendes Verhalten. Andere Pflanzen verhalten sich an der ganzen Schnittfläche der Gruppe 3 entsprechend. Andere Pflanzen wieder zeigen ein gemengtes Verhalten und zeigen in den verschiedenen Teilen ein den verschiedenen Gruppen entsprechendes Verhalten.

Die Braunfärbung der der Luft ausgesetzten Pflanzenteile wird durch eine früher beschriebene Substanz (*Tyrim*) bedingt, die, ebenso wie das Guajak, nicht unmittelbar durch die Oxydase, sondern erst durch das unter Einwirkung der Oxydase entstehende o-Diketochinon oxydiert wird, hat also dieselbe Bedeutung, wie die Guajakreaktion.

Zellatmung.

VI. Mitteilung:

Zur Funktion der Nebennierenrinde und über die Substanz C_{XII}.

Von

A. v. Szent-Györgyi.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Reichsuniversität zu Groningen.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1926.)

Die vor 6 Jahren im Leidener pharmakologischen Laboratorium begonnenen Nebennierenexstirpationsversuche gaben den Eindruck, daß die Nebennierenrinde in ihrer Funktion mit den biologischen Oxydationsprozessen in Verbindung stehe. Um hierüber in systematischer Arbeit Aufschluß zu erhalten, wurde seit dieser Zeit die biologische Oxydation einem eingehenden Studium unterzogen und die Resultate dieser Arbeit stets in Nebennierenexstirpationsversuchen auf ihre Verbindung mit der Nebennierenrinde geprüft. Die Resultate dieser Arbeit über Oxydation sind zum Teil in den ersten fünf Mitteilungen dieser Reihe wiedergegeben¹⁾. Im Laufe dieser Arbeit wurden etwa 60 Nebennierenexstirpationsversuche gemacht und 11 verschiedene Substanzen bis zu einer gewissen Reinheit isoliert, die ihre biologische Untersuchung ermöglichte.

Diese Arbeit war durch die Gastfreiheit von Herrn Prof. Dr. *W. Storm van Leeuwen* zu Leiden, weiland Prof. *H. J. Hamburger*, Herrn Prof. *F. J. J. Buitendijk* zu Groningen und Herrn Prof. *H. H. Dale* zu London und die Zuvorkommenheit des *British Medical Research Council* ermöglicht. Sehr zum Danke verbunden bin ich auch für die kurze Mitarbeit von Herrn *W. V. Thorpe* zu London.

Bis zu den letzten Monaten ist die Arbeit in bezug auf die Nebenniere durchaus negativ geblieben. In der letzten Zeit hat sie zur Aufindung einer Substanz geführt, die ich kurz C_{XII} nennen werde. Das C_{XII} wurde noch nicht isoliert, kann aber bereits als selbstständige Substanz charakterisiert werden. Die zu Kristallisationsversuchen nötigen Mengen standen mir leider noch nicht zur Verfügung.

¹⁾ I. Mitteilung, diese Zeitschr. 150, 195, 1924; II. Mitteilung, ebendasselbst 157, 50, 1925; III. Mitteilung, ebendasselbst 157, 67, 1925; IV. Mitteilung, ebendasselbst 162, 399, 1925; V. Mitteilung, ebendasselbst 181, 425, 1927; s. weiterhin diese Zeitschr. 146, 245, 1924; 173, 275, 1926; *R. J. Hamburger* und *A. v. Szent-Györgyi*, ebendasselbst 157, 298, 1925.

Diese Substanz C_{XII} ist in relativ großer Menge in der Nebennierenrinde anwesend, ist in den anderen Organen nicht oder nur in Spuren nachweisbar, bildet also einen spezifischen Bestandteil des Interrenalsystems.

Die Substanz ist zuerst bei gewissen Pflanzen aufgefunden worden, wo sie im Oxydationssystem als Katalysator zwischen der Reaktion der Dehydrase und dem aromatischen Wasserstofftransporteur an den Oxydationen teilzunehmen scheint. Seine Reaktionen und Löslichkeiten wurden zuerst bei pflanzlichem Material bestimmt und die hier gewonnenen Erfahrungen auf die Nebenniere übertragen, wo dann mit den Reaktionen die durchaus analoge Substanz nachgewiesen wurde, die hier als C_{XII} beschrieben wird.

Über die chemische Struktur des C_{XII} geben die Versuche noch keine festen Anhaltspunkte. Sein Verhalten gegenüber Lösungsmitteln spricht für ein einfach gebautes Molekül. Seine Reaktionen gegenüber Oxydationsmitteln geben den Eindruck, daß es sich um ein Thiophenolderivat handelt. Es sei auch erwähnt, daß das frische, zerkleinerte Nebennierenrindengewebe den Geruch von Thiophenol erkennen läßt, der bei keinem anderen Organ wiedergefunden werden konnte.

Die auffallendste Eigenschaft der Substanz, durch die sie auch gefunden wurde, ist ihr starkes Reduktionsvermögen.

Ich publiziere meine unabgeschlossenen Versuche aus dem Grunde, weil ich meine Groninger Werkstätte, wo ich meine Versuche in den letzten Jahren leitete, verlasse, und weil ich hierdurch für andere Forscher das Arbeiten mit der Substanz ermögliche, die, wenn sie auch noch nicht das aktive Hormon der Nebenniere zu sein scheint, möglicherweise zu dessen Auffindung führen könnte¹⁾.

Experimenteller Teil.

Das Material zu den Versuchen wurde stets durch das Groninger städtische Schlachthaus geliefert. Es wurden ausschließlich Nebennieren von Kühen bzw. Stieren verwendet. Die Nebennieren wurden so bald als möglich aus dem Körper herausgeschnitten. Immerhin aber

¹⁾ Wie aus dem experimentellen Teile ersichtlich, waren meine Umstände, unter denen ich arbeitete, noch nicht optimal, da ich das Material nicht eher als $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde post mortem erhalten konnte, in welcher Zeit das Hormon durch fermentative Funktionen gespalten werden konnte (z. B. durch Esterasen, wenn es ein Cholinester des C_{XII} sein sollte). Es sei noch erwähnt, daß sich alle Kardinalsymptome des Adison bzw. der experimentellen Nebennierenexstirpation in einfacher Weise erklären ließen, wenn das Interrenalhormon mit dem C_{XII} identisch oder verwandt sein sollte und diese Substanz in den tierischen Geweben eine analoge Rolle spielen würde, wie sie am pflanzlichen Gewebe zu spielen scheint.

verging zwischen dem Tode der Tiere und dem Ausschneiden der Drüse $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde. Ein schnelleres Arbeiten machen die hiesigen Umstände unmöglich.

Das Material, das ich stets persönlich in Empfang nahm, wurde sogleich auf Eis gelegt und dann gleich im Laboratorium des Schlachthauses weiter verarbeitet. Die Drüsen wurden mit einem Schnitte parallel zur flachen Oberfläche in zwei Teile geschnitten und dann das Mark mit einem Skalpell ausgekratzt. Das so erhaltene Rindengewebe wurde bei den verschiedenen Versuchen etwas verschieden weiter behandelt. In der größeren Anzahl der Versuche wurde das vom Mark befreite Rindengewebe gleich in eine Mischung von Petroläther und fester Kohlensäure getan. Das gesamte Material wurde nach dem physiologischen Laboratorium gebracht und da in der Hackmaschine noch in gefrorenem Zustande zerkleinert und in das $2\frac{1}{2}$ fache Volum Methylalkohol eingebracht. In anderen Versuchen wurde das frische, unveränderte Rindengewebe gleich in der Fleischhackmaschine zerkleinert und in Methylalkohol gebracht. Zu diesen Versuchen wurde der Alkohol in Eis vorgekühlt und während der Extraktion im Eis belassen.

Andere Extraktionsmittel als der Methylalkohol schienen nicht geeignet zu sein. Äthylalkohol gab eine viel geringere Ausbeute. Ebenso auch Aceton. Auch wässrige Extraktion, wie z. B. durch Trichlor-essigsäurelösung, gibt schlechte Ausbeute.

Die Extraktion dauerte 1 Stunde. Während dieser Zeit wurde öfters gerührt. Sehr geeignet schien mir die konstante Rührung durch einen lebhaften Kohlensäurestrom.

Nach etwa 1 Stunde wurde rasch durch ein Tuch filtriert, der Rest kräftig ausgepreßt und die Flüssigkeit dann an einer Büchnerkerze nochmals durch Papier filtriert.

Das Filtrat, das sogleich in Eis gesetzt wurde, wurde mit 10 Proz. einer 25proz. Bleiacetatlösung versetzt. Nach etwa $\frac{1}{2}$ Stunde wurde scharf abzentrifugiert, das Präzipitat in Äthylalkohol in etwa ein Viertel des ursprünglichen Volumens suspendiert, nochmals zentrifugiert. Der größere Teil der stets anwesenden, nicht unansehnlichen Menge von Adrenalin bleibt in den Flüssigkeiten zurück.

Das Präzipitat wurde nun unter Eiskühlung in Wasser suspendiert, und zwar ungefähr zu etwa ein Achtel des ursprünglichen Volumens, dann wurde tropfenweise unter starker Rührung 50proz. Schwefelsäure zugesetzt, bis die Flüssigkeit Kongo bläute. Die überschüssige Säure wurde sogleich mit NaHCO_3 neutralisiert. Dann wurde zentrifugiert. Die Flüssigkeit wurde dann für biologische Versuche in einer Thermosflasche in einer Mischung von fester Kohlensäure und Petroläther bewahrt.

War der Zweck des Versuchs die weitere Reinigung des Materials, so wurde der Bleiniederschlag an Stelle von Wasser in Methylalkohol suspendiert und in dieser alkoholischen Suspension in gleicher Weise mit 50proz. Schwefelsäure zersetzt.

Der Methylalkohol wurde dann bei niedriger Temperatur im vacuo abgedampft. Der trockene Rest wurde dann mit einer kleinen Menge wasserfreien Methylalkohols extrahiert, wobei ein unlöslicher Teil zurückbleibt und die Substanz C_{XII} zum größten Teile in Lösung geht. Aus dieser methylalkoholischen Lösung wird das C_{XII} weder durch Aceton, noch durch Äther oder Petroläther gefällt, geht aber aus der petrolätherischen Lösung nach Zufügen von Wasser glatt in die Wasserphase über. Der, nach Zufügen von Aceton oder Äther entstehende Niederschlag reißt stets eine gewisse Menge von C_{XII} mit sich. Ist das Präzipitat sehr reichlich, so kann der größte Teil der Substanz in den Niederschlag übergehen.

Es sei bemerkt, daß das verwendete Aceton und der Äther stets frisch destilliert wurden, und zwar beide über Calciumchlorid. Zum Äther wurde außer dem $CaCl_2$ auch noch etwas Calciumsulfid zugesetzt, um die Peroxyde zu reduzieren. Äther, der einige Zeit gestanden hat, enthält bekanntlich stets Peroxyde, die die Substanz C_{XII} oxydieren.

Die Löslichkeit von C_{XII} hängt in diesem Stadium zum größten Teile von den anwesenden Verunreinigungen ab. Reinere Präparate, die anscheinend nur geringe Mengen von Verunreinigungen enthalten, sind zum größten Teil selbst in trockenem, reinem Aceton, wenig in Äther, gar nicht in Petroläther löslich, ganz glatt in Wasser oder Methylalkohol löslich.

Aus acetonätherischer Lösung wird die Substanz C_{XII} bei -78° (feste Kohlensäure) durch Petroläther niedergeschlagen.

Die gereinigten C_{XII} enthaltenden Lösungen zeigen die folgenden Eigenschaften: sie reduzieren glatt Jod, und zwar vermag das aus 1 g Nebennierenrinde gewonnene C_{XII} ungefähr 0,05 bis 0,1 ccm n/10 Jod zu reduzieren¹⁾.

Dieses Reduktionsvermögen kann weder auf Adrenalin, noch auf Glutathion zurückgeführt werden, da es auch in adrenalin- und glutathionfreien Lösungen gefunden wird. Die Substanz gibt keine Nitoprussidreaktion, auch nicht in Anwesenheit von Zinksulfat. Mit

¹⁾ Wäre das C_{XII} ein Thiophenol, so würde die Nebenniere, aus dem Reduktionsvermögen berechnet, ungefähr 0,1 Proz. dieser Substanz enthalten. Die Konzentration des C_{XII} in der Nebenniere ist also von der gleichen Größenordnung wie das Adrenalin.

Die gereinigten Präparate haben trotz des starken Reduktionsvermögens einen nur sehr geringen Trockenrückstand. Die gereinigten Präparate können also Verunreinigungen nicht mehr in größerer Menge enthalten.

Jod oxydiert, bleibt sie ungefärbt oder gibt nur eine schwache gelbe Farbe. Dasselbe gibt die Oxydation durch NO_2 (NaNO_2 plus Essigsäure) sowie die Oxydation durch Persulfat bei Siedehitze. Nach Zufügen von Natriumjodat und Essigsäure erscheint eine nicht zu dunkle gelbbraune Farbe, die beim Erwärmen an der Gasflamme noch vor dem Kochen verschwindet.

Wird Pyrogallol in essigsaurer Lösung mit einer geringen Menge Jodlösung zu braunrotem Merichinon oxydiert und dann C_{XII} zugefügt, so wird die Flüssigkeit entfärbt. Auch p-Phenylendiamin wird durch C_{XII} reduziert. Wird zur neutralen Lösung Silbernitrat zugesetzt, so wird sogleich metallisches Silber abgeschieden. Auch das Ferriion wird glatt zu Ferro reduziert, Das C_{XII} gibt weder mit Ferri noch mit Ferro bei saurer, neutraler oder alkalischer Lösung eine Farbreaktion. Permanganat wird durch das C_{XII} nicht reduziert, also kann auch das starke Reduktionsvermögen wahrscheinlich nicht auf eine doppelte Bindung zurückgeführt werden.

Nachtrag. Um die biologische Aktivität bzw. Hormonnatur des C_{XII} zu prüfen, wurden bei sechs Katzen in einer Sitzung die beiden Nebennieren extirpiert. Die Operation geschah vom Rücken aus. Bei zwei Katzen haben Blutungen die Operation kompliziert, diese wurden gleich vom Versuch ausgeschaltet. Bei einer Katze gab die besondere Lage der Nebenniere Schwierigkeiten. Dieses Tier starb 2 Tage nach der Operation und wurde weiter nicht verwendet. Von den bleibenden drei Katzen starb eine am siebenten und zwei am achten Tage, als Zeichen dessen, daß die Operation tadellos geglückt war.

Bei diesen Tieren konnte das von *Banting* an Hunden beobachtete Symptom der Blutungen am an die Zähne grenzenden Zahnfleisch beobachtet werden.

Am Tage vor dem Tode wurde mit den Injektionen begonnen. Die Injektion geschah intramuskulär oder intraperitoneal. Es zeigte sich bloß eine vorübergehende Besserung der Symptome mit einem geringen Steigen der niedrigen Temperatur um $\frac{1}{2}$ bis 1° . Derartige Besserung des Zustandes wird auch nach Adrenalininjektionen beobachtet und konnte mit dem Adrenalingehalt des Präparats erklärt werden. Bei zwei Versuchen wurde außer dem mit Blei präzipitierten C_{XII} auch der eingeeengte primäre methylalkoholische Extrakt eingespritzt. Diese Injektionen hatten denselben Effekt, keines der Präparate konnte das Leben verlängern. Das C_{XII} scheint also mit dem aktiven Hormon der Nebennierenrinde nicht identisch zu sein.

Es sei noch erwähnt, daß im Laufe dieser Untersuchungen nach Injektion frischer alkoholischer Extrakte der Nebennierenrinde sich bei Kaninchen wiederholt ein starker vagotroper Effekt beobachten ließ (Bradykardie, starke Myose und ein auf Bronchospasmus deutender Stridor). Die Substanz, die diesen Effekt gab, schien äußerst labil zu sein.

Da dieser Effekt unter den zahlreichen Extraktionsversuchen nur in einigen Fällen in seiner vollen Deutlichkeit erhalten wurde und die betreffenden Extrakte auch stets noch Adrenalin enthielten, konnte ich mir über diese Erscheinung kein definitives Urteil bilden. Leider bin ich nicht mehr imstande, ihn systematisch zu prüfen.

Über proteolytische Fermente im Serum.

VI. Mitteilung:

Über die Spezifität des proteolytischen Fermentes im Serum verschiedener Kaninchenrassen.

Von

M. Frhr. v. Falkenhausen und Hans J. Fuchs.

(Aus der Poliklinik der medizinischen Klinik und der chemischen Abteilung
des physiologischen Instituts der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1926.)

Die Reaktion des Serums auf artfremdes Eiweiß ist eine alte Erfahrung, die im rein serologischen Sinne bereits weitgehend erforscht ist und durch die Untersuchungen von *Uhlenhuth* namentlich eine ungeahnte praktische Bedeutung erlangt hat. Einem von uns¹⁾ gelang es jüngst, auf serochemischem Wege zu weiteren bemerkenswerten Feststellungen zu gelangen. Er fand, daß Serum von Pferd, Rind und Hammel zugesetztes artfremdes Fibrin unter besonders günstigen Bedingungen so verändert, daß ein großer Teil des darin enthaltenen hochmolekular gebundenen Stickstoffs dialysabel wird und mit Hilfe einer ganz besonders präzise arbeitenden Mikromethodik genauestens erfaßt werden kann. Es gelingt hierbei, sehr erhebliche Fibrinmengen restlos dem Abbau zuzuführen. Arteigenem Fibrin von normalen Tieren gegenüber verhalten sich die genannten Serumarten normaler Tiere vollkommen neutral. Von Abbau waren hier auch nicht die geringsten Spuren nachweisbar.

Bei sehr zahlreichen Versuchen mit Seren der erwähnten Tierarten ist hierin nie eine Ausnahme gefunden worden.

Die angestrebte Lösung gewisser anderer Fragestellungen, auf die in einer späteren Arbeit zurückzukommen sein wird, machte nun die Wahl des *Kaninchens* als geeignetes Versuchstier notwendig. Für unsere Versuchsreihen wurden uns ohne besondere Auswahl Exemplare namentlich der deutschen Mischrassen aber auch verschiedener reiner

¹⁾ Diese Zeitschr. 170, 76, 1926.

Rassen geliefert (Züchter *Ernst*, Ottendorf). Es zeigte sich hierbei, daß sich beim Kaninchen die Seren nicht allen arteigenen Fibrinen gegenüber indifferent verhielten, vielmehr fand sich zuweilen ein Fibrinabbau, obwohl Serum sowohl als auch Fibrin von vollkommen gesunden Normaltieren stammten.

Wir haben nun diese auffallende Erscheinung einer eingehenden Prüfung unterzogen und sind dabei zu Resultaten gekommen, die in mehrfacher Hinsicht von Interesse sind.

In einem Vorversuch stellten wir zunächst in der von *Fuchs*¹⁾ beschriebenen Weise Fibrinrockensubstrate von rassereinen Angorakaninchen (A.) und einem Kaninchen der deutschen Mischrasse (D. M.) nach Entblutung der Tiere her. Hierauf entnahmen wir zwei anderen, ebenfalls rassereinen Angorakaninchen (Mutter und Tochter aus einer anderen Zucht) Blut und setzten von dem daraus gewonnenen Serum je 1,0 ccm — neben einer Kontrolle ohne Fibrin — mit einer geringen Menge (etwa 2 mg) der vorerwähnten Fibrine an. Nach 48stündigem Verweilen im Brutschrank bei 39° C, unter Chloroformdampf, wurden¹⁾ die Proben mit je 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure *Merck* enteiweißt und klarfiltriert. 8,0 ccm des Filtrats wurden im Mikrokjeldahlverfahren verarbeitet. Die nachstehende Tabelle I, in der die Zahlen die durch NH₃ gebundenen Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄ bedeuten, veranschaulicht die erhaltenen Resultate.

