

UC-NRLF



φB 650 581



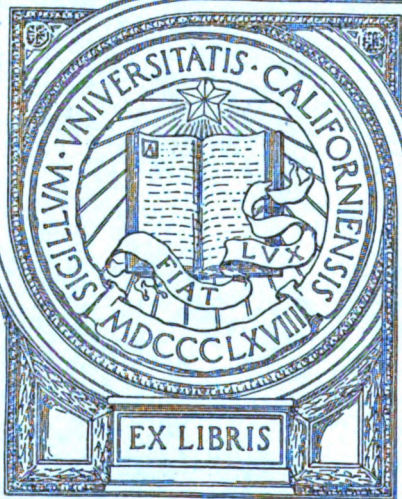
**PAGE NOT
AVAILABLE**

UC-NRLF



QB 650 581

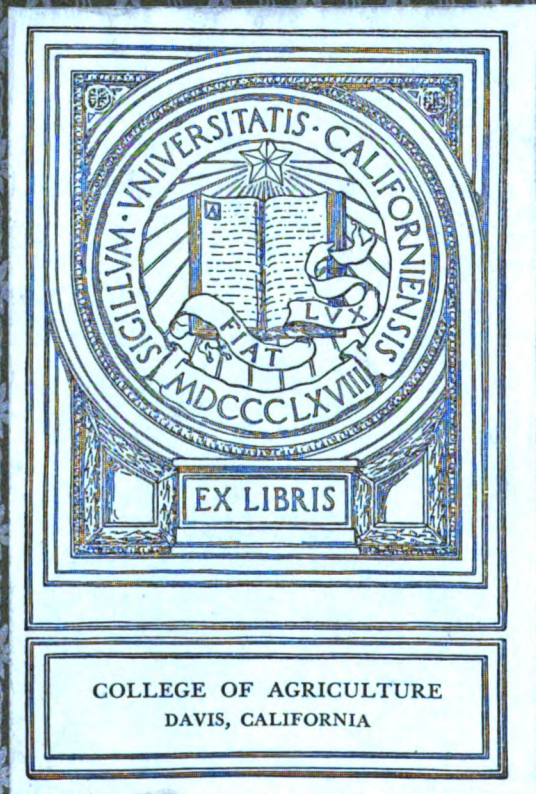