Tabelle I.

1,0 ccm Serum + Substrat, 48 Stunden 39° C, + 11,0 ccm 2,5proz. Trichloressigsäure *Merck*, davon 8,0 ccm Filtrat.

Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄.

Fibrin	Serum A I	Serum A II
.....	3,64	3,80
D. M.	3,99	4,23
A.	3,59	3,81

Es läßt sich daraus ohne weiteres erkennen, daß die Seren der Angorarassee Kaninchen das rasseeigene Fibrin nicht angreifen, während sie nicht rassegleiches Fibrin der gleichen Tierart, in diesem Falle solches der deutschen Mischrasse, abbauen. Die Stärke des Abbaus differiert in den beiden Fällen nicht wesentlich.

Hierauf beschafften wir uns reinrassige Kaninchen aus garantierten Zuchten der Schwarzloh- (Schw.), Braunsilber- (Bs.) und Grausilber- rasse (Gs.). Wir entnahmen den Tieren Blut und setzten die daraus

¹⁾ Diese Zeitschr. 175, 185, 1926.

gewonnenen Seren in der vorstehend beschriebenen Weise mit den bei Versuch 1 benutzten Fibrinen der deutschen Mischrasse und Angorarasse an. Das Resultat veranschaulicht Tabelle II.

Tabelle II.

1,0 ccm Serum + Substrat, 48 Stunden 39° C, + 11,0 ccm 2,5proz. Trichlor-essigsäure *Merck*, davon 8,0 ccm Filtrat.

Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄.

Fibrin	Se. Schw.	Se. Bs.	Se. Gs.
.....	3,95	4,33	4,24
D. M.	4,12	4,49	4,54
A.	4,23	4,62	4,63

Die in jedem Falle dieser Tabelle rassefremden Fibrine werden durchweg von den Seren abgebaut. Bei den hier neu verwendeten Rassen entspricht die Serumwirkung also völlig den Beobachtungen beim ersten Versuch.

Zur Verbreiterung der Versuchsbasis stellten wir nunmehr von den drei bei Versuch 2 neu verwendeten Rassen nach vollständiger Ausblutung Fibrintrockensubstrate her und setzten diese mit den Seren von anderen Tieren der gleichen Rassen und dem einer anderen reinen Rasse (Russe: weiß, schwarzer Nasenfleck, schwarze Ohren, graue Pfoten und grauer Schwanz; Bezeichnung in der Tabelle: R.) an.

Tabelle III.

1,0 ccm Serum + Substrat, 48 Stunden 39° C, + 11,0 ccm 2,5proz. Trichlor-essigsäure *Merck*, davon 8,0 ccm Filtrat.

Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄.

Fibrin	Se. Schw.	Se. Gs.	Se. Bs.	Se. R.
.....	3,38	3,45	3,47	3,71
Gs.	3,67	3,45	3,80	3,91
Bs.	3,59	3,77	3,48	4,10
Schw.	3,36	3,69	4,02	4,35
D. M.	3,46	3,85	3,86	3,88

In derselben Weise wurde noch eine Anzahl Parallelversuche mit anderen Tieren der gleichen Rassen angestellt, von denen wir in Tabellen IV und V weitere Beispiele zur Darstellung bringen:

Tabelle IV.

Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄.

Fibrin	Se. Schw.	Se. Bs.	Se. Gs.
.....	2,92	3,32	4,10
Schw.	2,93	3,92	4,76
Bs.	3,20	3,31	4,47
Gs.	3,29	3,64	4,08
D. M.	3,11	3,71	4,52

Tabelle V.

Kubikzentimeter n/200 H₂SO₄.

Fibrin	Se. Schw.	Se. Bs.	Se. Gs.
.....	3,56	3,85	3,99
Schw.	3,54	4,44	4,52
Bs.	3,89	3,88	4,39
Gs.	3,96	4,12	4,02
D. M.	3,69	4,24	4,40

Bei allen Versuchen zeichnet sich ein eindeutiges Resultat ab: Wir sehen überall, wo ein Serum mit rassegleichem Fibrin zusammenkommt, nach 48stündiger Einwirkung im Brutschrank keine Veränderung der Reststickstoffmenge, während überall da, wo rassefremde Komponenten zusammentreten, eine mehr oder weniger erhebliche Zunahme des Reststickstoffs Fibrinabbau verrät.

Es ergeben sich also bei den einzelnen reinen Kaninchenrassen untereinander hinsichtlich des Fibrinabbaus qualitativ genau die gleichen Verhältnisse wie gegenüber fremden Tierarten. Die deutsche Mischrasse stellt in dieser Gruppierung eine Zusammenfassung mehrerer Rassen dar; bei vielfachen Versuchen an Exemplaren der Mischrasse untereinander ergab sich in der Mehrzahl der Fälle ein geringer oder stärkerer Fibrinabbau, der aber immer weit unter der Abbaustärke blieb, der durch Sera rassereiner Kaninchen gegenüber anderen rasse-reinen Fibrinen festgestellt wurde. Die Intensität des Abbaus weist bei den verschiedenen Rassen nicht unerhebliche Unterschiede auf; die quantitativen Verhältnisse bei den analogen Kombinationen sind jedoch zumeist ziemlich gleichmäßig. Man könnte sich versucht fühlen, aus diesen Beziehungen Schlüsse auf den Verwandtschaftsgrad der Rassen untereinander zu ziehen. Auffallend in dieser Hinsicht sind z. B. schon die Resultate der Tabelle II, wo die Seren der drei ver-

wendeten Rassen durchweg das rassefremde Angorakaninchenfibrin wesentlich stärker abbauen als das ebenfalls fremde der deutschen Mischrasse, so daß man annehmen möchte, daß die Angorarassee den anderen Rassen am wenigsten verwandt ist. Um weitere Beispiele zu nennen, finden wir bei den Seren der Braunsilberkaninchen die höchsten Abbauwerte gegenüber dem Schwarzlohfibrin, bei den Seren der Grausilberkaninchen das gleiche, während alle gegenüber dem Fibrin der Mischrassee die geringsten Abbauwerte aufweisen.

Derartige Feststellungen dürfen freilich zunächst nur mit allergrößter Vorsicht registriert werden.

Immerhin sind sie ein geringer Beitrag für die große Gesetzmäßigkeit, die sich durch alle Untersuchungen dieser Methodik zu ziehen scheint.

Es könnte sich auch für Zoologen die Möglichkeit eröffnen, mit Hilfe unserer Methodik die Beziehungen der einzelnen Tierrassen zueinander aufzuklären. Zunächst freilich wäre es wichtig, auch bei anderen Tierarten festzustellen, ob die reinen Rassen sich zueinander analog den Kaninchenrassen verhalten. Mangels reinrassigen Materials konnten wir unsere Versuche nicht auf andere Tierarten ausdehnen. Endlich könnten gleichsinnige Untersuchungen für die Anthropologie eine Bedeutung erlangen. Zur Erforschung von Menschenrassen und -bevölkerungen haben biologische Methoden bereits Anwendung gefunden. Man glaubt [*Steffan*¹⁾ u. a.], in der Isohämagglutination den Schlüssel für manche Zusammenhänge gefunden zu haben. Unseres Erachtens wird aber die Verwendbarkeit dieser Feststellungen durch die Arbeiten von *Eden*²⁾ stark beeinträchtigt; er fand nämlich, daß die Zugehörigkeit eines Menschen zu einer der vier Agglutinationsgruppen nicht konstant ist, sondern sich durch Medikamente oder Vorgänge von kolloidverändernder Wirkung umstimmen läßt. Die Forderung nach einer anthropologisch verwertbaren serologischen bzw. serochemischen Differenzierungsmethode darf daher noch als nahezu unerfüllt betrachtet werden.

Für uns ist bei unseren weiteren serochemisch-experimentellen Untersuchungen sowie für alle, die in ähnlichem Sinne arbeiten, die Entdeckung der spezifischen Rassendifferenzen beim Kaninchen von grundlegender Wichtigkeit. Um grobe Fehlerquellen zu vermeiden, dürfen zu einer Versuchsreihe nur Tiere, die sicher der gleichen Rasse angehören, verwendet werden. Im Zweifelsfalle läßt sich zur Sicherstellung der Voraussetzungen ein entsprechender Vorversuch nicht umgehen.

¹⁾ Mitt. d. anthropolog. Ges. Wien 56.

²⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1922.

Zusammenfassung.

1. Beim Kaninchen ist die Feststellung, daß normales Fibrin von artgleichem, normalem Serum nicht abgebaut wird, noch weiter unterdifferenziert: Das normale Serum eines rassereinen Kaninchens baut normales Fibrin einer anderen Kaninchenrasse ab.

2. Die Quantität des Abbaus einer Rasse gegenüber einer anderen ist durchweg größer als die Abbaustärke einzelner Rassen gegenüber den Mischrassen.

3. Rasseeigenes Fibrin wird vom Serum anderer Tiere der gleichen Rasse niemals angegriffen.

Dem Laboranten der chemischen Abteilung des Physiologischen Instituts, Herrn *R. Nagel*, sagen wir für seine getreue und verständnisvolle Unterstützung bei allen Versuchen unseren besten Dank.

Über die nephelometrische Bestimmung der Neutralfett-Cholesterinfraktion im Blute nach Bing u. Heckschers Methode,

Über die Genauigkeit der Methode und die für ihren Gebrauch geltenden Bedingungen sowie eingehende Erklärung der technischen Einzelheiten.

Von

Hans Heckscher.

(Mitteilung aus dem Städtischen Krankenhaus Kopenhagen, Abteilung II.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1926.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Unter den verschiedenen Methoden, deren man sich zur quantitativen Bestimmung der Blutlipide bzw. gewisser Fraktionen derselben bedient hat, nimmt die obenerwähnte Methode ihrer einfachen Technik und leichten Ausführbarkeit halber eine Sonderstellung ein, welche ihr wohl den Weg zu einer ausgedehnteren Verwendung eröffnen wird. Es hat sich jedoch gegen diese Methode eine Kritik erhoben, und zwar von seiten *G. Blix*, welcher mit einer anderen Mikromethode eine Reihe vorzüglicher Untersuchungen speziell über die *diabetische Lipämie* (1) unternommen und nun zwei Arbeiten (2) (3) veröffentlicht hat, wo er sich bemüht mit einer Reihe von Einwänden die Zuverlässigkeit unseres Verfahrens in Abrede zu stellen. Obwohl *Bing* und *Heckscher* bereits eine Widerlegung einiger dieser Einwände publiziert haben (4), habe ich mich doch dazu genötigt gefunden, die präliminären Untersuchungen über die Anwendbarkeit und Genauigkeit der Methode wieder aufzunehmen und zu erweitern; ihre Ergebnisse werden nachstehend mitgeteilt. Außer diesen Untersuchungen mit reinem Triolein und Cholesterin habe ich die Genauigkeit der Methode bei ihrer gewohnheitsmäßigen Verwendung zu klinischen Zwecken geprüft, sowie eine Reihe von vergleichenden Bestimmungen mit dieser Methode und derjenigen von *Bang*, deren sich *Blix* bediente, angestellt; diese Untersuchungen kommen ebenfalls nachstehend zur Mitteilung.

Es besitzt demnach diese Arbeit zwei Teile, je nachdem mit chemisch reinen Stoffen oder mit Blut gearbeitet wird; beide haben jedoch eine

Reihe von technischen Einzelheiten gemeinsam, welche eine nähere Erläuterung, die für das Verständnis des Folgenden unbedingt notwendig ist, erfordern.

Alle Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß sich die Lipide, in 0,50 ccm Alkohol gelöst, auf dem Boden eines Reagenzglases befanden. Der Alkohol war überall der officinelle „Alcoholus absolutus“ (Pharmacopea danica), ein Alkohol, welcher 1 Proz. Wasser enthält, und bei der Kontrollmischung mit BaCl_2 -Lösung keine Trübung gab. Diese 0,50 ccm alkoholische Lösung wird mit 2,50 ccm 1proz. BaCl_2 -Lösung, welche aus einer Pipette mit ziemlich weiter Öffnung schnell hinzugesetzt wird, gefällt, worauf die Mischung einige Augenblicke kräftig geschüttelt wird. Die Temperatur der Flüssigkeiten war, wo nichts anderes erwähnt ist, 15 bis 20° C.

Nachdem bei Zimmertemperatur eine gewisse Zeit stehen gelassen wird (wo nichts besonderes erwähnt ist, unter anderem bei den Blutanalysen, 15 bis 20 Minuten), wird die entstandene Suspension in ein Zweigreagenzglas übergossen und der nephelometrischen Bestimmung unterworfen. Als Maßstab für die nephelometrische Bestimmung hat man sich bei allen Versuchen derselben Standardskala von in erstarrter Gelatine aufgeschlemmtem Kaolin bedient, und die Messung des Wertes wurde mit Heckschers Nephelometer nach der von ihm angegebenen Anordnung unternommen (5). *Diese spezielle nephelometrische Technik ist scheinbar von entscheidender Bedeutung für das Erreichen der vorliegenden Ergebnisse*, weil sie eine Abstraktion von gewissen Schwankungen in der Färbung der Suspensionen erlaubt, Schwankungen, welche eine Bestimmung mit dem Nephelometer nach Kobers Typus erheblich erschweren, vielleicht gänzlich vereiteln. Betreffs der übrigen technischen Einzelheiten weise ich auf die eingehende Beschreibung der Technik am Schluß dieser Abhandlung hin.

I. Vorversuche mit reinen Stoffen.

A. Triolein.

In der obengenannten Arbeit von Bing und Heckscher findet sich eine Mitteilung (Versuch 1) über eine Reihe von Bestimmungen des nephelometrischen Wertes von Triolein nach der von diesen Verfassern angegebenen Methode für Blutanalysen (Eintrocknen der Trioleinlösung auf Fließpapier, Extraktion mit Äther, Abkochen des Äthers, Lösung in 0,50 ccm Alkohol und Fällung und nephelometrische Bestimmung, wie oben beschrieben). Diese Serie von Bestimmungen zeigt, daß der Trübungsgrad, der nephelometrische Wert, „n. W.“, annähernd proportional mit den Trioleinmengen in den Analysen wächst.

In seiner letzten kritischen Publikation macht aber Blix darauf aufmerksam, daß diese Proportionalität nur annähernd sei. Deshalb fühlte ich mich dazu veranlaßt, erneute Versuche über dieses Verhältnis anzustellen.

Tabelle I (Kurve 1).

Tabelle über die nephelometrische Kurve des Trioleins. Die verschiedenen Trioleinmengen waren in 0,50 ccm Alkohol gelöst und wurden nach Zusatzung von 2,50 ccm 1proz. BaCl₂-Lösung gefällt. Beide Flüssigkeiten hatten Zimmertemperatur (15 bis 20° C). Die Tabelle ist von verschiedenen Bestimmungen aufgebaut, welche einzelne Glieder in einer Kette von zu verschiedenen Zeiten unternommenen Versuchen über die nephelometrischen Kurven von Triolein-Cholesterinmischungen bildeten.

Die Ablesung geschah nach Verlauf von 15 bis 20 Minuten.

Trioleinmenge mg	n. W.°
0,034	0,09—0,09
0,041	0,11—0,11
0,042	0,12—0,11
0,050	0,15—0,14—0,15—0,14—0,12—0,12—0,12
0,058	0,15—0,16—0,15—0,15
0,067	0,19—0,19—0,20—0,20
0,084	0,27—0,27—0,29
0,100	0,32—0,30—0,30—0,31—0,29
0,112	0,31—0,33—0,33—0,35
0,116	0,31—0,31—0,32—0,30
0,134	0,43—0,45—0,45—0,43
0,145	0,47—0,47
0,174	0,43—0,47—0,42—0,47
0,200	0,61—0,59—0,59—0,61—0,61—0,47
0,232	0,61—0,57—0,59—0,63
0,250	0,51—0,59—0,66
0,268	0,74—0,74—0,74—0,74
0,290	0,74—0,77—0,74—0,74
0,335	0,74—0,80—0,80—0,80

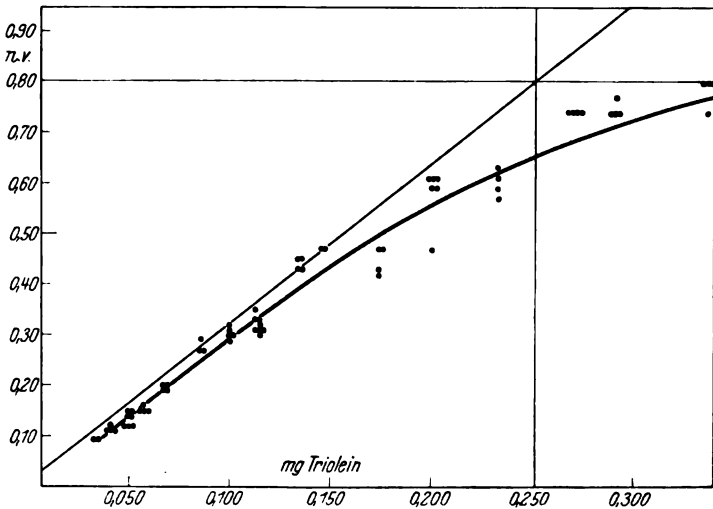


Abb. 1.

Es ergibt sich hieraus, daß die betreffenden Trübungsverhältnisse wirklich den Angaben von *Bliz* entsprechen; anfangs verläuft die Kurve freilich geradlinig mit Werten, welche mit den Trioleinmengen proportional wachsen, um dann in eine Krümmung, welche einer im Verhältnis zur Trioleinmenge geringeren Steigerung des „n. W.“ entspricht, überzugehen.

B. Cholesterin.

Die Nephelometrie des Cholesterins habe ich ebenfalls einer erneuten Prüfung unterworfen. Es gab nämlich einen scheinbar unerklärlichen Unterschied zwischen den von *Bing* und *Heckscher* (4) und den von *Bliz* (3) veröffentlichten Resultaten, ein Unterschied, dessen Deutung meines Erachtens von ganz besonderer Wichtigkeit ist. Nach den von *Bing* und *Heckscher* früher mitgeteilten Versuchen hatten die erreichten Cholesterinsuspensionen einen „n. W.“, der nicht nur mit der in den Suspensionen enthaltenen Cholesterinmenge proportional war, sondern auch annähernd gleich dem „n. W.“ derselben Trioleinmenge. *Bliz* findet dagegen, daß der „n. W.“ der Cholesterinsuspensionen jedenfalls unter gewissen Bedingungen bedeutend größer als derjenige der Trioleinsuspensionen ist. Es ist anzunehmen, daß dieser Unterschied in den Resultaten, jedenfalls bis zu einem gewissen Maße, dadurch entstände, daß *Bliz* seine Versuche mit *Kobers* Nephelometer unternommen hat, ein Nephelometer, das, wie gesagt, eine Abstraktion von den Nuancen in der Färbung der Suspensionen, welche unbedingt vorkommen, nicht gestattet; es läßt sich jedoch die Möglichkeit nicht ausschließen, daß sich außerdem noch andere Faktoren geltend machten. Deshalb entschloß ich mich dazu, die erneuten Versuche über die Fällung des Cholesterins nach der von *Bing* und *Heckscher* angegebenen Technik auszuführen, denn der Zweck der Untersuchungen war ja in erster Reihe, die Bedingungen für die Anwendbarkeit dieser Methode festzustellen.

Bei diesen Versuchen bediente man sich nicht desselben Verfahrens wie früher, wo die Lösung erst auf Fließpapier eingetrocknet und dann mit Äther extrahiert wurde, sondern unternahm eine direkte Fällung der reinen alkoholischen Cholesterinlösung. Dadurch kam ich anfangs zu einem Ergebnis, welches in unerwarteter Weise den Resultaten von *Bing* und *Heckscher* widersprach. Es zeigte sich nämlich, daß diese Cholesterinsuspensionen häufig ungleichmäßig, flockig und gänzlich ungeeignet zur Nephelometrie waren. Ganz besonders war dies der Fall, wann die Temperatur der Flüssigkeiten niedrig war und wenn die Cholesterinmenge groß war. In anderen Fällen kam man freilich zu homogenen, gleichmäßig trüben Suspensionen, ihr „n. W.“ war aber bei zahlreichen Versuchen starken Schwankungen unterworfen; in gewissen Fällen war es gleich oder annähernd gleich dem „n. W.“ von gleich großen Trioleinmengen, in anderen aber bedeutend niedriger, nach 15 bis 20 Minuten abgelesen; und das war der Fall bei wiederholten Versuchen mit verschiedenen Cholesterinpräparaten. Diese Variationen waren so bedeutend und kamen so konstant vor, daß ich zu der Erkenntnis kam, daß eine Nephelometrie mit dieser Technik tatsächlich unausführbar sei; es hat deshalb keinen Zweck, weitere experimentelle Daten dieser Versuche anzugeben.

Mit Rücksicht auf *Bing* und *Heckscher*, sowie zahlreiche unveröffentlichte Versuche kam ich zu der Überzeugung, daß der Unterschied der Resultate auf den oben genannten Unterschied in der experimentellen Technik (mit oder ohne Extraktion vom Fließpapier) zurückzuführen sei.

Ein tieferes Verständnis des Zusammenhangs gewann ich doch erst durch folgende Versuche mit Triolein und Cholesterin in den Analysen zusammen.

C. Mischungen von Cholesterin und Triolein.

Tabellen II bis V (Kurve 2).

Versuch zur Bestimmung des „n. W.“ von Triolein-Cholesterinsuspensionen mit gegenseitig variierendem Triolein- und Cholesteringehalt. Man benutzte hierzu zwei Trioleinpräparate (*Kahlbaum* 1922 und 1924) und zwei verschiedene Cholesterinpräparate (*Merck* 1926 und Prof. v. *Henriques*, Kopenhagen 1922), welche in vier verschiedenen Versuchen (II–V) miteinander kombiniert wurden. Die Stoffe wurden in Alkohol gelöst und die 0,50 ccm alkoholischer Lösung sodann mit 2,50 ccm 1proz. BaCl₂-Lösung gefällt. Beide Flüssigkeiten hatten eine Temperatur von 17 bis 18° C. Die nephelometrische Ablesung geschah recht bald, schon nach etwa 10 bis 15 Minuten. Die Summe der Triolein- und Cholesterinmengen war etwas verschieden in den verschiedenen Teilen der Versuche, wie es aus den Tabellen ersichtlich ist. Dieser Unterschied ist bei der zugehörigen Kurve der Anschaulichkeit halber in der Weise eliminiert worden, daß die Werte der nephelometrischen Ablesungen, mit den entsprechenden Brüchen multipliziert, alle für eine konstante Triolein-Cholesterinsumme von 0,168 mg pro Analyse Gültigkeit haben. Überall Doppelanalysen.

Tabelle II.

Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“	Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“
0	0,168	0,18—flockig	0,028	0,135	0,54—0,54
0,0036	0,164	0,33—0,37	0,036	0,126	0,50—0,48
0,007	0,161	0,43—0,47	0,054	0,105	0,50—0,48
0,010	0,158	0,43—0,48	0,072	0,084	0,48—0,47
0,014	0,152	0,47—0,50	0,109	0,042	0,47—0,48
0,021	0,143	0,54—0,63	0,145	0	0,47—0,47

Tabelle III.

Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“	Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“
0	0,168	0,22—0,18	0,028	0,135	0,61—0,59
0,0036	0,164	0,32—0,36	0,036	0,126	0,59—verl.
0,007	0,161	0,39—0,45	0,054	0,105	0,52—0,54
0,010	0,158	0,48—0,43	0,072	0,084	0,50—0,52
0,014	0,151	0,47—0,50	0,109	0,042	0,47—0,52
0,021	0,143	0,54—0,59			

Tabelle IV.

Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“	Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“
0,0028	0,164	0,26—0,27	0,028	0,126	0,50—0,48
0,0056	0,161	0,37—0,33	0,042	0,105	0,50—0,50
0,008	0,158	0,37—0,39	0,056	0,084	0,47—0,50
0,011	0,151	0,40—0,42	0,084	0,042	0,36—0,36
0,017	0,143	0,47—0,45	0,112	0	0,31—0,33
0,022	0,135	0,48—0,48			

Tabelle V.

Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“	Triolein- menge mg	Cholesterin- menge mg	„n. W.“
0	0,168	flockig—flockig	0,022	0,135	0,48—0,63
0,0028	0,164	0,26—0,26	0,028	0,126	0,50—0,59
0,0056	0,161	0,33—0,35	0,042	0,105	0,54—0,57
0,0084	0,158	0,39—0,37	0,056	0,084	0,55—0,47
0,011	0,151	0,40—0,37	0,084	0,042	0,36—0,36
0,017	0,143	0,42—0,43	0,112	0	0,33—0,35

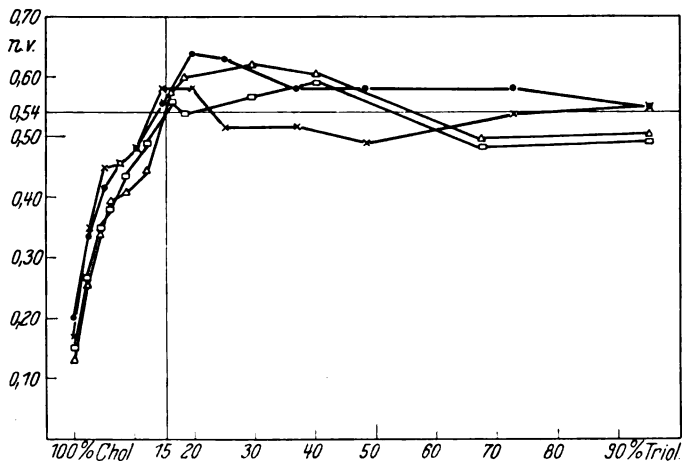


Abb. 2.

Es zeigen diese Versuche den großen Unterschied im „n. W.“, den man — unter gewissen Bedingungen — zwischen Suspensionen

von reinem Cholesterin und Suspensionen von Triolein-Cholesterinmischungen findet; aber es ergibt sich ebenfalls aus diesen Versuchen, daß schon eine ganz geringe Zutat von Triolein zu der Cholesterinmenge genügt, um eine ganz bedeutende Veränderung in den Fällungsverhältnissen hervorzurufen. Schon 3 bis 5 Proz. Triolein steigerten den „n. W.“ erheblich, und mit 15 bis 20 Proz. Triolein war der maximale Fällungsgrad erreicht.

Es ist demnach höchstwahrscheinlich, daß die Resultate der früheren Versuche eben dadurch bedingt waren, daß man einen Umweg, die Extraktion vom Fließpapier, benutzt hatte, denn dieses Fließpapier enthielt nämlich durchweg eine geringe Menge von Substanzen, Harze (?), mit einem „n. W.“ bis 0,09 pro Analyse, welche zusammen mit den Lipoiden extrahiert wurden und einen gewissen „Blindwert“ ergaben. Es wurde dieser „Blindwert“ selbstverständlich in allen Analysen berücksichtigt und von den abgelesenen Werten subtrahiert; damit war aber die Rolle der betreffenden beigemischten Stoffe noch nicht ausgespielt. Es ist vielmehr anzunehmen, daß diese unbedeutende „Extrakt“-Menge vom Fließpapier als ein „Träger“ des Cholesterins gedient hat und die Cholesterinsuspensionen in solcher Weise stabilisiert hat, daß man zu den scheinbar adäquaten Resultaten kam. In meinen erneuerten Versuchen war dieser „Träger“ nicht gegenwärtig, was den Unterschied erklärt.

Was das reine Triolein betrifft, so war dieser Faktor ohne jegliche Bedeutung; das geht ja deutlich aus der Übereinstimmung hervor, welche man sowohl bei den früheren Versuchen als auch bei den nun wiederholten Versuchen zwischen den Analysen mit unmittelbarer Fällung des Trioleins in der alkoholischen Lösung und den Analysen mit vorhergehender Extraktion vom Fließpapier erreichte. (Dasselbe ergibt sich vielleicht auch indirekt aus den Zahlen der Tabellen II bis V, welche den geringen Unterschied in den Fällungsverhältnissen am Schluß der Tabelle zeigen.)

Über die Bedeutung, die dieser Faktor in den von *Bing* und *Heckscher* früher mitgeteilten Untersuchungen über die Fett-Cholesterinmengen im Blute von normalen Menschen (6) und von Kranken mit verschiedenen Leiden (7 bis 12) gehabt hat, wird in einem späteren Abschnitt der vorliegenden Mitteilung die Rede sein. Einen Beitrag zum Verständnis dessen gewinnt man durch folgende Versuche:

Versuch: Bestimmung der nephelometrischen Kurve für eine steigende Menge Cholesterin, in einer alkoholischen Lösung von Triolein gelöst, welche konstant 0,025 mg Triolein in 0,50 ccm Alkohol enthält. 0,50 ccm der Mischungen werden mit 2,50 ccm 1proz. BaCl_2 -Lösung gefällt. Beide Flüssigkeiten haben eine Temperatur von 17° C. Nephelometrische Ablesung nach 15 bis 20 Minuten. Drei Proben jeder Konzentration.

Tabelle VI.

Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg	„n. W.“
0,025	0,025	0,16
		0,15
		0,15
0,025	0,050	0,23
		0,24
		0,24
0,025	0,075	0,37
		0,37
		0,37
0,025	0,100	0,48
		0,45
		0,47
0,025	0,150	0,59
		0,59
0,025	0,200	—
		0,69
		0,74
0,025	0,250	0,74
		0,93
		0,97
		0,97

Entsprechender Versuch mit einem konstanten Gehalt von 0,050 mg Triolein in 0,50 ccm alkoholischer Lösung. Die Temperatur der Flüssigkeiten war 19 bis 20° C.

Tabelle VII.

Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg	„n. W.“	Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg	„n. W.“
0,050	0,025	0,23	0,050	0,130	0,59
		0,24			0,57
		0,23			0,59
0,050	0,050	0,26	0,050	0,150	0,63
		0,29			0,61
		—			0,63
0,050	0,065	0,27	0,050	0,200	0,80
		0,25			0,77
		0,29			0,80
0,050	0,075	0,39	0,050	0,230	0,97
		0,39			0,97
		0,37			0,93
0,050	0,100	0,47	0,050	0,250	1,00
		0,48			1,00
		0,48			0,97

Entsprechender Versuch mit konstantem Gehalt von 0,100 mg Triolein in 0,50 ccm alkoholischer Lösung. Die Temperatur der Flüssigkeiten 17° C.

Tabelle VIII.

Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg	„n. W.“
0,100	0,025	0,39
		0,37
		0,37
0,100	0,050	0,40
		0,47
		0,40
0,100	0,075	0,45
		0,47
		0,48
0,100	0,100	0,59
		0,52
		0,59
0,100	0,150	0,83
		0,80
		0,87

Diese Versuche ergänzen gewissermaßen die Versuche in den Tabellen II bis V und beleuchten die Tatsache, daß *Triolein-Cholesterinmischungen von höchst verschiedener Zusammensetzung, mit einem Trioleingehalt zwischen etwa 9 und 80 Proz. schwankend, derartig gefällt werden, daß ihr „n. W.“ überall mit der gegenwärtigen Lipoidmenge proportional läuft.* Dies stimmt mit *Bing* und *Heckschers* Ergebnissen überein (4) (Versuch 3), welche freilich — wie oben erwähnt — die Resultate von Versuchen mit extrahiertem Fließpapier waren. Die Kurve 4 veranschaulicht die Resultate der Analysen in den Tabellen VI bis VIII, wo auch die entsprechenden Teile der folgenden Versuche eingezeichnet sind.

In seiner Kritik deutet *Blix* auf zwei technische Einzelheiten, welche für die erreichten Resultate von entscheidender Bedeutung sein sollten: Die *Temperaturen der Flüssigkeiten*, der alkoholischen Lipoidlösung und der BaCl_2 -Lösung, und die *Zeit von dem Moment, wo die Mischung der Flüssigkeiten geschieht, bis zur nephelometrischen Ablesung.* Die folgenden Versuchsreihen wurden mit der Absicht ausgeführt, diese beiden Verhältnisse näher zu beleuchten.

Versuch zur Bestimmung der *Einwirkung der Temperaturen* auf den „n. W.“ von Triolein- und Cholesterinsuspensionen, sowie Suspensionen mit einer Mischung dieser beiden Stoffe in gegenseitig wechselnden Mengen. 0,50 ccm alkoholische Lösung dieser Stoffe werden mit 2,50 ccm 1proz. BaCl_2 -Lösung gefällt. Nephelometrische Ablösung nach Verlauf von 15

bis 20 Minuten. Die alkoholische Lösung hatte in allen Fällen Zimmertemperatur (15 bis 20°), während die Temperatur der BaCl₂-Lösung variierte. Die Zahlen geben den „n. W.“ an.

Tabelle IX.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lsg.		Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lsg.	
	10°	33°		10°	33°
0,050 mg Triolein . . .	0,11	0,15	0,150 mg Triolein . . .	0,33	0,33
0,075 " " . . .	0,17	0,19	0,175 " " . . .	0,37	0,42
0,100 " " . . .	0,23	0,24	0,200 " " . . .	0,43	0,47
0,125 " " . . .	0,27	0,30	0,250 " " . . .	0,48	0,54

Tabelle X.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	22°	30°
0,044 mg Cholesterin	etwa 0,05	0,08—0,09	0,12
0,066 " "	etwa 0,08	0,09—0,12	0,22
0,088 " "	0,09	0,24—0,12	0,23
0,132 " "	0,14	0,26—0,22	0,32
0,176 " "	flockig	0,30—0,27	0,35
0,220 " "	—	0,45—0,43	0,39

Tabelle XI.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	20°	30°
0,010 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,10	0,10—0,10	0,12
0,010 " " + 0,044 " "	0,20	0,19—0,19	0,23
0,010 " " + 0,066 " "	0,23	0,24—0,25	0,36
0,010 " " + 0,088 " "	0,31	0,31—0,30	0,42
0,010 " " + 0,132 " "	0,40	0,39—0,39	0,54
0,010 " " + 0,176 " "	flockig	0,52—0,57	0,77

Tabelle XII.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	20°	30°
0,020 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,10	0,09—0,08	0,09
0,020 " " + 0,044 " "	0,20	0,18—0,20	0,20
0,020 " " + 0,066 " "	0,29	0,27—0,27	0,30
0,020 " " + 0,088 " "	0,37	0,39—0,35	0,43
0,020 " " + 0,132 " "	0,45	0,48—0,48	0,69
0,020 " " + 0,176 " "	0,61	0,66—0,63	0,80

Tabelle XIII.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	20°	30°
0,030 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,14	0,14—0,14	0,14
0,030 " " + 0,044 " "	0,24	0,23—0,25	0,25
0,030 " " + 0,066 " "	0,35	0,35—0,33	0,35
0,030 " " + 0,088 " "	0,39	0,39—0,39	0,47
0,030 " " + 0,132 " "	0,59	0,57—0,61	0,61
0,030 " " + 0,176 " "	0,69	0,69—0,74	0,90
0,030 " " + 0,220 " "	flockig	—	etwa 1.00

Tabelle XIV.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	22°	30°
0,034 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,19	0,23—0,20	0,18
0,034 " " + 0,044 " "	0,20	0,23—0,24	0,24
0,034 " " + 0,066 " "	0,30	0,31—0,30	0,31
0,034 " " + 0,088 " "	0,37	0,39—0,37	0,40
0,034 " " + 0,132 " "	0,59	0,54—0,57	0,54
0,034 " " + 0,176 " "	0,74	0,72—0,72	0,69
0,034 " " + 0,220 " "	0,80	0,77—0,80	etwa 1.00

Tabelle XV.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	20°	30°
0,040 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,15	0,15—0,16	0,15
0,040 " " + 0,044 " "	0,23	0,23—0,25	0,24
0,040 " " + 0,066 " "	0,36	0,37—0,35	0,33
0,040 " " + 0,088 " "	0,39	0,40—0,43	0,43
0,040 " " + 0,132 " "	0,59	0,59—0,61	0,69
0,040 " " + 0,176 " "	0,72	0,72—0,74	0,93
0,040 " " + 0,220 " "	0,83	—	0,97

Tabelle XVI.

Substanz	Temperatur der BaCl ₂ -Lösung		
	10°	19°	30°
0,050 mg Triolein + 0,022 mg Cholesterin	0,22	0,24—0,23	0,25
0,050 " " + 0,044 " "	0,29	0,27—0,31	0,29
0,050 " " + 0,066 " "	0,37	0,35—0,35	0,32
0,050 " " + 0,088 " "	0,40	0,40—0,40	0,40
0,050 " " + 0,132 " "	0,50	0,50—0,52	0,54
0,050 " " + 0,176 " "	0,72	0,69—0,74	0,72
0,050 " " + 0,220 " "	0,77	—	0,80

Mit diesen Versuchen zur Deutung des Einflusses, welchen die Temperatur auf die Fällungen ausüben könnte, verhält es sich folgendermaßen: Die verschiedenen Lösungen von Triolein, Cholesterin oder Mischungen dieser Substanzen in verschiedenen Verhältnissen wurden also mit dem fünffachen Volumen BaCl₂-Lösung mit einer von 10 bis 33° C variierten Temperatur gefällt. Es ist diese Variation der Temperatur bei diesen präliminären Versuchen als sehr reichlich anzusehen, wenn die Flüssigkeiten bei dem gewöhnlichen Gebrauch der Methode zu Blutanalysen Zimmertemperatur, welche fast stets zwischen 15 und 20° C liegt, haben.

Abgesehen von den unvermeidlichen Ungenauigkeiten, die von dem Abpipettieren, etwaigen Ablesungsfehlern usw. herrühren, zeigte sich der Einfluß der Temperaturvariationen auf die Resultate in folgenden Versuchen: 1. Die Versuche mit reinem Triolein; hier ist der Unterschied, wenn auch konstant, so doch ziemlich gering, so daß er bei dem gewöhnlichen Verfahren wohl kaum eine Rolle spielen kann. 2. Die Versuche mit reinem Cholesterin; hier, wo die Resultate überhaupt sehr unregelmäßig sind (vgl. mit dem oben über die Nephelometrie des Cholesterins erwähnten), war der Einfluß der Temperatur überaus vorragend. 3. In folgenden Teilen der Versuche mit Triolein-Cholesterinmischungen war auch der Einfluß der Temperatur zu spüren.