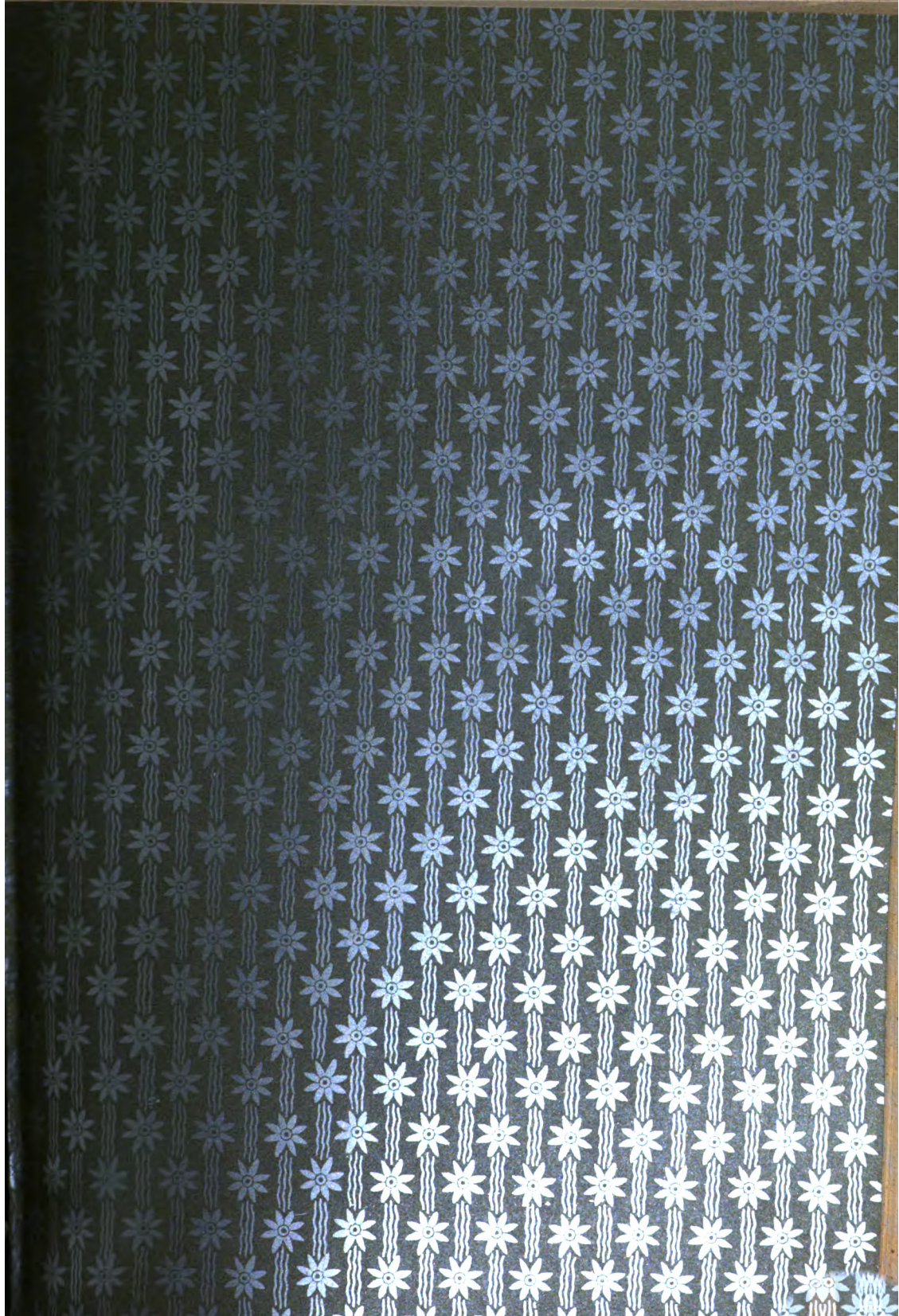
EX LIBRIS

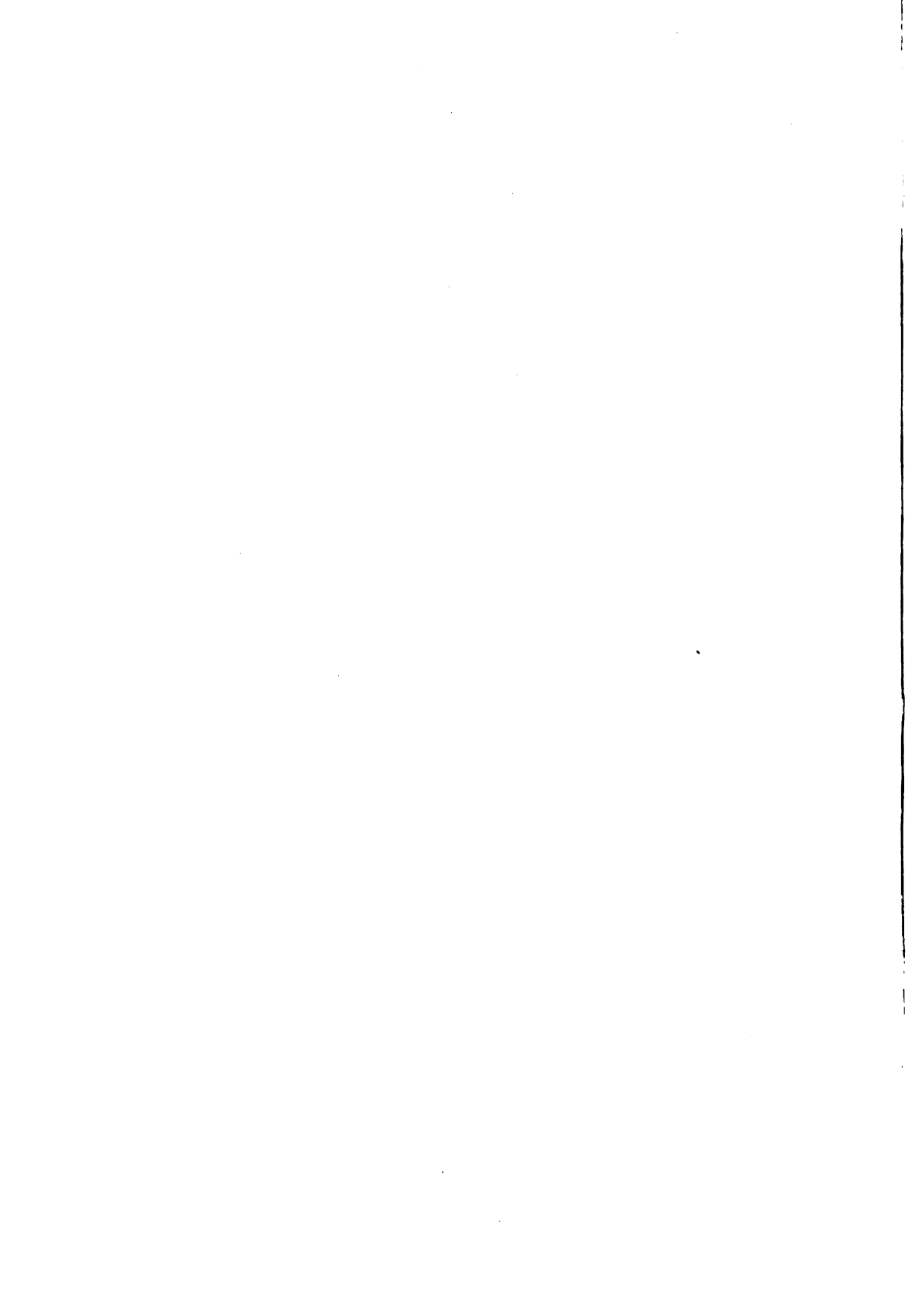
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA





COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA





Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

**E. Buchner-Breslau, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-
Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin,
N. Zuntz-Berlin**

unter Mitwirkung von

**L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Biekel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin,
Chr. Behr-Kopenhagen, A. Benanni-Rom, F. Bettazzi-Neapel, G. Bredig-Heidelberg, A.
Dartig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Fixner-New York, S.
Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-
Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Heurt-Paris.
W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Keber-Bostock, M.
Kumagawa-Tokio, F. Landell-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York.
L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-Berkeley, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Mag-
nus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad.
L. Michaels-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Pal-
ladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Königsberg, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-
Prag, Ch. Percher-Lyon, F. Reichmann-Breslau, P. Rosa-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg,
N. Steber-St. Petersburg, M. Stegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-
Kopenhagen, K. Spire-Straßburg, E. H. Starling-London, F. Tangl-Budapest, H. v. Tap-
seiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Van der Veldt-Gent.
A. Wohl-Danzig, J. Wohlgenuth-Berlin.**

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Einundzwanzigster Band.

Mit 1 Tafel.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1909.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Hildebrandt, Hermann. Oxydation des Borneolglykosides auf biochemischem Wege	1
Adler, Oskar. Über Alkaptonurie	5
Sittig, Otto. Über Kohlenhydrate in pathologischen Körperflüssigkeiten mit Berücksichtigung der Frage des Reststickstoffs . . .	14
Ssadikow, W. S. Über die Oxalsäurebildung aus den Kollainen . .	35
Isar, Guido. Über die Wirkung des Arsens auf die Autolyse . . .	46
Hausmann, Walther und L. von Perthelm. Die photodynamische Wirkung der Auszüge etiologischer Pflanzenteile	51
Ehler, M. v. und L. v. Perthelm. Über die Beeinflussung der Giftwirkung des Chinins auf <i>Elodea canadensis</i> durch Salze	59
Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XIII.	76
Bielecki, Jan. Zur Kenntnis des Einflusses der Salze auf die Dialyse der Peroxydase. I.	103
Landolf, F. Über Vorkommen verschiedener Harnzucker und die Beteiligung bestimmter Organe an deren Auftreten	108
Hanna, E. und A. Jodlbauer. Versuche über den Einfluß der Temperatur bei der photodynamischen Wirkung und der einfachen Lichtwirkung auf Invertase	110
Rona, Peter und Leonor Michaelis. Über den Zustand des Calciums in der Milch. I.	114
Velden, R. von dem. Weitere Beiträge zur Jodverteilung	123
Sörensen, S. P. L. Enzymstudien. II.	131
Morgenroth, J. und P. Schäfer. Zur Kenntnis der hämolytischen Organextrakte	305
Fränkel, Sigmund. Über Lipide. VII.	321
Fränkel, Sigmund. Über Lipide. VIII.	337
Glikin, W. Zur biologischen Bedeutung des Lecithins. III.	348
Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XIV.	355
Wohlgemuth, J. Untersuchungen über die Diastasen. III.	381
Ehrmann, R. und J. Wohlgemuth. Untersuchungen über die Diastasen. IV.	423
Wohlgemuth, J. Untersuchungen über die Diastasen. V.	432