Versuch	Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg	Versuch	Trioleinmenge mg	Cholesterinmenge mg
XI	0,010	0,066	XII	0,020	0,176
XI	0,010	0,088	XIII	0,030	0,176
XI	0,010	0,132	XIV	0,034	0,220
XI	0,010	0,176	XV	0,040	0,176
XII	0,020	0,132	XV	0,040	0,220

Es ergibt sich hieraus, daß sich der Einfluß der Temperatur auf die Fällung der Triolein-Cholesterinmischungen nur in denjenigen Fällen konstatieren läßt, wo das Verhältnis zwischen Triolein und Cholesterin kleiner als etwa 1 : 5½ ist, d. h., wo der Trioleingehalt der Mischung unter etwa 15 Proz. liegt. Man sieht aber auch, daß *selbst bei diesen Versuchen die Werte bei den Temperaturen 10 und 20° gleich waren, d. h. unter den bei Blutanalysen gewöhnlichen Bedingungen.*

Die nächsten Versuche sind mit der Absicht ausgeführt worden, den *Einfluß der Zeit auf den „n. W.“* verschiedener Suspensionen, die in gleicher Weise wie die obengenannten hergestellt wurden, zu erforschen. Diese Frage ist von *Bing* und *Heckscher* (l. c., Versuch 7) in 30 verschiedenen Blutanalysen untersucht worden, deren „n. W.“

sich während eines Zeitraums von 15 bis 120 Minuten nach Zubereitung der Suspensionen nur wenig veränderte. *Blix* hat jedoch mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß die Sache damit nicht für alle Mischungen von Neutralfett und Cholesterin geklärt ist. Deshalb teile ich folgende Versuche mit.

Versuch zur Beleuchtung der *zeitgemäßen Schwankungen des Trübungsgrades*. Triolein und Cholesterin in alkoholischer Lösung, teils jedes für sich, teils zusammen in gegenseitig wechselndem Verhältnis. 0,50 ccm alkoholischer Lösung mit einem konstanten Gehalt von 0,10 mg Substanz (also Triolein, Cholesterin oder eine Mischung von beiden Teilen) wird mit 2,50 ccm 1proz. BaCl₂-Lösung gefüllt. Beide Flüssigkeiten haben eine Temperatur von 22° C. Die nephelometrische Ablesung nach etwa 3 Minuten, sowie nach 10, 45, 70 und 120 Minuten. (Die Zahlen der Tabellen geben den „n. W.“ an.)

Tabelle XVII.

	Proz. Cholesterin	Proz. Triolein	3 Min.	10 Min.	45 Min.	70 Min.	120 Min.
a	100	0	0,21	0,22	0,32	0,35	0,33
b	95	5	0,22	0,27	0,35	0,35	0,35
c	90	10	0,23	0,29	0,33	0,35	0,35
d	85	15	0,23	0,31	0,33	0,32	0,30
e	80	20	0,24	0,29	0,32	0,31	0,27
f	75	25	0,30	0,32	0,30	0,30	0,27
g	63	37	0,22	0,30	0,31	0,27	0,24
h	50	50	0,21	0,32	0,30	0,27	0,24
i	37	63	0,23	0,32	0,32	0,29	0,23
k	25	75	0,22	0,33	0,32	0,29	0,22
m	0	100	0,25	0,32	0,32	0,29	0,22

Tabelle XVIII.

Entsprechender Versuch, doch mit weniger Substanz, 0,050 mg pro 0,50 ccm alkoholischer Lösung.

	Proz. Cholesterin	Proz. Triolein	4 Min.	6 Min.	8 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	35 Min.	45 Min.
n	33	67	0,08	0,12	0,14	0,15	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17
o	50	50	0,08	0,12	0,14	0,14	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18
p	60	40	0,11	0,14	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19
q	75	25	0,12	0,15	0,16	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
r	89	11	0,12	0,14	0,15	0,15	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19

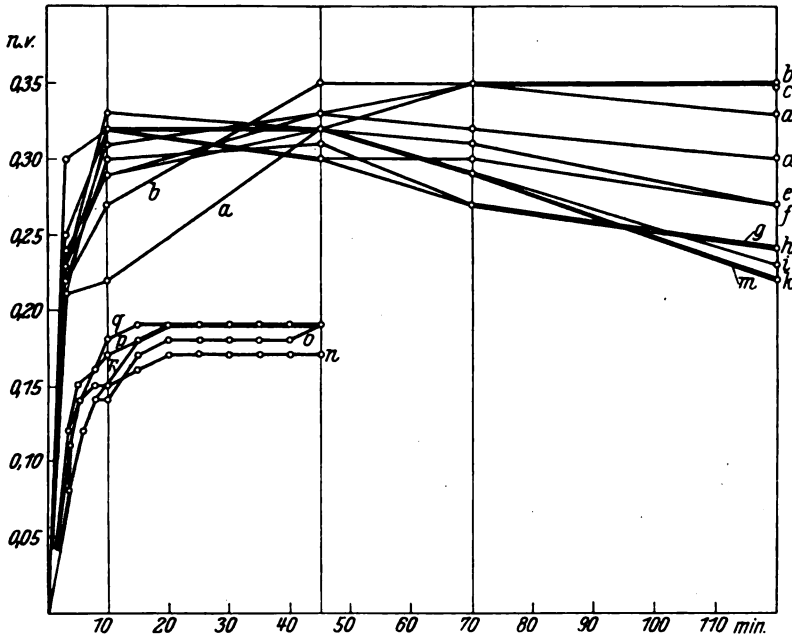


Abb. 3.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß, abgesehen von den Analysen a und b in Versuch 7 (mit bzw. 0 und 5 Proz. Triolein), der Höhepunkt des „n. W.“ 15 Minuten nach der Zubereitung der Suspensionen erreicht war, und daß die Werte sich danach sozusagen unverändert jedenfalls bis zur 45. Minute hielten, wonach der „n. W.“ zu fallen anfängt. Dieser Fall des „n. W.“ war am größten, wo die prozentische Menge des Trioleins am größten war, so daß der „n. W.“ der reinen Trioleinsuspensionen von 32 bis 22 vermindert wurde, d. h. etwa 31 Proz., während der „n. W.“ der reinen Cholesterinsuspension unverändert blieb. Diese Resultate stimmen nur zum Teil mit den von Blix (3) (Tabelle I) mitgeteilten überein; es wird nämlich dort angegeben, daß der „n. W.“ der reinen Triolein- und Triolein-Cholesterinsuspensionen (zwei Versuche mit 75 und 50 Proz. Triolein) während eines Zeitraums von 15 bis 60 Minuten nach der Herstellung der Suspensionen 19 bis 24 Proz. fällt. Es beruht die Divergenz jedoch begrifflicherweise auf dem Unterschied in der Untersuchungstechnik, indem Blix sich bei seinen Untersuchungen, wie früher gesagt, Kobers Nephelometer bedient hat. Die etwas nebelgraue Changierung der Farbe, welche man in Heckschers Nephelometer bei den Triolein- und (den trioleinreichen) Triolein-Cholesterinsuspensionen beobachtet, ehe noch eine Veränderung des

„n. W.“ eintritt, macht sich *Kobers* Nephelometer als eine tatsächliche Verminderung des Trübungsgrades geltend. Im übrigen stimmen *Blix'* Versuche und die von mir hier mitgeteilten Versuche grundsätzlich überein.

Es wird von *Blix* noch ein Punkt, der nach *Bing* und *Heckschers* Methode vermutlich zu Fehlschlüssen Anlaß geben könnte, hervorgehoben, indem er ohne experimentelle Begründung behauptet, daß die *Technik bei der Mischung der alkoholischen Fettlösung und der BaCl₂-Lösung*, „die Einlaufgeschwindigkeit der BaCl₂-Lösung bei der Präzipitation und die Intensität der darauf folgenden Umschüttelung“ den Trübungsgrad beeinflussen könnte. Daß dies indessen keineswegs der Fall ist, geht aus folgenden Versuchen hervor.

Versuch zur Untersuchung der Frage, ob die Einlaufgeschwindigkeit der BaCl₂-Lösung den Trübungsgrad beeinflusst. Die Versuchstechnik ist etwas anders als bei den obenstehenden Versuchen, indem die Lipide hier vom Fließpapier extrahiert wurden („Blindwert“: 0), danach Abdampfung des Äthers usw., ganz wie bei den Blutanalysen. Die Temperatur sowohl der alkoholischen Lipoidlösung wie der BaCl₂-Lösung war 20°.

A. Schnelle Zusetzung von BaCl₂-Lösung und sofort danach kurzdauernde, starke Umschüttelung wie gewöhnlich. B. Sehr langsame, tropfenweise Zusetzung der BaCl₂-Lösung längs der Wand des Glases, danach Stehen ohne Umschüttelung und endlich vorsichtiges Umschütteln eben vor der nephelometrischen Bestimmung (10 bis 15 Minuten nach der Mischung).

Tabelle XIX.

Lipoidmenge	A. „n. W.“	B. „n. W.“
0,100 mg Triolein . . .	0,30	0,30
0,300 „ „ . . .	0,72	0,69
0,100 „ Cholesterin . .	0,77	0,72
0,200 „ Triolein . . .		
0,200 „ Cholesterin . .	0,77	0,69
0,100 „ Triolein . . .		

Der geringe Unterschied, den man in diesem Versuch zwischen den entsprechenden Zahlen in den beiden Kolonnen beobachtet, kommt dadurch zustande, daß die Fällungswerte der B-Serie zur Zeit der Ablesung ihren Höhepunkt noch nicht erreicht haben. Bei wiederholter Bestimmung nach Verlauf von 50 Minuten findet man eine ganz genaue Übereinstimmung der Zahlen in den beiden Serien. Es ist darauf aufmerksam zu machen, daß in *Bing* und

Heckschers Beschreibung der Methode der Wortlaut folgendermaßen ist: „*Worauf Bariumchloridlösung hinzugesetzt und durch Schwenken mit dem Alkohol vermischt wird. Man schüttelt die Mischung kräftig einige Male*“ (5). Meines Erachtens kann damit dieser Punkt außer acht gelassen werden.

Was haben nun vorläufig diese Versuche in bezug auf die Nephelometrie des Trioleins und des Cholesterins gezeigt?

Zum Triolein: Dieser Stoff läßt sich unschwer nach *Bing* und *Heckschers* Methode bestimmen. Der Trübungsgrad der reinen Trioleinsuspensionen steigt mit der zunehmenden Trioleinmenge nach einer leicht gebogenen Kurve (Kurve 1). Der Trübungsgrad der reinen Trioleinsuspensionen, ihr „n. W.“, ist unabhängig von der Temperatur der Flüssigkeiten, wenn letztere sich innerhalb der Grenzen der Zimmerwärme befindet. Der Trübungsgrad der Trioleinsuspensionen hält sich — nach *Bing* und *Heckschers* Methode bestimmt — im großen und ganzen unverändert in 45 Minuten nach der Zubereitung der Suspensionen, um dann zu fallen.

Zum Cholesterin: Obleich der „n. W.“ bei der Fällung des Cholesterins in manchen Versuchen dieselbe oder beinahe dieselbe Größe wie gleich große Mengen von Triolein oder von Triolein und Cholesterin zusammen hatte (s. Beispiele in obenstehenden Tabellen), zeigten sich dennoch die Fällungsverhältnisse des Cholesterins so unbeständig, daß man eine zuverlässige Nephelometrie des reinen Cholesterins nach dem Prinzip von *Bing* und *Heckscher* aufgeben muß. Ganz ohne Zweifel ist die Temperatur der Flüssigkeiten von entscheidender Bedeutung für die Fällung des reinen Cholesterins. In gewissen Fällen, wo der „n. W.“ sowohl kürzere als längere Zeit nach Herstellung der Suspensionen bestimmt wurde, beobachtete man nicht — wie beim Triolein — ein Abnehmen des Trübungsgrades im Zeitraum zwischen der 45. und 120. Minute. Es ist anzunehmen, daß die von *Bing* und *Heckscher* früher mitgeteilten Ergebnisse die Nephelometrie des Cholesterins betreffend, von der Gegenwart kleiner Extraktmengen aus dem benutzten Fließpapier beeinflußt waren.

In den Triolein-Cholesterinmischungen: Der Kern der Sache war hier das gegenseitige Mengenverhältnis dieser beiden Stoffe, indem man ziemlich scharf zwischen Mischungen mit mehr als 10 Proz. Triolein und solchen mit weniger scheiden kann. *Mischungen mit mehr als 10 Proz. Triolein* sind in bezug auf die Möglichkeit einer Nephelometrie im Besitz der günstigen Eigenschaften des reinen Trioleins. Der Trübungsgrad ihrer Suspensionen ist innerhalb der obenerwähnten Grenzen unabhängig von der Temperatur, und hält sich derselbe durch-

weg unverändert in der Zeit von 15 bis 45 Minuten nach der Herstellung der Suspensionen. Ferner steigt der Trübungsgrad ganz regelmäßig mit den wachsenden Substanzmengen. (Betreffs der nephelometrischen Kurve solcher Mischungen siehe unten, Kurve 4). *Mischungen mit weniger als 10 Proz. Triolein* scheinen, nephelometrisch, einen Übergang zum reinen Cholesterin zu bilden. Die Fällungsverhältnisse sind unbeständig, genau wie beim reinen Cholesterin. Solche Mischungen eignen sich folglich nicht zur Nephelometrie nach dem angegebenen Prinzip.

Wir kommen dann zu einer Frage von ganz entscheidender Bedeutung, nämlich, ob es eine Kurve gibt, welche man, ohne damit bedeutendere Fehler zu machen, zur Nephelometrie von Triolein-Cholesterinmischungen mit unbekannter Zusammensetzung gebrauchen könnte, freilich unter der *Annahme*, daß die Trioleinmengen in allen Fällen größer als 10 Proz. seien. Zur Beantwortung dieser Frage habe ich Kurve 4 gezeichnet, wo alle die Angaben der obenstehenden Tabelle

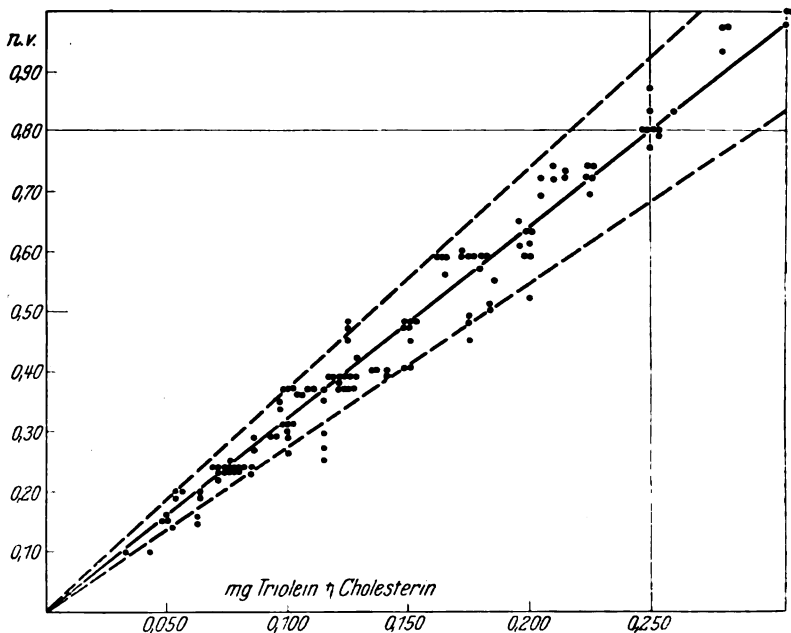


Abb. 4.

über Versuche mit Triolein-Cholesterinmischungen (mehr als 10 Proz. Triolein), welche bei Zimmertemperatur gefällt und 15 bis 20 Minuten nach der Herstellung der Suspensionen nephelometrisch bestimmt wurden, eingezeichnet sind.

Die ununterbrochene, schräge Linie, wo sich Abszisse und Ordinate, bzw. 0,250 mg Substanz und 0,80 „n. W.“ entsprechend, schneiden, ist durch Interpolation zwischen den angegebenen Werten entstanden. Über die Form und die Lage der Kurve läßt sich kein Zweifel erheben; *die untersuchten Triolein-Cholesterinmischungen werden mit einem „n. W.“, welches im großen und ganzen proportional mit der Menge der Lipoidsubstanz, gefällt, d. h. nach einer geradlinigen Kurve mit der abgezeichneten Lage. (Diese geradlinige Kurve wird nachfolgend zur Ablesung der Werte bei allen Blutanalysen benutzt.)* Die beiden schrägen Linien zu beiden Seiten dieser Kurve geben den „n. W.“, in einer Entfernung von 15 Proz. von den Werten der Kurve, an; man sieht, daß die bei weitem überwiegende Zahl der Bestimmungen innerhalb dieser Linien fällt, d. h. daß sie weniger als 15 Proz. vom Standardwert abweichen, scheinbar ein überaus befriedigendes Ergebnis, wenn man die verschiedenen unvermeidlichen Fehler beim Wiegen, Abmessen und Ablesen mit in Betracht zieht. (Es sei vielleicht noch zu erwähnen, daß diese graphische Abzeichnung der Resultate an mehreren Stellen einen für die Genauigkeit weniger vorteilhaften Eindruck macht als wirklich durch die Zahlen bedingt, indem nämlich zusammenfallende Werte nebeneinander abgezeichnet sind.) Es ist diese „Standardkurve“ auf der Kurve I angegeben zum Vergleich mit der Kurve des reinen Cholesterins.

Als ein Glied in der Reihe meiner Untersuchungen über die Genauigkeit der Methode wurde auch ein Versuch zur Bestimmung der Abhängigkeit des Trübungsgrades von den *Variationen in der Konzentration der BaCl₂-Lösung* gemacht. Es zeigte sich bei diesem Versuch, daß kleine Abweichungen in der Konzentration zu beiden Seiten der üblichen Konzentration, 1 Proz., keinen sichtbaren Einfluß auf die Fällung ausüben, denn in zahlreichen Analysen mit Trioleinproben und mit Triolein-Cholesterinmischungen kam man zu demselben Ergebnis, sei es, daß die Konzentration der BaCl₂-Lösung $\frac{1}{2}$, 1, 2, 5 oder 10 Proz. war, während eine Konzentration von $\frac{1}{4}$ Proz. niedrigere „n. W.“ ergab.

Das günstigste Verfahren bei der Nephelometrie der Triolein-Cholesterinmischungen nach *Bing* und *Heckschers* Prinzip scheint man danach folgendermaßen festlegen zu müssen:

Die Temperatur der Flüssigkeiten muß 15 bis 20° C sein; ihre Mischung muß, wie beschrieben, schnell geschehen. Die nephelometrische Ablesung ist 15 bis 45 Minuten, sicherheits halber (es kann die beim Hinstellen der Flüssigkeiten entstehende Graufärbung weniger Geübte leicht irreführen) vielleicht am liebsten 15 bis 30 Minuten nach der Zubereitung der Suspensionen, d. h. nach Mischung der Flüssigkeiten, zu unternehmen.

Zur Berechnung des Ergebnisses auf Grund des gefundenen „n. W.“ bediene man sich der beschriebenen Standardkurve. (Die reinen Trioleinproben müssen nach derselben Technik, aber mit Hilfe der für das Triolein besonderen, leicht gebogenen Kurve bestimmt werden.)

Damit schließen meine Versuche mit reinen Lipoiden; nachstehend teile ich eine Reihe von Versuchen und Berechnungen mit, welche mit der Absicht ausgeführt wurden, die Zuverlässigkeit und Genauigkeit von *Bing* und *Heckschers* Methode in bezug auf Blutanalysen zu erforschen.

Anfangs möchte ich hier die Untersuchungen betreffs der eigentlichen nephelometrischen Technik erwähnen, um dann später zu den Problemen der Blutabmessung, des Trocknens der Proben, des Extrahierens usw. überzugehen. Zu allererst möchte ich jedoch einige Bemerkungen über gewisse technische Einzelheiten einschalten.