Wehlgemuth, J. Untersuchungen über die Diastasen. VI	447
Wehlgemuth, J. und J. Benzer. Untersuchungen über die Diastasen. VII	460
Leowenthal, S. und J. Wehlgemuth. Untersuchungen über die Diastasen. VIII	476
Ohler, G. Zur Frage des Vorkommens von Glykokoll im normalen menschlichen Harn	484
Battelli, F. und L. Stern. Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben	487
Muk, R. Über die Hitzebeständigkeit der Blutkörperchenreceptoren.	510
Blech, Ernst. Über die Unabhängigkeit der autolytischen Eiweißspaltung von der Anwesenheit des Blutes	519
Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. IV.	523
Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. V.	548
Preli, Luigi. Wirkung von Bleihydrosol und Bleiacetat auf den Stoffwechsel	551
Berichtigung	562

An die Herren Mitarbeiter der „Biochemischen Zeitschrift“.

Um die Zahl der jährlich erscheinenden Bände der „Biochemischen Zeitschrift“ nicht zu vergrößern, werden — bei der Fülle der einlaufenden Manuskripte — die Herren Autoren um freundliche Beachtung der folgenden Punkte gebeten:

1. Den Mitteilungen ist die knappste Fassung zu geben.
2. In der Überschrift und im Texte der Beiträge sind alle Titel entbehrlich, ebenso bei der Angabe von Instituten und Laboratorien die Nennungen der betr. Leiter.
3. Statt besonderer längerer Danksagungen am Schlusse oder Anfange der Abhandlungen kann nötigenfalls in den laufenden Text eine kurze Angabe aufgenommen werden, auf wessen Veranlassung oder mit wessen Unterstützung die Untersuchung ausgeführt ist.
4. Das Hauptgewicht ist auf das Tatsachenmaterial zu legen; theoretische Erörterungen und Anführung der Literatur sind auf das zum Verständnis notwendige Maß zu beschränken.
5. Von der Wiedergabe von Krankengeschichten und klinischen Daten ist möglichst abzusehen; Tierversuche sind so kurz als tunlich zu beschreiben.
6. Durch ausgiebige Anwendung von Kleinsatz (Petit-Druck) für alles weniger Wichtige kann Raum gespart, die Übersichtlichkeit erhöht und das Hauptergebnis hervorgehoben werden.
7. Für die Wiedergabe der Analysen ist die kurze Form zu wählen, die in den Ber. d. Deutsch. chem. Ges. üblich ist, z. B.:
0,1149 g Sbst. : 0,2249 g CO₂, 0,0515 g H₂O. — 0,1995 g Sbst. : 21,8 ccm N (21°, 757^{mm}). — 0,1491 g Sbst. : 0,0957 g Ag Cl.
C₁₀H₁₁O₂N₃Cl. Ber. C=52,95; H=4,90; N=12,39; Cl=15,64.
Gef. C=53,18; H=4,92; N=12,45; Cl=15,87.
Wo die besonderen biochemischen Methoden eine solche Fassung nicht ermöglichen, ist ein entsprechendes prägnantes Schema zu suchen.
8. Bereits im Manuskript, dann bei der Fahnenkorrektur sind durch farbige Markierung mit fortlaufenden Nummern die Stellen kenntlich zu machen, wo etwaige Zeichnungen oder Tabellen einzurücken sind.
9. Bei den Literaturzitataten ist an den betr. Seitenfüßen, nicht am Ende der Arbeit, eine Angabe in der Reihenfolge Bandzahl, Seite, Jahrgang, z. B. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 351, 1906, erwünscht.
10. Abkürzungen und Rechtschreibung sollen sich an die der Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft anschließen.
11. Die sachgemäße Übersetzung fremdsprachlicher Manuskripte (englisch, französisch) wird von der Redaktion gegen Aufrechnung des Bogenhonorars (M. 40 für 16 Seiten) veranlaßt.
In deutscher Sprache abgefaßte Mitteilungen ausländischer Autoren werden hinsichtlich des sprachlich korrekten Ausdrucks geprüft und nach Bedarf verbessert; stellt sich die Notwendigkeit einer weitgehenden Umarbeitung heraus, so läßt die Redaktion diese gegen eine mäßige Gebühr ausführen.
Die Übersetzungen bzw. Umarbeitungen werden den Herren Autoren in Form der Korrekturbogen zur Genehmigung vorgelegt.
12. Die Autoren erhalten Fahnenkorrektur und nach Bedarf Revisionsbogen; Superrevisionen können nur ausnahmsweise verabfolgt werden und verursachen eine Zurückstellung der Mitteilung.
Auf Wunsch der in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Herren Mitarbeiter wird die Korrektur ihrer Arbeiten hier gelesen, wodurch ein beschleunigtes Erscheinen ermöglicht wird.