In der ursprünglichen Beschreibung der Methode wird angegeben, daß sowohl die alkoholische Lipoidlösung als auch die $BaCl_2$ -Lösung vor der Mischung in kaltem, fließendem Wasser abgekühlt werden sollen. So wurde auch im Anfang mit der Methode gearbeitet, und die Temperatur der Flüssigkeiten mag wahrscheinlich während dieser Periode zwischen etwa 5 und 10° C geschwankt haben. Ziemlich bald kam ich indessen zu der Überzeugung, daß diese gründliche Abkühlung der Flüssigkeiten nicht notwendig, ja sogar unzweckmäßig war, indem eine niedrige Temperatur der Flüssigkeiten eine besonders reichliche Luftentwicklung bei der Mischung verursachte, eine Entwicklung einer Menge ganz feiner Luftbläschen, die sich an der Wand des Glases festsetzten und die nephelometrische Ablesung erschwerten. Außerdem hatte die niedrige Temperatur zur Folge, daß die Wände der Nephelometergläser taubenetzt werden konnten, was auch unangenehm war. Ich gab deshalb diese Abkühlung der $BaCl_2$ -Lösung auf; sie war übrigens ursprünglich die Folge rein theoretischer Überlegungen (welche also erfahrungsgemäß in praxi nicht Stich hielten), und seitdem habe ich mit einer $BaCl_2$ -Lösung von Zimmertemperatur (15 bis 20° C) gearbeitet, während gleichzeitig die Kühlung der warmen alkoholischen Lipoidlösung etwas gekürzt wurde. Da nun das Volumen der $BaCl_2$ -Lösung in den Analysen fünfmal so groß wie das Volumen der alkoholischen Lipoidlösung ist, kann es sich in der Realität nur um ziemlich geringe Temperaturschwankungen der Suspensionen handeln. Daß dergleichen unbedeutende Schwankungen völlig belanglos sind, wird in bezug auf die Blutanalysen in der folgenden Tabelle XX veranschaulicht.

Tabelle XX.

Blutproben aus dem Ohrläppchen von nüchternen Patienten, getrocknet und analysiert wie gewöhnlich nach *Bing* und *Heckschers* Methode. Serie A wurde mit einer BaCl_2 -Lösung von 9 bis 10°C gefällt, Serie B 20° , Serie C 40° .

	A	B	C
A. K., ♀, 60 Jahre. Anorexia nervosa	—	0,07	0,07
G. D., ♂, 40 Jahre. Cirrhosis hepatis	0,10	0,10—0,11	0,10
C. C. H., ♂, 51 Jahre. Cancer ventriculi, Anaemia gravis	0,05	0,06—0,06	0,06—0,07
H. J., ♂, 74 Jahre. Cirrhosis hepatis	0,07	0,07—0,07	0,07
B. J., ♂, 13 Jahre. Pleuritis exsudativa	0,09	0,09	0,10
L. S., ♀, 18 Jahre. Gastritis acuta	0,09	0,10—0,09	0,10
E. O. O., ♀, 11 Jahre. Pleuropneumonia seq.	0,13	0,12—0,11	0,12
M. K. K., ♀, 60 Jahre. Diabetes mellitus	0,15	0,16—0,13	0,15
A. J. S., ♀, 51 Jahre. Diabetes mellitus.	0,16	0,15	0,14
A. M. N. G., ♀, 19 Jahre. Cystitis	0,07	0,08	0,07
N. V. C., ♂, 47 Jahre. Mb. cordis compens.	0,08	0,08—0,09	0,08
F. K. V. N., ♂, 31 Jahre. Pleuritis exsudativa	0,08	0,07—0,09	0,07
C. C. L., ♂, 37 Jahre. Ulcus ventriculi, Anaemia gravis	0,06	0,07—0,05	0,07
V. P. V., ♂, 30 Jahre. Encephalitis seq.	0,07	0,07—0,09	0,09
A. O. G. J., ♂, 44 Jahre. Syf. cerebrospinalis	0,07	0,07—0,06	0,07
L. P. A. N., ♂, 56 Jahre. Hypoehylia, colitis	0,07	0,08—0,08	0,07
H. C., ♂, 20 Jahre. Pleuropneumonia seq.	0,08	0,08—0,08	0,09
K. J. L., ♂, 8 Jahre. Anaemia simplex l. gr.	0,06	0,06—0,07	0,07
H. B. L., ♂, 5 Jahre. Nephritis haemorrh.	0,08	0,09—0,10	0,10

Die Zahlen geben hier sowie in den folgenden Tabellen die Größe des primären Ätherextrakts in Milligrammen (pro 0,1 ccm Blut) an.

Die nächste Frage gilt dem Zeitpunkt der nephelometrischen Ablesung. Diese Frage ist in bezug auf die reinen Trioleinlösungen

und die Triolein-Cholesterinmischungen oben beantwortet worden, und was die Blutanalysen betrifft, kann ich auf *Bing* und *Heckschers* bereits erwähnte Publikation hinweisen (4), Versuch 7, wo 30 verschiedene Blutproben mit einer Extraktmenge, welche zwischen 0,06 und 0,20 mg pro 0,1 ccm Blut schwankte, 15, 45 und 120 Minuten nach der Zubereitung der Suspensionen abgelesen wurden. Es wurde hier wie von *Blix* hervorgehoben, bei den Analysen mit dem größten Extraktgehalt ein Fall im „n. W.“ im Laufe der Zeit zwischen der ersten und der letzten Ablesung nachgewiesen (die mehr extraktarmen Analysen hielten sich unverändert); dieses Suchen des „n. W.“ war aber in keinem Falle von bedeutendem Umfang, nirgend über 15 Proz. Und der Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Ablesung war nur minimal.

Was die reinen Lipide betrifft, kam ich, wie oben erwähnt, zu der Schlußfolgerung, daß man die Ablesung, ohne daß dadurch Fehler entstehen, von 15 bis 45 Minuten nach der Zubereitung der Suspensionen unternehmen kann, obgleich es vielleicht für weniger Geübte am besten ist, nach einem Zeitraum von 15 bis 30 Minuten abzulesen. Nach allem, was vorliegt, scheinen dieselben Verhältnisse auch für Blutanalysen Gültigkeit zu haben. Deshalb muß ich — zum Teil — eingestehen, daß *Blix'* Kritik an diesem Punkte berechtigt war, wenn auch der durch zu langes Warten (45 bis 120 Minuten) bedingte Fehler nur ganz ausnahmsweise von Bedeutung werden kann.

Für alle diejenigen Analysen, welche die Grundlage für *Bing* und *Heckschers* verschiedene klinische Arbeiten bilden, spielt diese Quelle zu etwaigen Fehlern überhaupt keine Rolle, denn die Ablesungen wurden hier sämtlich vor der 45. Minute unternommen; ich habe meine Ablesungen stets sofort nach Verlauf der 15. Minute begonnen, und sie waren immer, auch wenn ich 30 bis 40 Analysen auf einmal hatte, nach 15 bis 20 Minuten beendet.

Ferner haben wir die Frage über die benutzte Standardskala. *Blix* äußert sich darüber folgendermaßen: Mit Rücksicht auf die wechselnden Farbennuancen der Suspensionen, welche durch die wechselnde Zusammensetzung des primären Ätherextrakts bedingt sind, „dürfte die Anwendung eines bekannten Standards (wie der *Bing* und *Heckschersche*) daher die Genauigkeit der Bestimmung oft nicht unwesentlich beeinträchtigen“. Diese Ansicht ist aber nur richtig, wenn man zur Nephelometrie Apparate nach *Kobers* Prinzip benutzt, wo das Phänomen, welches man beobachtet, die Menge des reflektierten weißen Lichtes ist; dabei werden, wie bereits oben erwähnt, schon geringe Veränderungen in der Farbe der Suspensionen von Bedeutung sein. Bei *Heckschers* Nephelometer ist dies aber nicht der Fall; denn hier sieht man unmittelbar — ohne die Intervention irgend eines

optischen Systems — in die Suspensionen hinein und bekommt dadurch einen Eindruck von der Dichte der Suspensionen, von der „*Dichte des Lichtnebels*“, indem man unschwer von selbst recht bedeutenden Farbvariationen abstrahieren kann. Deshalb hat die von *Blix* oben zitierte Bemerkung keine reelle Bedeutung. Sie ist eben dadurch entstanden, daß *Blix* sich des ungewöhnlichen und, darf man wohl sagen, unzumutbaren Prinzips bedient hat, eine Methode zu kritisieren und die mit ihr erreichten Ergebnisse zu verwerfen, *ohne die Methode nach der originellen Beschreibung überhaupt zu probieren*. (Beiläufig möchte ich darauf hindeuten, daß *Blix* in seiner oben erwähnten, meiner Meinung nach übrigens vorzüglichen Arbeit „*Studies on Diabetic Lipemia*“ (1) es unterlassen hat, *Bing* und *Heckschers* Hauptergebnisse, sowie *Heckschers* früher veröffentlichte Arbeiten zu referieren (6) (7), obgleich sie doch fast in allen Punkten denjenigen von *Blix* entsprechen.)

Was den Gebrauch einer *unveränderlichen Standardskala* betrifft, muß ich hervorheben, daß eben eine solche Skala den Vorzug hat, etwaige zufällige Fehler auszuschließen, Fehler, die sich kaum vermeiden ließen, wenn man für jede Bestimmung (oder Serie von Bestimmungen) neue Standardreihen zubereiten sollte. Außerdem spart man natürlich auch Zeit mit einer festen Standardskala. (Über die Zubereitung einer solchen Standardreihe siehe am Schluß unter der Beschreibung der technischen Einzelheiten!)

Führt nun aber die Benutzung dieser Standardskala, mit der Berechnung der Werte auf Grund der oben beschriebenen Kurve (14) kombiniert, zu richtigen Ergebnissen, wenn es sich um Blutanalysen handelt? Mit anderen Worten: Werden die Lipoide im primären Ätherextrakt des Blutes in einer Weise gefällt, welche derjenigen der reinen Triolein-Cholesterinmischungen entsprach. Diese Frage geradewegs zu beantworten bin ich nicht imstande, denn die Untersuchungen, welche eine Beantwortung ermöglichen könnten, d. h. vergleichende Untersuchungen einer *bedeutenden Zahl* von Blutproben von normalen Menschen, Kranken mit verschiedenen Leiden (und von Tieren), teils nach einer gravimetrischen (Makro-) Methode, teils nach *Bing* und *Heckschers* Mikromethode, habe ich aus praktischen Gründen nicht ausführen können.

Dagegen bin ich dazu imstande, auf indirektem Wege Beweise dafür zu erlegen, daß die Bestimmungen richtig sind, denn ich habe in vergleichenden Untersuchungen mit *Bangs* (von *Blix* gebrauchte Methode) und *Bing* und *Heckschers* Methode gute Übereinstimmung der Resultate gefunden. Diese Untersuchungen werden im folgenden mitgeteilt.

Bangs Methode ist nach der Beschreibung von *Blix* und mit den von letzterem angegebenen kleinen technischen Korrekturen ausgeführt worden. Ich habe diese Methode nicht besonders schwierig gefunden, wenn nur die erforderliche Reinigung in allen Einzelheiten durchgeführt wird; im großen und ganzen ist die Methode jedoch im Vergleich mit *Bing* und *Heckschers* Methode sehr umständlich und zeitraubend, und sie ist bei weitem empfindlicher gegenüber zufälligen Verunreinigungen als letztere Methode. Selbst nachdem ich persönlich mit *Bangs* Methode gearbeitet habe und die untenstehenden befriedigenden Resultate erreicht habe, bin ich der Meinung, daß *Bing* und *Heckschers* Methode der Vorzug gebührt (zur Bestimmung des primären Äther- oder Petroleumätherextrakts als eine Einheit).

Es gab bei der Arbeit mit *Bangs* Methode ein paar Schwierigkeiten, die erst überwunden werden mußten. So gelang es mir nicht, die berechnete Äquivalenz zwischen Kaliumbichromat und Thiosulfat zu finden; beide Stoffe wurden laut der Angabe in einer n/10 Lösung aus guten Präparaten (*Kahlbaum* pro analysi) verfertigt. Ich mußte deshalb folgendermaßen verfahren:

Die Thiosulfatlösung wurde durch Kontrolltitrierung mit Jodatlösung geeicht (stimmte mit der Berechnung nach dem Abwiegen überein), und die Äquivalenz zwischen Bichromat und Thiosulfat wurde in folgendem Blindversuch bestimmt. (In gewöhnlicher Weise titriert, zeigte sich auch die Bichromatlösung genau n/10.)

Versuch zur Berechnung der Äquivalenz in *Bangs* Methode. 1,00 ccm 1proz. NaOH wird in ein Reagenzglas abpipettiert, kommt 1½ Minuten in kochendes Wasserbad, dann Abkühlung bis zur Zimmertemperatur. Danach Zusetzung der unten angegebenen Mengen von n/10 Kaliumbichromatlösung sowie 5,0 ccm Schwefelsäure, worauf die Gläser kräftig geschüttelt werden. Nach 15 Minuten langem Stehen wird der Inhalt der Gläser mit 100 ccm Leitungswasser in einen Erlenmeyerkolben hinübergespült; Zusetzung von 2,0 ccm 5proz. Kaliumjodidlösung (½ Minute Wartezeit), dann vier Tropfen von *Bangs* Stärkelösung und Titrieren mit n/10 Thiosulfatlösung aus einer Mikrobürette.

Tabelle XXI.

Zugesetztes Bichromat ccm	Verbrauchtes Thiosulfat ccm	Zugesetztes Bichromat ccm	Verbrauchtes Thiosulfat ccm
1,00	0,870	0,50	0,425
1,00	0,895	0,50	0,400
1,00	0,895	0,50	0,450
1,00	0,880	0,50	0,410
0,75	0,655	0,25	0,205
0,75	0,650	0,25	0,175
0,75	0,660	0,25	0,195
0,75	0,680	0,25	0,195

Auf Grund dieser Bestimmungen wurde Kurve 5 gezeichnet, und damit war die Grundlage für die Äquivalenzberechnungen der folgenden Analysen von reinen Lipoiden und Blutproben gegeben. In bezug auf diese titrimetrische Unregelmäßigkeit weise ich auf eine folgende Publikation von *H. Heckscher* und *Möller* hin: „Über Fehler bei dem

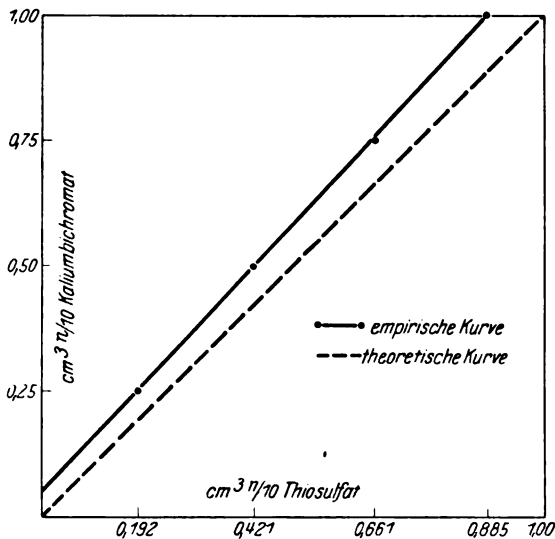


Abb. 5.

jodometrischen Verfahren in der *Bangschen* Methode zur Lipoidbestimmung.“ Um diese empirische Äquivalenzberechnung zu kontrollieren, wurde folgender Versuch mit reinen Stoffen, Triolein und Cholesterin, unternommen. Nach *Blix* wurden bei der Berechnung folgende Reduktionsquotienten gebraucht:

- Für Triolein 2,06
- „ Triolein-Cholesterinmischungen 2,45
- „ Cholesterin 2,48

Verfahren: Die Substanzen befanden sich in alkoholischer Lösung. Abdampfung des Alkohols im Wasserbad, zum Schluß durch Absaugen. Zusetzung von 1 ccm 1 proz. Na OH, Kochen usw. nach *Bangs* Methode.

Tabelle XXII.

Gegenwärtige Menge von Lipoiden	Verbrauchte Menge von n/10 Thiosulfat ccm	Reduzierte Menge von n/10 Bichromat ccm	Gefundene Lipoidmenge mg
0,100 mg Triolein	0,690	0,210	0,102
	0,690	0,210	
	0,680	0,225	
	0,670	0,235	
			0,107

Tabelle XXII (Fortsetzung).

Gegenwärtige Menge von Lipoiden	Verbrauchte Menge von n/10 Thiosulfat ccm	Reduzierte Menge von n/10 Bichromat ccm	Gefundene Lipoidmenge mg	
0,250 mg Triolein . . .	0,420	0,500	0,243	
	0,410	0,510	0,248	
	0,405	0,520	0,252	
	0,420	0,500	0,243	
			0,247	
0,050 mg Triolein . . .	0,720	0,180	0,076	
	0,720	0,180	0,076	
	0,025 mg Cholesterin . .	0,705	0,195	0,080
		0,725	0,175	0,071
			0,076	
0,050 mg Triolein . . .	0,555	0,360	0,147	
	0,100 mg Cholesterin . .	0,570	0,340	0,139
		0,570	0,340	0,139
		0,580	0,330	0,135
			0,140	
0,100 mg Cholesterin . .	0,670	0,235	0,095	
		0,655	0,250	0,101
		0,665	0,240	0,097
		0,635	0,270	0,109
			0,101	
0,150 mg Cholesterin . .	0,560	0,350	0,141	
		0,555	0,360	0,145
		0,560	0,350	0,141
		0,545	0,370	0,149
			0,144	

Diese Resultate fand ich befriedigend und ging alsdann zu vergleichenden Untersuchungen mit *Bangs* und *Bing* und *Heckschers* Methoden über. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle XXIII angegeben. Es wurde zu diesen Untersuchungen nicht wie gewöhnlich Blut aus dem Ohr läppchen, sondern Citratblut [1 Teil 3,8 proz. Natriumcitratlösung zu 9 Teilen Venenblut (fast keine Stauung)] benutzt, wovon Proben von 0,1 ccm auf Fließpapier (bzw. *Bangs* und *Bing* und *Heckschers*) innerhalb eines Zeitraums von 2 Stunden nach der Entleerung des Blutes abpipettiert wurden. Die Proben wurden einen bis mehrere Tage im Exsikkator bei Zimmertemperatur getrocknet und dann extrahiert. (Über das Trocknen und die Dauer des Trocknens siehe unten.) Die *Bangs*chen Analysen wurden mit Petroleumäther bei Zimmertemperatur in 1½ bis 3 Stunden extrahiert; die anderen Analysen wurden wie gewöhnlich mit Äther

bei 37° in 20 bis 24 Stunden extrahiert. Die *Bangs*chen Analysen wurden mit der vorgeschriebenen Technik ausgeführt, nur wurde das Abdampfen des Petroleumäthers, welches vor der Zusetzung des NaOH geschieht, mit einem 2 Minuten langen Absaugen beendet (um ein restloses Abdampfen des Petroleumäthers, welches bei einigen einleitenden Versuchen ziemlich schwierig war, zu sichern). Der Blindwert war bei diesen Analysen minimal und wurde natürlich vom Ergebnis abgezogen. Bei *Bing* und *Heckschers* Analysen gab es keinen Blindwert.

Im großen und ganzen sieht man hier (Tabelle XXIII) eine überaus gute Übereinstimmung der mit den beiden verschiedenen Methoden gewonnenen Resultate; so findet man in 9 von den 19 Analysen eine völlige Übereinstimmung der Durchschnittszahlen, und in den übrigen ist der Unterschied nur gering: 0,01 bis 0,02 mg. In allen zehn Fällen kommt die Differenz dadurch zustande, daß die Werte mit *Bing* und *Heckschers* Methode größer als die Werte mit *Bangs* Methode sind.