Oxydation des Borneolglykosides auf biochemischem Wege.

Von

Herm. Hildebrandt.

(Aus dem Pharmakologischen Institut zu Halle a. S.)

(Eingegangen am 27. Juli 1909.)

In der Literatur liegen bereits mehrere Beobachtungen vor, die auf eine glykosidische Struktur der gepaarten Glykuronsäuren hinweisen, soweit diese erst durch Einwirkung von Mineralsäuren in der Hitze spaltbar sind. Die Synthese gepaarter Glukuronsäuren¹⁾, ihre Spaltbarkeit durch Fermente²⁾, welche auch Glykoside spalten, ihre leichtere Bildung³⁾ im Organismus, wenn in diesem gleichzeitig ein Anti-Emulsin vorhanden ist, die Tatsache ferner, daß der Kaltblüter solche gepaarte Glykuronsäuren spaltet⁴⁾, zu deren Bildung er nicht befähigt ist, erscheinen von genügender Beweiskraft. Schwieriger war die Bedingung zu erfüllen, mit Sicherheit ein außerhalb des Organismus erzeugtes Glykosid mittels der Passage durch den Tierkörper in die entsprechende Glykuronsäure überzuführen, da die im Darmkanale vor sich gehenden Spaltungen eine primäre Zerlegung bedingen können, so daß erst wieder aus dem Spaltungsprodukte von neuem der Aufbau zur gepaarten Verbindung stattfindet. Bei subkutaner Injektion

¹⁾ C. Neuberg und Neimann, Centralbl. f. med. Wiss. 1902, Nr. 32 und Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 114 ff., 1905.

²⁾ Neuberg und Wohlgemuth, ebenda und H. Hildebrandt; Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 7, 434, 1905.

³⁾ H. Hildebrandt, Virchows Archiv 184, 325 ff., 1906.

⁴⁾ H. Hildebrandt, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 303, 1900.

der Glykoside Syringin und Coniferin¹⁾ konnte im Harn der Kaninchen Syringaglykuronsäure bzw. Vanillinglykuronsäure nachgewiesen werden, welche letztere auch als Stoffwechselprodukt des Vanillins²⁾ auftritt.

Durch die Untersuchung von E. Fischer und K. Raske³⁾ sind nun unlängst die Glykoside des Menthols und des Borneols bekannt geworden, die besondere Beachtung verdienen, weil sie die ersten künstlichen Glykoside der Terpengruppe sind, welche nach den vorliegenden Untersuchungen in besonderem Maße die Eigenschaft hat, im Tierkörper sich mit Glykuronsäure zu paaren.

Durch die Liebenswürdigkeit der Entdecker standen mir 0,5 g des Borneol-Glykosides zur Verfügung; ich wählte diese Verbindung, weil sie in Wasser nicht so schwer löslich ist als Menthol-Glykosid und weil die Darstellung der Borneolglykuronsäure⁴⁾ keine besonderen Schwierigkeiten bietet.