Man findet die Ursache hierzu in der verschiedenen Extraktionstechnik, nämlich nach *Bangs* Methode: Petroleumäther 1½ bis 3 Stunden bei Zimmertemperatur, während nach *Bing* und *Heckschers* Methode Äther 20 bis 24 Stunden bei 37° C. Dieser Unterschied in der Temperatur ist von Bedeutung, wenn es sich um Extraktion mit Äther handelt, was aus einigen untenstehenden Versuchen deutlich hervorgeht; deshalb liegt auch die Annahme nahe, daß bei der Extraktion mit Petroleumäther dasselbe der Fall sein würde. (Nach *Blix* sollen die Resultate der Äther- und Petroleumätherextraktionen sowohl qualitativ als quantitativ identisch sein.)

Um Klarheit über diesen Punkt zu gewinnen, unternahm ich eine neue Reihe von Versuchen, wo zur Einleitung beider Analysemethoden Extraktion mit Petroleumäther bei Zimmertemperatur benutzt wurde (es war die Extraktionstechnik in der obenstehenden Versuchsreihe bei beiden Methoden deswegen verschieden, weil es meine Absicht war, die Methoden genau so auszuführen, wie sie von ihren Urhebern beschrieben und ausgeführt worden sind).

Die Resultate dieser Versuchsreihe (Tabelle XXIV) bestätigen das Obenerwähnte. In diesen Versuchen erreichte ich eine ganz befriedigende Übereinstimmung der Resultate; die Durchschnittszahl ist bei sechs von zwölf Personen die gleiche; nirgend gibt es eine größere Differenz der Durchschnittszahlen als 0,01 mg, und diese Differenz entsteht in drei Fällen dadurch, daß *Bing* und *Heckschers* Methode am meisten gilt, während das entgegengesetzte ebensovielfach der Fall ist.

Tabelle XXIII.

Vergleichende Untersuchungen mit *Bangs* und mit *Bing* und *Heckschers* Methoden. Citratblut (4,5 ccm Venenblut + 0,5 ccm Natriumcitratlösung), wovon 0,10 ccm auf Fließpapier abpipettiert und analysiert wurde.

	<i>Bangs</i> Methode	<i>Bing</i> u. <i>Heckschers</i> Methode
<i>H. J.</i> , ♂, 74 Jahre. Cirrhosis hepatis	0,053 } 0,046 } 0,05	0,07 } 0,06 } 0,07
<i>J. A. J.</i> , ♂, 31 Jahre. Ulcus ventriculi	0,050 } 0,046 } 0,05	0,06 } 0,05 } 0,05 } 0,05
<i>J. C.</i> , ♂, 58 Jahre. Diabetes mellitus	0,142 } 0,136 } 0,14	0,15 } 0,15 } 0,15 } 0,15
<i>I. J. N.</i> , ♂, 29 Jahre. Ischias	0,065 } 0,057 } 0,06	0,07 } 0,07 } 0,05 } 0,06
<i>K. M. C.</i> , ♀, 59 Jahre. Diabetes mellitus	0,092 } 0,086 } 0,076 } 0,082 } 0,08	0,10 } 0,10 } 0,09 } 0,08 } 0,08 } 0,09
<i>J. M. H.</i> , ♀, 59 Jahre. Diabetes mellitus	0,094 } 0,084 } 0,069 } 0,057 } 0,08	0,08 } 0,08 } 0,07 } 0,08 } 0,08
<i>M. C. J.</i> , ♀, 44 Jahre. Diabetes mellitus	0,186 } 0,178 } 0,182 } 0,170 } 0,18	0,19 } 0,21 } 0,19 } 0,22 } 0,19 } 0,20 } 0,20
<i>E. C. A.</i> , ♀, 24 Jahre. Ulcus ventriculi	0,078 } 0,071 } 0,065 } 0,057 } 0,07	0,07 } 0,08 } 0,07 } 0,06 } 0,07 } 0,07
<i>N. E. W.</i> , ♀, 25 Jahre. Lymphogranulomatosis	0,067 } 0,067 } 0,076 } 0,059 } 0,07	0,07 } 0,07 } 0,07 } 0,07 } 0,08 } 0,08 } 0,07
<i>M. K. L.</i> , ♀, 51 Jahre. Diabetes mellitus	0,114 } 0,116 } 0,112 } 0,092 } 0,11	0,13 } 0,12 } 0,12 } 0,11 } 0,10 } 0,11 } 0,12

Tabelle XXIII (Fortsetzung).

	Bangs Methode	Bing u. Heckschers Methode
M. R., ♀, 30 Jahre. Neurasthenia	0,063	0,08
	0,071	0,09
	0,067	0,08
	0,069	0,07
	} 0,07	} 0,08
T. J. A. B., ♀, 44 Jahre. Pneumonia seq.	0,086	0,08
	0,080	0,08
	0,082	0,09
	0,065	0,08
	} 0,08	} 0,08
B. K. L., ♀, 44 Jahre. Febris rheumatica	0,055	0,07
	0,050	0,07
	0,065	0,07
	0,053	0,07
	} 0,06	} 0,07
E. L., ♀, 37 Jahre. Neurasthenia.	0,080	0,10
	0,082	0,09
	0,090	0,10
	0,092	0,08
	} 0,09	} 0,09
J. C. A., ♂, 34 Jahre. Ulcus duodeni	0,069	0,07
	0,073	0,07
	0,065	0,07
	0,067	0,07
	} 0,07	} 0,07
C. B. H., ♂, 27 Jahre. Pleuritis exsudativa	0,059	0,08
	0,063	0,07
	0,061	0,07
	0,055	0,07
	} 0,06	} 0,07
G. K. B., ♂, 24 Jahre. Icterus infectiosus	0,088	0,10
	0,106	0,10
	0,080	0,09
	0,100	0,11
	} 0,09	} 0,10
J. F., ♂, 21 Jahre. Pleuritis exsudativa	0,071	0,07
	0,065	0,07
	0,076	0,05
	0,082	0,08
	} 0,07	} 0,07
G. A. F., ♂, 64 Jahre. Mb. cordis incompens.	0,065	0,06
	0,069	0,06
	0,055	0,07
	0,067	0,07
	} 0,06	} 0,07

(Sämtliche obenstehenden Werte müssen, um für das unverdünnte Blut zu gelten, mit $\frac{10}{9}$ multipliziert werden.)

Tabelle XXIV.

Vergleichende Untersuchungen mit *Bangs* und *Bing* und *Heckschers* Methode. Blutproben — ohne Citrat — aus dem Ohrläppchen von Patienten, 2 bis 3 Stunden nach der Einnahme eines leichteren, fettarmen Frühstücks. Trocknen bei Zimmertemperatur in 24 Stunden. In beiden Serien Extraktion mit Petroleumäther 1½ bis 3 Stunden bei Zimmertemperatur.

	<i>Bangs</i> Methode	<i>Bing</i> und <i>Heckschers</i> Methode
A. G. L., ♂, 23 Jahre. Diabetes mellitus	0,098	0,09 0,09 0,08 } 0,09
	0,090	
	0,094	
C. L., ♂, 26 Jahre. Icterus infectiosus	0,092	0,11 0,09 0,10 } 0,10
	0,092	
	0,092	
P. S., ♂, 64 Jahre. Diabetes mellitus	0,108	0,10 0,10 0,10 } 0,10
	0,110	
	0,092	
F. K. G. C., ♂, 17 Jahre. Mb. cordis incompens.	0,061	0,06 0,06 0,07 } 0,06
	0,082	
	0,061	
V. A. S. M., ♂, 38 Jahre. Tabes dorsalis.	0,084	0,11 0,10 0,10 } 0,10
	0,092	
	0,086	
A. M., ♂, 21 Jahre. Phlebitis extr. inf. seq.	0,078	0,08 0,08 0,09 } 0,08
	0,076	
	0,078	
H. H., ♂, 25 Jahre. Neurastenia	0,096	0,08 0,08 0,08 } 0,08
	0,080	
	0,080	
V. A. A. L., ♂, 23 Jahre. Asthma bronchiale	0,082	0,10 0,10 0,10 } 0,10
	0,094	
	0,094	
J. M. F., ♀, 65 Jahre. Nephritis chr.	0,102	0,09 0,09 0,08 } 0,09
	(0,156?)	
	0,080	
G. M. M., ♀, 24 Jahre. Neurastenia	0,086	0,08 0,08 0,08 } 0,08
	0,078	
	0,078	
E. L. H., ♂, 19 Jahre. Normal	0,078	0,07 0,07 0,08 } 0,07
	0,082	
	0,071	
J. M. K., ♂, 20 Jahre. Normal	0,086	0,10 0,09 0,09 } 0,09
	0,096	
	0,090	

Betreffs der Extraktionszeit bei *Bangs* Methode möchte ich an dieser Stelle bemerken, daß ich, wie aus untenstehender Versuchsreihe ersichtlich, zu kleine und zu springende Resultate bei der von *Bang* und *Blix* angegebenen ganz kurzen Extraktionszeit, über 10 Minuten, bekommen habe; (entscheidend ist jedoch vielleicht hier die Intensität, mit welcher man das Papier, nachdem es dem Extraktionsglas entnommen ist, spült).

Tabelle XXV.

Durchschnittszahlen der obenstehenden Analysen von Tab. XXIII	Einzelanalysen derselben Blutproben, 15 Min. bei Zimmertemperatur extrahiert	Durchschnittszahlen der obenstehenden Analysen von Tab. XXIII	Einzelanalysen derselben Blutproben, 15 Min. bei Zimmertemperatur extrahiert
0,08	0,082	0,11	0,082
	0,039		0,061
	0,059		0,071
0,08	0,057	0,07	0,057
	0,039		0,049
	0,029		0,037
0,18	0,153	0,08	0,092
	0,143		0,053
	0,141		0,049
0,07	0,053	0,06	0,051
	0,049		0,043
	0,035		0,035
0,07	0,049	0,09	0,073
	0,047		0,063
	verloren		0,073

Ich habe deshalb die Extraktionszeit bei den *Bangs*chen Analysen verlängern müssen.

Als Hauptresultat dieser vergleichenden Untersuchungen mit den beiden Analysenmethoden ergibt sich also, daß die gefundenen Werte übereinstimmen. Die Größe des primären Ätherextrakts oder primären Petroleumätherextrakts vom getrockneten Blute ist dieselbe, gleichviel ob die Bestimmung nach *Bangs* oder nach *Bing* und *Heckschers* Methode unternommen wird. Und ich meine deshalb, auf indirektem Wege den Beweis für die überwiegende Wahrscheinlichkeit der Annahme geliefert zu haben, daß die mit *Bing* und *Heckschers* Methode gewonnenen Resultate absolute Gültigkeit haben. Was meines Erachtens in dieser Beziehung von ganz besonderer Bedeutung ist, ist der Umstand, daß die präliminären Versuche mit *Tripalmitin* und *Tristearin* in einer durchweg befriedigenden Weise mit *Bangs* Methode ausgeführt werden konnten, während hingegen dies mit der anderen Methode nicht der Fall war [s. *Bing* und *Heckscher* (4), sowie *Blix* (3)]. Durch seine Bestimmungen der Reduktionsquotienten der genannten Substanzen (im großen und ganzen gleich denjenigen des Trioleins) hat *Blix* das höchste Maß von Wahrscheinlichkeit dafür geliefert, daß die gesamten ex-

trahierten Neutralfette — wenn auch vielleicht, was die Säurekomponenten betrifft, variierend — nach *Bangs* Methode quantitativ bestimmt werden. Da beide Methoden miteinander übereinstimmen, gereicht dies also auch derjenigen von *Bing* und *Heckscher* zur Stütze.

Trotzdem drängt sich die Frage auf: Könnte es nicht dennoch Fälle geben, wo *Bing* und *Heckschers* Methode zu falschen Ergebnissen führen würde, trotz der gefundenen Übereinstimmung dieser beiden Methoden. Daß dergleichen Fälle jedenfalls nicht häufig sind, geht außer aus den obenstehenden vergleichenden Untersuchungen ebenfalls aus der früher genannten guten Übereinstimmung von *Bing* und *Heckschers* und *Bangs* bzw. *Blix*' Ergebnissen bei den Untersuchungen an gesunden und kranken Personen hervor. Diese Übereinstimmung der Resultate läßt sich nicht nur bei den Untersuchungen über die Verschiebungen bei verschiedenen Krankheiten, welche man natürlich nur einigermaßen nach Gutdünken vergleichen kann, konstatieren, sondern auch bei den Untersuchungen über die *menschlichen Normalwerte*, wie früher von *Bing* und *Heckscher* hervorgehoben. [Daß *Blix* bei seinen Untersuchungen (1) von (nicht bettlägerigen?) normalen Personen eine etwas höhere, oberste Grenze des primären Petroleumätherextrakts (beim Manne: höchster gefundener Wert 0,12 mg, bei der Frau 0,16 mg) als *Bing* und *Heckscher* (sowohl Männer als Frauen höchster Wert 0,12 mg) findet, kommt vielleicht nur daher, daß *Blix* die Grenzen des „normalen“ so weit wie möglich gezogen hat, während *Bing* und *Heckscher* im Gegenteil bei der Einteilung ihres Materials (213 Patienten in der medizinischen Abteilung, am Tage nach ihrer Einbringung auf nüchternen Magen untersucht) die Grenzen sehr eng gezogen haben.]

Meiner Meinung nach gibt es jedoch Fälle, wo man riskiert, falsche (d. h. zu kleine) Resultate beim Gebrauch von *Bing* und *Heckschers* Methode zu erhalten, nämlich die verhältnismäßig wenigen Fälle, wo der Extrakt gar kein oder wenig Neutralfett enthält, wo derselbe also, wie von *Bang* und *Blix* nachgewiesen, ausschließlich oder fast ausschließlich aus Cholesterin besteht; denn es wurde in obenstehendem Abschnitt über die Nephelometrie der reinen Lipide nachgewiesen, daß das reine Cholesterin und Triolein-Cholesterinmischungen mit minimalem Trioleingehalt zur Nephelometrie nach dem genannten Prinzip ungeeignet sind. (Doch glaube ich nicht, daß dieses Verhältnis irgendwelche Fehler von Bedeutung in den von *Bing* und *Heckscher* früher veröffentlichten Versuchen, wo der Extrakt des Fließpapiers das Neutralfett erstattet hat, verursacht haben kann.) Diese Möglichkeit falscher Ergebnisse läßt sich indessen scheinbar durch eine einfache Änderung der Methode unschwer eliminieren, indem man einen *künstlichen* „Träger“ des Cholesterins *hinzu fügt*; dies erreicht man dadurch.

daß man zur Lösung des Extrakts nicht reinen Alkohol, sondern Alkohol mit einer gewissen, kleinen Trioleinmenge gebraucht. Daß man einen solchen Blindwert ohne Schädigung der Methode einführen kann, wird in folgender Versuchsreihe nachgewiesen.

Tabelle XXVI.

- A. Blutproben, analysiert wie gewöhnlich mit *Bing* und *Heckschers* Methode, d. h. mit Lösung des Extrakts in reinem Alkohol.
- B. Entsprechende Blutproben, analysiert mit *Bing* und *Heckschers* Methode, nun aber mit Lösung des Extrakts in Alkohol, welcher 0,05 mg Triolein in der gebrauchten Alkoholmenge (0,50 ccm) enthielt. Die angegebenen Resultate sind durch Abziehen dieses Blindwertes von dem gefundenen Werte entstanden.

A		B	A		B
Zahl der Analysen	Durchschnittszahl	Durchschnittszahl von drei Analysen	Zahl der Analysen	Durchschnittszahl	Durchschnittszahl von drei Analysen
6	0,07	0,06	4	0,08	0,08
5	0,07	0,07	5	0,09	0,09
6	0,07	0,07	6	0,09	0,08
5	0,07	0,07	6	0,10	0,10
5	0,07	0,08	6	0,20	0,19
4	0,07	0,07			

(Die unter A angegebenen Analysen befinden sich auch in Tabelle XXIII.)

Aber auch aus der folgenden Tabelle (XXVII), durch Ordnung der in Tabellen IX bis XVI erwähnten Resultate entstanden, geht die Berechtigung der vorgeschlagenen Änderung in der Methodik deutlich hervor.

Tabelle XXVII.

Mischungen von Triolein und Cholesterin in 0,50 ccm Alkohol gelöst, mit 2,50 ccm BaCl₂-Lösung von 20° C gefällt. Die Zahlen hier, Durchschnittszahlen von Doppelanalysen, bedeuten „mg Lipoid“.

Trioleinmenge	Cholesterinmenge						
	0,022	0,044	0,066	0,088	0,132	0,176	0,220
0,010	0,03	0,06	0,08	0,10	0,12	0,18	—
0,020	0,03	0,06	0,08	0,12	0,15	0,20	—
0,030	0,04	0,08	0,11	0,12	0,19	0,23	—
0,034	0,07	0,08	0,10	0,12	0,18	0,23	0,25
0,040	0,05	0,08	0,11	0,13	0,19	0,23	0,26
0,050	0,08	0,09	0,11	0,13	0,16	0,23	0,24

Mit dieser kleinen Änderung in der Methode sollte man also eine Sicherung gegen den obengenannten Fehler gewonnen haben; ich halte es deshalb für richtig — wie aus der Besprechung der Technik am Schluß dieses Artikels ersichtlich —, die Verbesserung in der Methodik von *Bing*

und *Heckschers* Methode einzuführen, welche darin besteht, anstatt reinen Alkohols einen Alkohol, welcher eine gewisse kleine Menge Triolein (0,02 mg Triolein pro 0,50 ccm) enthält, zu benutzen. (Mit Ausnahme der Analysen in Serie B, Tabelle XXVI, sind jedoch alle in dieser Arbeit veröffentlichten Analysen nach *Bing* und *Heckschers* Methode in gewöhnlicher Weise ohne Zusetzung von Triolein unternommen worden.)

Nachdem ich nun in den beiden vorigen Abschnitten meine Überlegungen und Untersuchungen in bezug auf das Prinzipielle von *Bing* und *Heckschers* Analysenmethode mitgeteilt habe, werde ich über die Genauigkeit der Methode bei ihrem gewohnheitsmäßigen praktischen Gebrauch in der Klinik Aufschluß geben. Zur Einleitung möchte ich doch erst einige Untersuchungen über gewisse Teile der Versuchstechnik: Das Entnehmen des Blutes, das Trocknen der Proben, das Aufbewahren derselben, sowie endlich die Temperatur und Dauer der Extraktion, einfügen.

Es ist früher von *Bing* und *Heckscher*, ohne Angaben von Daten, behauptet worden, daß schon bei dem Entnehmen des Blutes aus einem kleinen Schnitt oder Stich im Ohr läppchen ein recht bedeutender Fehler entstehen kann, indem die ersten Tröpfchen oft extraktreicher als die folgenden Blutropfen sind. Dafür liefert die nachstehende Versuchsreihe den Beweis.

Bei 19 verschiedenen Kranken habe ich das erstkommende Blut (Blutproben 1) aufgesaugt und danach außerdem noch drei Blutproben (2 bis 4) genommen. Das Ergebnis der Analysen geht aus der Tabelle XXVII hervor (die zusammengehörigen Analysen sind am selben Tage ausgeführt worden).

Tabelle XXVIII.