Einem großen Kaninchen (3 kg) wurden 0,4 g Borneolglykosid auf zwei Male verteilt in je 30 ccm Wasser gelöst, körperwarm subcutan, jedesmal an verschiedenen Stellen unter die Rückenhaut injiziert. Der nach 48 Stunden gelassene Harn wurde dem Bleiverfahren unterworfen, der reichliche mit basischem Bleiacetat erzeugte und gut ausgewaschene Niederschlag mit Schwefelsäure zerlegt und die Lösung sowie auch das Waschwasser von schwefelsaurem Blei mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Essigäther wurde unter Zusatz von Bariumcarbonat abdestilliert, der Rückstand mit warmem Wasser ausgezogen, das Filtrat mit Kaliumsulfat zur Überführung ins Kaliumsalz der gepaarten Verbindung behandelt. Die auf ein kleines Volumen eingeeengte Flüssigkeit wurde mit einer konzentrierten Lösung von schwefelsaurem Zink versetzt, worauf sich das Zinksalz der gepaarten Verbindung ausschied. Die

¹⁾ H. Hildebrandt, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 438 ff., 1905;

²⁾ V. Kotake, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 320, 1905.

³⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1465, 1909.

⁴⁾ P. Pellacani, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 17, 376, 1883. — A. Bonanni, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 304, 1901. — E. Fromm und P. Clemens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 385 ff., 1902.

Menge betrug getrocknet 0,36 g; beim Übergießen des Zinksalzes mit der berechneten Menge 10% Schwefelsäure schied sich zunächst die gepaarte freie Säure nicht aus; doch erfolgte die Ausscheidung sofort, als ich mit einigen Krystallen reiner Borneoglykuronsäure impfte, die ich durch Verfütterung von Borneol an Kaninchen erhalten hatte. Aus heißem Wasser umkrystallisiert, zeigte die Säure den der Borneoglykuronsäure zukommenden Sp. 174°. Die nach subcutaner Einverleibung des Borneoglykosides erhaltene Menge der gepaarten Verbindung ist nur ein Bruchteil der injizierten Menge von Borneoglykosid; ich habe aber in einem besonderen Versuche mich überzeugt, daß man auch nach Injektion von 0,4 g Borneoglykuronsäure nur einen Bruchteil aus dem Harn wieder gewinnen kann. Zweifellos treten bei den Operationen zur Gewinnung der gepaarten Verbindung Verluste an Material ein und ferner ist wohl anzunehmen, daß in beiden Fällen der Organismus noch in anderer Weise die in so kleinen Mengen eingeführten Substanzen teilweise verändern kann.

0,05 g Borneoglykosid habe ich einem Frosche (50 g) subcutan (in 3 ccm Wasser gelöst) injiziert; eine Wirkung trat nicht ein, wohl aber nach einigen Stunden starker Geruch nach Borneol unter der Glasglocke; der gelassene Harn reduzierte weder direkt noch nach dem Kochen mit Mineralsäure. Der abgespaltene Zucker ist also im Organismus zurückbehalten oder zersetzt worden; es ist eine allmähliche Spaltung des Glykosides beim Frosche anzunehmen, da die der injizierten Menge von Glykosid entsprechende Menge Borneol (Mol.-G. 316:154), nämlich 0,025 g beim Frosche subcutan injiziert, bereits einen deutlichen Betäubungszustand erzeugte. In diesem Falle war im Harn keine Borneoglykuronsäure nachweisbar, auch wenn die Menge des Borneol gesteigert wurde. Nach Injektion von 0,05 g Borneoglykuronsäure trat beim Frosch ebenfalls keine Wirkung ein, auch hier trat Geruch nach Borneol auf; im Harn fand sich weder freie noch gepaarte Glykuronsäure. Eine Glykuronsäure-Injektion von 0,1 g Borneoglykuronsäure bewirkte beim Frosche Betäubungserscheinungen, da jetzt genügend freies Borneol abgespalten wurde.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß das Verhalten des Borneoglykosides und der Borneoglykuronsäure

4 H. Hildebrandt: Oxydation d. Borneoglykosides auf biochem. Wege.

beim Frosche das vollständig gleiche ist; zur Synthese der Borneolglykuronsäure ist er ebenso wenig befähigt wie zur Oxydation der Alkoholgruppe des Glykosides. Es erinnert dies an das Verhalten gegenüber den hydrierten Phenanthrenen¹⁾, bei denen der Warmblüter, nicht aber der Kaltblüter imstande ist, die Oxydation auszuführen.

¹⁾ H. Hildebrandt, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 144. 1908.

Über Alkaptonurie.

Von

Oskar Adler.

(Aus der ersten medizinischen Klinik der deutsch. Universität, Prag.
Vorstand: Hofrat Prof. Příbram).

(Eingegangen am 19. Juli 1909.)

Am 3. Februar d. J. kam der 28jährige Beamte Franz J. in die Ambulanz unserer Klinik mit der Angabe, daß er sich seit 3 Jahren krank fühle. Während dieser Zeit soll er beträchtlich an Gewicht abgenommen und häufig an Kopfschmerzen und Schwächegefühl gelitten haben. Die eingehende klinische Untersuchung ergab keinen wesentlichen abnormen Befund. Bei der Harnuntersuchung fiel mir auf, daß sich der mit Natronlauge versetzte Harn auf Zusatz von Kupfersulfat in der Kälte sogleich schwarz verfärbte; beim Erwärmen trat Reduktion ein. Beim Kochen mit Nylanderscher Flüssigkeit trat wohl allmählich Dunkelfärbung auf, es kam aber zu keiner eigentlichen Reduktion des Wismutsalzes. Der Harn selbst war klar und goldgelb; Eiweiß war nicht vorhanden. Das eingangs erwähnte Verhalten des Harnes veranlaßte zu weiteren Proben. Einige Kubikzentimeter Harn wurden mit Natronlauge versetzt; hierbei trat allmähliche Dunkelfärbung ein, rascher beim Schütteln, wobei das Probierröhrchen infolge der Absorption des Sauerstoffes an dem verschließenden Finger haften blieb. Auf Zusatz von Eisenchlorid trat eine vorübergehende Blaugrünfärbung ein. Der Harn zeigte eine schwache Linksdrehung (0,1 bis 0,2% der Traubenzuckerskala). Sonst enthielt er keine abnormen Bestandteile.

Durch dieses Verhalten des Harnes war die Diagnose Alkaptonurie in hohem Maße wahrscheinlich. Der Patient

wurde für kurze Zeit auf die Klinik aufgenommen; daselbst besserte sich unter entsprechender Behandlung sein Befinden bald, die zeitweilig heftigen Stirnkopfschmerzen schwanden, und es erfolgte eine erhebliche Gewichtszunahme.

Isolierung der Homogentisinsäure. Die Reindarstellung nach den älteren Angaben von Huppert u. a. (Eindampfen des Harnes am Wasserbade bei saurer Reaktion usw.) lieferte nur eine geringe Ausbeute an ätherlöslicher Substanz (nach der Reinigung mit Tierkohle aus verdünnter wässriger Lösung ca. 10 g einer noch braun gefärbten krystallinischen Masse aus 20 l Harn). Dagegen erhielt ich auf folgende Weise ein reines Produkt in guter Ausbeute: Der Harn, der in mit verdünnter Schwefelsäure beschickten Sammelgefäßen aufgefangen wurde, wurde im Vakuum bei einem Drucke von 11 mm abgedampft. Durch die zur Vermeidung des Stoßens eingeführte Capillare wird während der ganzen Destillation von einem Wasserstoffapparate reiner Wasserstoff Blase für Blase eingeleitet. Durch ein Zuleitungsrohr wird der Harn kontinuierlich nachgesaugt; durch feine Einstellung mit einer Bunsenklemme läßt sich Konstanz des Niveaus leicht erreichen. Auf diese Weise wurde der Harn unter völligem Ausschluß von atmosphärischer Luft eingedampft (7 l auf 0,5 l). Nun wird in Portionen auf der Maschine mit reinstem (rückstandfreiem) Äther, im ganzen mit 5 l, durch mehrere Stunden geschüttelt. Die leicht gelbliche, ätherische Lösung wird zur Entfernung ev. vorhandener Spuren von Wasser mit zerkleinertem Filtrierpapier geschüttelt und hernach durch ein Faltenfilter filtriert. Der Äther wird hierauf bei normaler Temperatur im Vakuum völlig entfernt. Nach einigem Stehen erstarrt der braune Sirup bei kräftigem Anreiben zu einer krystallinischen Masse. Auf diese Weise gelang es, aus 7 l Harn 21 g Rohhomogentisinsäure zu isolieren. Zur Reinigung wird die Substanz in Wasser aufgenommen, mit reinsten Tierkohle (Merck) in der Wärme entfärbt und das Filtrat am Wasserbade zur Sirupkonsistenz eingedampft. Nach einiger Zeit trat beim Anreiben Krystallisation ein. Nach beendeter Krystallisation wurde am Tonteller gründlichst abgepreßt, wobei die Substanz schließlich rein weiß und trocken wird. Die weitere Trocknung erfolgte im Vakuum-essiccator über Schwefelsäure.