1	2	3	4	1	2	3	4
0,12	0,11	0,11	0,11	0,13	0,08	0,09	0,08
0,12	0,13	0,12	0,12	0,14	0,08	0,08	0,08
0,07	0,06	0,07	0,07	0,17	0,10	0,10	0,09
0,10	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,05	0,05
0,23	0,25	0,20	0,22	0,22	0,08	0,10	0,08
0,14	0,10	0,08	0,10	0,10	0,08	0,11	0,11
0,11	0,10	0,09	0,10	0,08	0,07	0,08	0,08
0,14	0,08	0,10	0,10	0,18	0,11	0,12	0,11
0,15	0,11	0,12	0,11	0,12	0,13	0,12	0,13
0,17	0,08	0,10	0,11				

In mehreren dieser Serien sieht man, daß die erste Blutprobe bedeutend mehr Extrakt enthält wie die folgenden drei. Die Unkenntnis über diese Verhältnisse hatte in der ersten Periode der klinischen Arbeit einige Unannehmlichkeiten zur Folge, indem dann und wann Blutanalysen kamen, welche überaus schlecht miteinander übereinstimmten. Für die Beurteilung des Materials war dies jedoch ohne Bedeutung, denn dergleichen Fälle wurden stets durch wiederholte Analysen gesichert oder ausgemustert.

Die nächste Frage betrifft das *Trocknen* der auf Fließpapier ausgeblasenen Blutproben; darauf bezieht sich die nächste Versuchsserie.

Tabelle XXIX.

Blutproben aus dem Ohrläppchen von vier nüchternen Patienten, alle, abgesehen vom Trocknen, ganz gleichartig nach *Bing* und *Heckschers* Methode analysiert, Extraktion bei 37° C in 20 bis 24 Stunden.

	Blut 1	Blut 2	Blut 3	Blut 4
A. 1 Stunde im Thermostat bei 30° C getrocknet	0,08 0,08	0,09 0,10	0,08 0,08	0,09 0,10
B. 20 Stunden an der Luft bei 15 bis 20° C getrocknet	0,08 0,08	0,10 0,11	0,09 0,08	0,08 0,10
C. Wie B an der Luft getrocknet, danach mit einem Tropfen destillierten Wassers befeuchtet, mit Äther übergossen und extrahiert.	0,15 0,12	0,14 0,12	0,23 0,19	0,16 verloren

Die folgenden Analysen: Extraktion in 20 bis 24 Stunden bei 15 bis 20° C.

	Blut 1	Blut 2	Blut 3	Blut 4
D. 1 Stunde im Thermostat bei 30° C getrocknet	0,08 0,08	0,09 0,09	0,08 0,08	0,08 0,09
E. 20 Stunden im Thermostat bei 30° C getrocknet	0,09 0,09	0,09 0,10	0,08 0,08	0,09 0,10
F. 20 Stunden aus der Luft bei 15 bis 20° C getrocknet	0,09 0,08	0,10 0,10	0,08 0,08	0,09 0,09
G. 20 Stunden im Exsikkator bei 15 bis 20° C getrocknet	0,08 0,10	0,10 0,10	0,07 0,08	0,12 0,10
H. 68 Stunden im Exsikkator bei 15 bis 20° C getrocknet	0,08 0,08	0,09 0,10	0,07 0,08	0,09 0,09
J. Mit anderem feuchten Papier im geschlossenen Behälter in 20 Stunden bei 15 bis 20° C aufbewahrt; danach wie D getrocknet	0,08 0,10	0,11 0,10	0,12 0,12	0,12 0,11

Nach einer allgemeinen Schätzung waren E, G, H und J „stockdürre“. A, B, D und F waren trocken im gewöhnlichen Sinne des Wortes, aber doch nicht so dürr, so knitternd wie die anderen. C waren ganz naß.

Hier unterscheiden sich die Reihen C und — etwas weniger — J von den übrigen Reihen durch ihre höheren Werte; zwischen den übrigen herrscht keine größere Differenz als durch die unvermeidlichen Zufälligkeiten bedingt.

Daraus können wir folgende Lehre ziehen:

Das Trocknen der Proben muß schnell begonnen werden.

Das Trocknen muß gründlich, wenn auch nicht extrem, sein.

Ob das Trocknen bei 15 bis 20° oder bei 30° C geschieht, scheint ohne Bedeutung zu sein.

Nach genügendem Trocknen erhält man dieselben Werte, gleichviel ob es 1 oder 68 Stunden gedauert hat.

In letzterem Verhältnis sind meine Resultate im Widerspruch mit *Blix*, welcher — auf Grund einer kleinen Differenz zwischen nur zwei

Doppelanalysen (Durchschnittszahlen 0,16 und 0,14) — angibt, daß ein Trocknen (bzw. ein Aufbewahren in getrocknetem Zustande) von längerer Dauer als 24 Stunden die Resultate ändert. Für den praktischen Gebrauch der Methode ist diese Frage selbstredend von großer Bedeutung, denn es kann ja aus verschiedenen Gründen wünschenswert sein, die getrockneten Proben zur Analyse bei einer anderen Gelegenheit aufzubewahren. (Dies war z. B. der Fall bei einer Reise durch *Steiermark*, wo ich Blutproben von *Kretinen* einsammelte; diese Proben wurden getrocknet und einige Wochen später nach der Rückkunft nach *Dänemark* analysiert.) Deshalb habe ich versucht, die Frage noch gründlicher zu beleuchten; dies geschah durch untenstehende Zusammenstellung der Analysenergebnisse.

Tabelle XXX.

- A. Doppelanalysen, im Oktober 1924 ausgeführt, 1 bis 3 Tage nach Entnehmen der Blutprobe.
 B und C. Im August 1926 ausgeführte Analysen; die Proben wurden also beinahe 2 Jahre in getrocknetem Zustande aufbewahrt.
 A und B. Extraktion bei 37° in 20 bis 24 Stunden mit Äther.
 C. Extraktion bei 15 bis 20° in 20 bis 24 Stunden mit Äther.

A	B	C
0,14 — 0,12	0,10	0,08
0,09 — 0,09	0,09	0,06
0,24 — 0,24	0,22	0,23
0,12 — 0,12	0,08	0,09
0,13 — 0,16	0,13	0,10
0,12 — 0,12	0,08	0,07
0,10 — 0,12	0,10	0,09
0,10 — 0,10	0,10	0,09
0,12 — 0,14	0,12	0,09
0,10 — 0,10	0,09	0,09
0,15 — 0,16	0,19	0,14
0,12 — 0,13	0,12	0,10
0,07 — 0,08	0,08	0,08
0,15 — 0,19	0,14	0,12
0,14 — 0,16	0,15	0,12
0,13 — 0,15	0,12	0,10
0,22 — 0,19	0,17	0,19
0,16 — 0,16	0,13	0,10
0,11 — 0,10	0,10	0,09
0,07 — 0,09	0,09	0,08
0,13 — 0,12	0,13	0,09
0,13 — 0,13	0,11	0,11
0,13 — 0,16	0,12	0,09
0,12 — 0,11	0,09	0,10
0,10 — 0,09	0,09	0,09
0,11 — 0,12	0,08	0,07
Summe: 330 — 345	302	266
338		

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, wenn man die Reihen A und B vergleicht, daß in der verstrichenen Zeit gewisse Prozesse in den getrockneten Proben vorgegangen sind, welche die Extraktmenge durchschnittlich 10 Proz. herabgesetzt haben. Ferner geht es aus der Differenz der Reihen B und C, ebenfalls etwa 10 Proz., hervor, daß der Extraktgewinn bei einer Extraktion bei 37° größer ist als bei 15 bis 20° C; dieses Verhältnis ist übrigens unter den vergleichenden Untersuchungen mit *Bangs* und *Bing* und *Heckschers* Methoden früher besprochen worden.

Bei meinen Untersuchungen über die Bedeutung der Dauer des Trocknens (Aufbewahrens) habe ich also nichts gefunden, was der Behauptung von *Blix* zur Stütze dienen könnte, daß ein kurzer Aufschub der Extraktion und der Analysen die Ergebnisse beeinflussen würde. Dennoch ist es vielleicht möglich, daß der Extrakt unter gewissen — seltenen — Umständen eine solche Zusammensetzung haben kann, daß die von mir in Tabelle XXX beobachtete, im Laufe von 2 Jahren entstandene, ziemlich geringe Verminderung der Extraktmenge in schnellerem Tempo und größerem Umfang geschehen könnte; *es ist also doch zu empfehlen, die Analysen, sobald es die praktischen Verhältnisse erlauben, zu unternehmen.* (Abgesehen von den obengenannten Blutanalysen von Kretinen sind *Bing* und *Heckschers*, sowie *Heckschers* Analysen demnach auch im Laufe der ersten paar Tage nach Entnehmen der Blutprobe ausgeführt worden; dasselbe ist bei allen in dieser Arbeit veröffentlichten Blutanalysen der Fall, wo nicht das Entgegengesetzte ausdrücklich bemerkt wird.)

Als letztes Glied in der Reihe meiner Untersuchungen über die Genauigkeit und Verwendbarkeit von *Bing* und *Heckschers* Mikromethode werde ich endlich eine Zusammenfassung von Analysen anführen, mit dem Zwecke dadurch die Genauigkeit der Methode bei ihrer täglichen, routinemäßigen Anwendung zu demonstrieren; diese Zusammenstellung von *sämtlichen* nach einem bestimmten Datum (die anderswo in dieser Arbeit angegebenen Analysen sind noch nicht mitgenommen) an ein und demselben Tage ausgeführten Doppelanalysen ist danach als Grundlage einer Berechnung der „*Standard deviation*“ gebraucht worden. Der erste Teil dieser Berechnung wurde jedoch in einer etwas anderen Weise wie gewöhnlich unternommen; denn anstatt von exakt bestimmten Größen auszugehen, gehe ich hier von Größen aus, die weniger genau bestimmt sind. Die Berechnung wurde in der Weise unternommen, daß ich — mit Hilfe der gewöhnlichen Formel — den *Durchschnittsfehler* („*Standard deviation*“) zwischen denjenigen Werten in der einen Reihe von Doppelanalysen, welche gewissen Werten in der anderen Reihe entsprechen, berechnet habe.

Tabelle XXXI.

Analyse Nr.	mg Extrakt (Doppelanalysen)		Analyse Nr.	mg Extrakt (Doppelanalysen)	
3668	0,12	0,12	4539	0,12	0,11
3856	0,08	0,11	4541	0,14	0,10
3858	0,08	0,08	4543	0,12	0,10
3860	0,11	0,10	4545	0,08	0,10
3864	0,13	0,10	4547	0,09	0,08
3866	0,11	0,11	4567	0,15	0,15
3873	0,12	0,12	4569	0,20	0,19
3879	0,08	0,08	4573	0,09	0,10
3883	0,08	0,09	4587	0,10	0,10
3885	0,10	0,09	4591	0,11	0,11
3887	0,08	0,10	4593	0,11	0,11
3889	0,13	0,12	4595	0,10	0,09
3893	0,28	0,23	4597	0,15	0,14
3971	0,13	0,14	4599	0,10	0,10
3973	0,07	0,08	4608	0,14	0,10
3975	0,12	0,11	4617	0,09	0,10
3977	0,08	0,09	4619	0,10	0,10
4049	0,11	0,10	4621	0,09	0,10
4051	0,10	0,10	4623	0,10	0,09
4146	0,12	0,11	4625	0,07	0,09
4148	0,12	0,12	4637	0,10	0,09
4150	0,22	0,22	4639	0,09	0,10
4152	0,12	0,12	4655	0,10	0,06
4164	0,11	0,10	4657	0,09	0,08
4172	0,09	0,11	4659	0,09	0,09
4174	0,11	0,10	4675	0,07	0,07
4176	0,11	0,10	4677	0,08	0,07
4178	0,12	0,11	4679	0,08	0,09
4180	0,11	0,10	4681	0,08	0,09
4239	0,11	0,11	4683	0,09	0,10
4241	0,07	0,09	4685	0,09	0,09
4243	0,08	0,10	4687	0,10	0,10
4245	0,11	0,10	4722	0,09	0,09
4314	0,09	0,10	4724	0,10	0,09
4316	0,09	0,10	4726	0,09	0,08
4318	0,13	0,13	4728	0,08	0,09
4320	0,13	0,14	4730	0,09	0,08
4322	0,15	0,12	4732	0,09	0,09
4324	0,12	0,13	4734	0,06	0,06
4325	0,12	0,12	4736	0,12	0,12
4327	0,10	0,09	4740	0,07	0,08
4329	0,12	0,15	4742	0,08	0,07
4331	0,10	0,10	4744	0,07	0,07
4343	0,20	0,21	4746	0,07	0,08
4346	0,12	0,14	4748	0,07	0,07
4349	0,07	0,06	4750	0,08	0,07

Tabelle XXXII.

Die erste der beiden Doppelanalysen	Zweite Doppelanalyse	Durchschnittszahl	Differenz
0,07	0,08	0,077	0,003
	0,09		0,013
	0,06		0,017
	0,09		0,013
	0,07		0,007
	0,08		0,003
	0,07		0,007
	0,08		0,003
	0,07		0,007
	„Standard deviation“: 0,010 = 13 Proz. der Durchschnittszahl.		
0,08	0,11	0,088	0,022
	0,08		0,008
	0,08		0,008
	0,09		0,002
	0,10		0,012
	0,09		0,002
	0,10		0,012
	0,10		0,012
	0,07		0,018
	0,09		0,002
	0,09		0,002
	0,09		0,002
	0,09		0,002
	0,07		0,018
0,07	0,018		
„Standard deviation“: 0,013 = 14 Proz. der Durchschnittszahl.			
0,09	0,11	0,098	0,017
	0,10		0,007
	0,10		0,007
	0,08		0,013
	0,10		0,007
	0,10		0,007
	0,10		0,007
	0,10		0,007
	0,10		0,007
	0,08		0,013
	0,09		0,003
	0,10		0,007
	0,09		0,003
	0,09		0,003
	0,08		0,013
	0,08		0,013
	0,09		0,003
„Standard deviation“: 0,009 = 11 Proz. der Durchschnittszahl.			

Die erste der beiden Doppelanalysen	Zweite Doppelanalyse	Durchschnittszahl	Differenz
0,10	0,09	0,092	0,002
	0,10		0,008
	0,09		0,002
	0,10		0,008
	0,10		0,008
	0,09		0,002
	0,10		0,008
	0,10		0,008
	0,09		0,002
	0,09		0,002
	0,10		0,008
	0,09		0,002
	0,10		0,008
	0,06		0,032

„Standard deviation“:

0,011 = 11 Proz. der Durchschnittszahl.

0,11	0,10	0,108	0,003
	0,11		0,007
	0,10		0,003
	0,10		0,003
	0,10		0,003
	0,10		0,003
	0,10		0,003
	0,11		0,007
	0,10		0,003
	0,11		0,007
	0,11		0,007

„Standard deviation“:

0,005 = 5 Proz. der Durchschnittszahl.

0,12	0,12	0,120	0,000
	0,12		0,000
	0,11		0,010
	0,11		0,010
	0,12		0,000
	0,12		0,000
	0,11		0,010
	0,13		0,010
	0,12		0,000
	0,15		0,030
	0,14		0,020
	0,11		0,010
	0,10		0,020
	0,12		0,000

„Standard deviation“:

0,013 = 11 Proz. der Durchschnittszahl.

0,13	0,10	0,126	0,026
	0,12		0,006
	0,14		0,014
	0,13		0,004
	0,14		0,014

„Standard deviation“:

0,017 = 13 Proz. der Durchschnittszahl.

Aus dieser Berechnung geht hervor, daß der prozentische Fehler einigermmaßen gleich ist, sei es, daß die gemessenen Werte so klein wie 0,07 mg oder so groß wie 0,13 mg sind. Deshalb kann man das Material, indem man davon absieht, daß darin einzelne größere Werte (0,14 bis 0,18 mg) vorkommen, als homogen ansehen und den Durchschnittsfehler („Standard deviation“) wie gewöhnlich berechnen.

Tabelle XXXIII.

<i>E</i> Differenz der einander entsprechend. Doppel- analysen in 0,01 mg ausgedrückt	<i>Z</i> Zahl der Fälle im Material	<i>ZE</i> ²
5	1	25
4	2	32
3	4	36
2	9	36
1	47	47
0	29	0
	92	176

$$m^2 = \frac{176}{92} = 1,9; \quad m = \sqrt{1,9} = 1,38; \quad \text{d. h.: } 0,0138 \text{ mg.}$$

Daraus folgt, daß der Durchschnittsfehler, „Standard deviation“, zwischen den Einzelanalysen und den Durchschnittszahlen der Doppelanalysen 0,0069 mg beträgt. Da nun der Durchschnittswert sämtlicher Analysen, d. h. die arithmetische Durchschnittszahl sämtlicher Doppelanalysen

$$M = 0,106$$

beträgt, wird der prozentische Durchschnittsfehler

$$m\text{-Proz.} = \frac{m \cdot 100}{M} = 6,5.$$

Ich schließe diese Mitteilung mit einer detaillierten Beschreibung der Methode, so wie sie meinen hier mitgeteilten Erfahrungen gemäß auszuführen ist.

Die Technik von Bing und Heckschers Methode.

0,1 ccm Blut wird auf ein Stückchen Fließpapier ausgeblasen und schnell getrocknet (z. B. auf einem durchlöcherten Tisch über einem Wärmekörper). Hierzu kann man Fließpapier, welches nach der Beschreibung von *Bing* und *Heckscher* präpariert ist, oder das gewöhnliche, käufliche *Bangsche* Papier gebrauchen.

Sobald wie möglich nach beendetem Trocknen wird die Extraktion begonnen, indem das Papier zusammengefaltet oder entzwei geschnitten

wird, in ein Reagenzglas gesteckt und mit Äther (purissimum, wasserfrei, ohne „Blindwert“) übergossen wird. Das Glas wird mit einem eng schließenden Korken geschlossen (der Äther darf den Korken nicht berühren) und in einen Thermostaten bei 37° C während 20 bis 24 Stunden gestellt.

Dann wird der Äther in ein neues Glas übergossen, und das Papier wird mit Äther, welcher zu der ersten Portion gegossen wird, gespült. Ein etwa erbsengroßer, scharfeckiger Glassplitter (durch Kochen in Äther-Alkohol gereinigt) wird hinzugesetzt und der Äther dann auf einem Wasserbad abgedampft. Dies Abkochen des Äthers darf nicht explosiv geschehen; deshalb bedient man sich am besten ziemlich dünner Gläser und einer Temperatur des Wassers von etwa 40° C. Wenn der Äther scheinbar abgekocht ist, wird der letzte Ätherrest durch Erhitzung des Wassers bis 100° unter einem kräftigen, kurz-wierigen Durchblasen des Glases entfernt.

Darauf wird das Glas schnell in ein Wasserbad von 60 bis 70° C gestellt; man setzt nun 0,50 ccm Trioleinalkohol (0,020 mg Triolein im gebrauchten Volumen) hinzu, das Glas wird einen Augenblick geschüttelt und kräftig geschwenkt und dann zurück ins Wasserbad gesetzt.

Nach 5 bis 10 Minuten wird das Glas herausgenommen und in Wasser bis zur Zimmertemperatur (15 bis 20° C) abgekühlt, worauf 2,50 ccm 1proz. BaCl₂-Lösung (15 bis 20° C) zugesetzt wird. Das Glas wird nun einen Augenblick kräftig geschüttelt und dann bei Zimmertemperatur 15 Minuten hingestellt. (BaCl₂: puriss. pro anal.)

Nach Verlauf von 15 Minuten wird das Glas wieder geschüttelt, um die vielen kleinen Luftbläschen, welche sich an der Wandung des Glases festgesetzt haben, loszureißen und zu entfernen, und die nun gebildete Suspension wird in ein Zwergreagenzglas übergossen und nephelometrisch bestimmt. Falls die entstandene Suspension dichter als Standardglas Nr. 1 ist, wird sie mit einem beliebigen Multiplum von 3 ccm eines Reagenz, welches aus 1 Teil Alcoh. absolut. und 5 Teilen 1proz. BaCl₂-Lösung besteht, verdünnt; bei der Berechnung wird die gefundene Zahl mit den entsprechenden Brüchen multipliziert. Die nephelometrische Bestimmung muß innerhalb 30 Minuten nach Zusetzung der BaCl₂-Lösung beendet sein. Vom Resultat müssen die zugesetzte Trioleinmenge (0,02 mg), sowie ein etwaiger (möglichst kleiner!) Blindwert vom Fließpapier subtrahiert werden. Die Nephelometrie selbst wird, wie früher beschrieben, mit Heckschers Nephelometer und Beleuchtungs-Anordnung (5) unternommen. Die hier gebrauchte Standardskala, eine Reihe von Kaolin-Gelatinesuspensionen mit fallendem Trübungsgrad, nebst der zugehörigen Tabelle über das Verhältnis zwischen dem abgelesenen Trübungsgrad und dem Lipoid-

gehalt ist käuflich (bei Firma Struer, Skindergade, Köbenhavn K., Dänemark), kann aber auch ohne größere Schwierigkeiten von jedem nach folgender Beschreibung verfertigt werden.

Man verfertigt erst eine *vollständig klare* (obwohl meistens etwas gelblich) 15proz. Lösung von Gelatine (die Klärung geschieht wie beim Zubereiten von Substraten für Bakterienkulturen mittels Eiweiß); um etwaigen Bakterien- und Pilzwuchs zu vereiteln, setzt man etwas Phenol oder Chinosol hinzu. Diese klare Gelatinelösung nennen wir A.

Eine gewisse Portion von A wird in erwärmtem, fließendem Zustande mit einer abgewogenen Menge von ganz fein pulverisiertem Kaolin, im Verhältnis 0,5 g Kaolin : 1500 ccm A, gemischt. Diese Suspension, welche so lange geschüttelt werden muß, bis daß sie völlig homogen ist, wird B genannt (= Nr. 1 in der fertigen Standardreihe) A und B werden im erwärmten Zustande in einem Wasserbad von etwa 25° C gehalten, und man verfertigt folgende Reihe von Mischungen:

Tabelle XXXIV.

Standardreihe Nr.	ccm von B	ccm von A	Standardreihe Nr.	ccm von B	ccm von A
2	1,60	0,40	7	0,50	1,50
3	1,26	0,74	8	0,40	1,60
4	1,00	1,00	9	0,32	1,68
5	0,80	1,20	10	0,26	1,74
6	0,64	1,36	11	0,20	1,80

Diese Mischungen (welche jedoch besser und mit größerer Genauigkeit in etwas größeren Mengen wie die angegebenen zubereitet werden können) werden sorgfältig geschüttelt und in kleine, zum Nephelometer passende Zwergreagenzgläser (aus reinem, klarem Glas, ohne Streifen und Risse) gefüllt; letztere werden dann abgekühlt, zugekorkt, mit Lack versiegelt und mit der Nummer in der Standardreihe [1 (= B) bis 11] versehen.

Diese Standardreihe, welche nach der dünnen Seite so weit, wie man es eben erforderlich findet, fortgesetzt werden kann, nämlich durch Zubereitung von weiteren Mischungen, wie im obenstehenden Schema, wird zur Nephelometrie der Lipoide gebraucht, indem man fünf Werte schätzungsweise zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Standardnummern interpoliert. Den nephelometrischen Wert („n. W.“) der Standardnummern und der eingefügten Interpolationsnummern liest man in folgender Tabelle ab:

Tabelle XXXV.

Standard-Nr.	n. W°.	Standard-Nr.	n. W°.
1	1,00	6	0,32
1, —2	0,97	6, —7	0,31
1, —2	0,93	6, —7	0,30
1 —2	0,90	6 —7	0,29
1 —2,	0,87	6 —7,	0,27
1 —2,,	0,83	6 —7,,	0,26
2	0,80	7	0,25
2, —3	0,77	7, —8	0,24
2, —3	0,74	7, —8	0,23
2 —3	0,72	7 —8	0,23
2 —3,	0,69	7 —8,	0,22
2 —3,,	0,66	7 —8,,	0,21
3	0,63	8	0,20
3, —4	0,61	8, —9	0,19
3, —4	0,59	8, —9	0,19
3 —4	0,57	8 —9	0,18
3 —4,	0,54	8 —9,	0,17
3 —4,,	0,52	8 —9,,	0,17
4	0,50	9	0,16
4, —5	0,48	9, —10	0,16
4, —5	0,47	9, —10	0,15
4 —5	0,45	9 —10	0,15
4 —5,	0,43	9 —10,	0,14
4 —5,,	0,42	9 —10,,	0,14
5	0,40	10	0,13
5, —6	0,39	10, —11	0,13
5, —6	0,37	10, —11	0,12
5 —6	0,36	10 —11	0,12
5 —6,	0,35	10 —11,	0,11
5 —6,,	0,33	10 —11,,	0,11
6	0,32	11	0,10

Dann folgt die Zubereitung einer Reihe von Triolein-Cholesterinlösungen in absolutem Alkohol (15 bis 50 Proz. Triolein und folglich 85 bis 50 Proz. Cholesterin, das relative Mengenverhältnis nach Gutdünken innerhalb der angegebenen Grenzen variiert), von 0,05 bis 0,25 mg Lipoide (d. h. Triolein + Cholesterin) pro 0,50 ccm Alkohol enthaltend; hiervon verfertigt man alsdann durch Mischung von 0,50 ccm alkoholischer Lösung mit 2,50 ccm 1proz. BaCl₂-Lösung (dieselbe Technik wie oben bei den Blutanalysen beschrieben) eine Reihe von Suspensionen, die nephelometrisch im Verhältnis zur Standardreihe bestimmt werden. Die hierbei gefundenen Werte bilden graphisch eine geradlinige Kurve, wie oben beschrieben (Kurve 4), und auf diese Weise gewinnt man ohne Schwierigkeiten eine befriedigende empirische Grundlage für den Gebrauch der Tabelle (XXXV) bzw. zur Ausfüllung

derselben mit Angabe der jedem „n. W.“ entsprechenden Menge von Lipoiden. (Die Standardreihe wird natürlich stets in abgekühltem, geronnenem Zustande gebraucht; sie muß bei einer Temperatur unter dem Schmelzpunkt der Gelatine (22° C) aufbewahrt werden.)

Zusammenfassung.

Reine Cholesterinsuspensionen eignen sich nicht zur nephelometrischen Bestimmung nach *Bing* und *Heckschers* Prinzip.

Dagegen werden Triolein-Cholesterinmischungen mit mehr als 10 Proz. Triolein innerhalb der bei Blutanalysen gewöhnlichen Grenzen quantitativ erfaßt.

Es werden Untersuchungen über die Bedeutung der Temperatur und des Zeitpunkts der Ablesung für die Nephelometrie von Triolein-Cholesterinmischungen und vom primären Ätherextrakt des Blutes mitgeteilt. Temperaturschwankungen zwischen 10 und 20° C sind ohne Bedeutung. Der Trübungsgrad ist konstant im Zeitraum 15 bis 45 Minuten nach der Verfertigung der Suspensionen. Ferner Untersuchungen über die Entnahme des Blutes, Trocknung, Aufbewahrung und Extraktion der Blutproben.

Vergleichende Untersuchungen einer Reihe von Blutproben mit *Bangs* und *Bing* und *Heckschers* Methoden gaben übereinstimmende Ergebnisse.

Es wird eine detaillierte Beschreibung der Methodik bei *Bing* und *Heckschers* Methode mit gewissen geringfügigen Änderungen, durch obenstehende Untersuchungen veranlaßt, mitgeteilt.

Literatur.

- 1) *G. Blix*, Dissertation Lund 1925; Acta med. scand. **64**, 142, 1926. —
- 2) *Derselbe*, Scand. Arch. f. Physiol. **46**, 121, 1924. — 3) *Derselbe*, diese Zeitschr. **167**, 313, 1926. — 4) *H. I. Bing* und *H. Heckscher*, ebendasselbst **158**, 395, 1925. — 5) *H. Heckscher*, Dissertation Kopenhagen 1921; C. r. s. b. **85**, 378, 1921. — 6) *H. I. Bing* und *H. Heckscher*, diese Zeitschr. **149**, 83, 1924. — 7) *Dieselben*, ebendasselbst **149**, 90, 1924. — 8) *Dieselben*, ebendasselbst **158**, 403, 1925. — 9) *H. Heckscher*, ebendasselbst **158**, 417, 1925. — 10) *Derselbe*, ebendasselbst **158**, 422, 1925. — 11) *H. I. Bing*, *H. Heckscher*, *J. Jessen* und Acta path. et microbiol. scand. **2**, 234, 1925. — 12) *H. I. Bing* und *H. Heckscher*, diese Zeitschr. **162**, 32, 1925.

Autorenverzeichnis.

- Ahlbom, L.* s. *Erik Hägglund.*
Alders, Nikolaus. Kritisches und Experimentelles über die Bestimmung des Nucleinsäuregehalts von Organen. S. 400.
Ammon, R. s. *P. Rona.*
Andresen, Gertrud s. *C. Brahm.*
Berczeller, L. und *H. Wastl.* Ernährungslehre und Variationsstatistik. IV. Mitteilung: Vergleich der chemischen Eigenschaften einiger Weizensorten. S. 117.
— — Ernährungslehre und Variationsstatistik. V. Mitteilung: Vergleich der physikalischen Eigenschaften (Korngröße und Hektolitergewicht) einiger Weizensorten. S. 133.
— — Über den Mechanismus der Blutkörperchensenkung. S. 210.
— — Über Lebensdauer und einseitige Ernährung mit organischen Nahrungsstoffen. S. 216.
Bleyer, L. Über einige Wirkungen der Alkyl-Resorcincarbonsäuren und ihre Abhängigkeit von der Konstitution der Alkyl-Seitenkette. S. 350.
Bokor, R. Ein Beitrag zur Mikrobiologie des Waldbodens. S. 302.
Brahm, C. Versuche, die Sterilisierung von Grünfutter durch Zufuhr flüssiger Stoffe zu erreichen. I. Unter Mitarbeit von *Gertrud Andresen* und *Ruth Prillwitz.* S. 96.
Bronstein, K. s. *E. Burkser.*
Brügel, S. s. *F. Lasch.*
Brun, I. s. *E. Burkser.*
Burkser, E., I. Brun und *K. Bronstein.* Zur Frage der Bioradioaktivität der Pflanzen und der Existenz von Radiumelementen in denselben. S. 145.
Carlens, Olof und *A. Krestownikoff.* Über durch den Melkkakt hervorgerufene hypoglykämische Zustände. S. 176.
Danilow, V. A. s. *J. A. Smorodinzew.*
Enevoldsen, V. Über vielleicht durch Bakterienwachstum verursachte Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration natürlicher Wässer. S. 251.
Falkenhausen, M. Frhr. v. und *Hans J. Fuchs.* Über proteolytische Fermente im Serum. VI. Mitteilung: Über die Spezifität des proteolytischer Fermentes im Serum verschiedener Kaninchenrassen. S. 438.
Feulgen, R. und *K. Imhäuser.* Die quantitative Bestimmung des Plasmals im Serum. S. 30.
Feulgen, R. s. *W. Stepp.*
Fleischmann, W. und *Fritz Kubowitz.* Über den Stoffwechsel der Leucocyten. S. 395.
Freud, Johann s. *Fritz Silberstein.*
Fuchs, Hans J. s. *M. Frhr. v. Falkenhausen.*
Grünbaum, A. s. *I. Snapper.*
Hägglund, Erik und *L. Ahlbom.* Vergleichende Untersuchungen über die Vergärung von Glucose und Brenztraubensäure. S. 158.
Hägglund, Erik und *Truls Rosenqvist.* Zur Kenntnis der Kinetik der Carboxylasewirkung. S. 296.

- Heckscher, Hans.* Über die nephelometrische Bestimmung der Neutralfett-Cholesterinfraction im Blute nach *Bing* und *Heckschers* Methode. Über die Genauigkeit der Methode und die für ihren Gebrauch geltenden Bedingungen sowie eingehende Erklärung der technischen Einzelheiten. S. 444.
- Hora, Franz.* Über die Bedingungen der Gewebscytolyse. S. 230.
- Hürthle, Rudolf.* Schicksal von Glyceronsäure und Galakturonsäure im tierischen Organismus. S. 105.
- Imhäuser, K. s. R. Feulgen.*
- Iwanoff, Nicolai N. und M. I. Smirnowa.* Über Harnstoff bei Bakterien. II. S. 8.
- Iwanoff, Nicolai N. und A. Toschewikowa.* Über zwei Arten von Harnstoffbildung bei Champignons S. 1.
- Jacoby, Martin.* Über die Verstärkung der Enzymwirkung durch kleinste Mengen in ihrer Zusammensetzung bekannter Substanzen. S. 194.
- Jurišić, P. J.* Beobachtungen über die Aufnahme von Farbstoffen durch die roten Blutkörperchen. S. 17.
- Kessler, Siegfried s. Fritz Silberstein.*
- Klisiecki, A., W. Mozolowski und M. Taubenhaus.* Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VII. Mitteilung: Über die Ammoniakbildung im physiologisch stagnierendem Blute. S. 80.
- Krestownikoff, A. s. Olof Carlens.*
- Kubowitz, Fritz s. W. Fleischmann.*
- Kuroda, T.* Über die Giftigkeit einiger Lokalanaesthetica bei intraarterieller Applikation. S. 172.
- Lasch, F. und S. Brügel.* Über die Schutzwirkung des Saponins bei Insulin gegen Fermente. S. 109.
- Laufberger, Vilém.* Über das Verhalten des Alanins und der Brenztraubensäure in überlebender diabetischer Leber. S. 220.
- Laufberger, Vilém.* Über die Cytolyse der Gewebszellen. S. 225.
- Lorber, Leo.* Das quantitative Verhältnis des Acetons und der Acetessigsäure im Harn auf Grund der zu ihrem Nachweis gebrauchten qualitativen Proben. S. 375.
- Einfache mikro-kolorimetrische Eisenbestimmungsmethode. S. 391.
- Untersuchungen über die tautomeren Enol- und Ketoformen der Acetessigsäure. S. 383.
- Zwei einfache Methoden zur quantitativen Bestimmung der Acetessigsäure. S. 366.
- Meyer, R.* Die Abhängigkeit der Wachstumsgröße von der Quantität der Ernährungsfaktoren bei Pilzen. (Vorläufige Mitteilung.) S. 207.
- Mozolowski, W. und M. Taubenhaus.* Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VIII. Mitteilung: Hängt die Ammoniakbildung im Blute mit der Anwesenheit von Cyanaten zusammen? S. 85.
- Mozolowski, W. s. A. Klisiecki.*
- Pietsch, Albert.* Die Wirkung des Kartoffelknollensaftes auf die biologische Reduktion von o-Dinitrobenzol. S. 183.
- Prillwitz, Ruth s. C. Brahm.*
- Révész, Tibor s. Fritz Silberstein.*
- Rona, P. und R. Ammon.* Zur stereochemischen Spezifität der Lipasen und Beiträge zur Giftwirkung an den fettspaltenden Fermenten. S. 49.
- Rosenqvist, Truls s. Erik Hägglund.*
- Rupp, E. und H. Schlee.* Berichtigung. S. 250.
- Schlee, H. s. E. Rupp.*
- Schloss, Wilhelm.* Bestehen Beziehungen zwischen Isoagglutination und Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit? S. 345.
- Schulz, Hugo.* Über „Reizwirkungen“ an Einzelzellen. S. 192.

- Silberstein, Fritz, Johann Freud und Tibor Révész.* Über den Ersatz von Zucker durch andere chemisch definierte Körper bei der Bekämpfung und Hintanhaltung des durch Insulin hervorgerufenen hypoglykämischen Komplexes. S. 327.
- — — Zur Biochemie des Carcinoms. II. S. 305.
- — — Zur Biochemie des Carcinoms. III. S. 316.
- Silberstein, Fritz und Siegfried Kessler.* Über die Beeinflussung der Insulinwirkung durch Organextrakte, Ergotamin und Histamin. S. 333.
- Smirnowa, M. I. s. Nicolai N. Iwanoff.*
- Smorodinzew, J. A. und V. A. Danilow.* Der Einfluß verschiedener Präparate der Chiningruppe auf die fermentativen Funktionen des Organismus. VI. Mitteilung: Abhängigkeit der Chinin- und Harnstoffwirkung auf die Pankreaslipase von der Wasserstoffzahl des Mediums. S. 149.
- Snapper, I. und A. Grünbaum.* Über den Abbau der β -Oxybuttersäure in der Leber. S. 410.
- Snapper, I. und A. Grünbaum.* Über den Abbau der Diacetsäure bei der Leberdurchströmung: S. 418.
- Ssadikow, W. S.* Über ein neues kollagen-lösendes Ferment (Kollagenase. S. 267.
- Stepp, W., R. Feulgen und K. Voit.* Über das Vorkommen des Plasmalogens. I. Mitteilung: Über das Vorkommen des Plasmalogens in Körperflüssigkeiten. S. 284.
- Szent-Györgyi, A. v. Zellatmung.* V. Mitteilung: Über den Oxydationsmechanismus einiger Pflanzen. S. 425.
- *Zellatmung.* VI. Mitteilung: Zur Funktion der Nebennierenrinde und über die Substanz C_{XII}. S. 433.
- Taubenhaus, M. s. A. Klisiecki.*
- Taubenhaus, M. s. W. Mozołowski.*
- Toni, G. De.* Das Lithiumcitrat als allgemeines koagulationshemmendes Mittel in der minimetrischen Blutuntersuchung. Zugleich ein Beitrag zur Systematisierung der Blutmikroanalyse. S. 289.
- Toschewikowa, A. s. Nicolai N. Iwanoff.*
- Voit, K. s. W. Stepp.*
- Wastl, H. s. L. Berczeller.*

um. Über
tsäure be
g: S. 41
ein neu
ent (Koll-

l K. Vol
es Plasm
Über die
alogen
284.
ellatmu
den Oxy
iger Pfla

ilung: Z
ierenrin
XII. S. 43
siewcki.

tozowski
nitrat als
shemmer
metrische
gleich ein
tatisierung
S. 280.
icola N.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL SCHOOL LIBRARY

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

Books not returned on time are subject to a fine of 50c per volume after the third day overdue, increasing to \$1.00 per volume after the sixth day. Books not in demand may be renewed if application is made before expiration of loan period.

~~JK-5~~ JK-5 1956

7 DAY

FEB 16 1971

RETURNED

FEB 10 1971

3m-8, '38 (3929s)

STACKS

v.180-181
1927

Biochemische zeit-
schrift.

46242

Atlee

67-6377 JAN 9 1931

46242

Digitized by Google

SCHOOL LIBRARY

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL SCHOOL LIBRARY

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

Books not returned on time are subject to a fine of 50c per volume after the third day overdue, increasing to \$1.00 per volume after the sixth day. Books not in demand may be renewed if application is made before expiration of loan period.

~~RECEIVED~~
FEB 3 1956

7 DAY

FEB 16 1971

RETURNED

FEB 10 1971

3m-8,138(3929s)

STACKS

v.180-181
1927

Biochemische zeit-
schrift.

46242

W. Hee

67-68

JAN 9 1951

46242

Digitized by Google

SCHOOL LIBRARY