Die Reinigung mit Tierkohle bedingt Verluste, da Tierkohle, wie ich beobachtet habe, Hydrochinonessigsäure zurückhält; aus sehr verdünnten Lösungen annähernd quantitativ.

Die wasserfreie isolierte Substanz bildet ein krystallinisches weißes Pulver, das alle Reaktionen der Hydrochinonessigsäure gab. $F = 147^{\circ}$. Durch Auskochen mit Chloroform gelang es, den Schmelzpunkt noch höher (152 bis 154°) zu treiben.

Einen weit höheren Schmelzpunkt der aus Harn isolierten Säure fand Paul Stange¹⁾ (157 bis 159°), während die meisten Autoren den Schmelzpunkt bei 147° fanden.

Das Bleisalz der Säure (gewonnen durch Versetzen der warmen Lösung mit neutralem Bleiacetat) bildete zentimeterlange, zumeist in Drusen angeordnete Prismen, nach dem Trocknen im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure von lebhaftem Seidenglanz. Es sintert bei 211° und schmilzt scharf bei 214° .

Die geschmolzene Substanz erstarrt beim Abkühlen zu einer gelblichen Masse, die bei abermaligem Erhitzen bis 250° nicht schmilzt.

Huppert²⁾ bemerkt bezüglich des Nachweises der Homogentisinsäure: „Die Bestimmung des Schmelzpunktes ihres Bleisalzes ist, so einfach sie erscheint, doch darum schwierig, weil sich das Salz vor dem Schmelzen vollständig schwärzt und die Verflüssigung desselben dann schwer zu erkennen ist.“ — Nach meinen Beobachtungen sintert das Bleisalz ohne Schwärzung und zeigt einen scharfen Schmelzpunkt.

Während sich die freie Homogentisinsäure in Wasser bis zur Sirupkonsistenz löst, ist das Anhydrid in Wasser unlöslich. Ich erhielt das Anhydrid in großen, glashellen Krystallen in folgender Weise: In ein Wägegläschen der gewöhnlichen Form werden einige Zentigramme Homogentisinsäure gebracht und das Wägegläschen verschlossen in den Wärmeschrank von ca. 95° gebracht. Nach 6 bis 8 Stunden findet man ein schön krystallisiertes Sublimat des Anhydrides am Deckel des Wägegläschens.

Reine Lösungen der freien Homogentisinsäure fand ich im Gegensatz zu einigen früheren Angaben auch bei längerem Stehen unverändert haltbar. Bei vorsichtigem Alkalizusatz tritt stets zuerst Grünfärbung, sodann Dunkel- bis Schwarzfärbung

¹⁾ Paul Stange, Virchows Archiv 146, 86, 1896.

²⁾ Huppert, Analyse des Harns, 10. Aufl., 1898, S. 249.

ein. Dagegen bleibt, wie ich beobachtet habe, die durch Zusatz von Natriumacetat alkalisch reagierende Lösung von Homogentisinsäure farblos.

Bemerkungen über die „Uroleucinsäure“. Bei einer in der obenerwähnten Weise vorgenommenen Darstellung aus demselben Harn zeigte ein Präparat, das in konzentrierterer Lösung mit Tierkohle entfärbt und nicht völlig farblos war, den Schmelzpunkt 130° . Dies schien mir deshalb von Interesse, weil dieser Schmelzpunkt mit dem von Kirk¹⁾ für die „Uroleucinsäure“ angegebenen identisch war. Es konnte aber schon deshalb „Uroleucinsäure“ nicht vorliegen, weil das Präparat in der gleichen Weise aus demselben Harn dargestellt war wie die reine Homogentisinsäure. Mit Absicht hatte ich auf die übliche Reindarstellung der Homogentisinsäure über das Bleisalz verzichtet, um eine Fraktionierung zu vermeiden und sämtliche ätherlöslichen Säuren vereint zu gewinnen. Es war aber kein Anhaltspunkt für die Gegenwart von „Uroleucinsäure“ zu finden. Das bei 130° schmelzende Präparat wurde nun mit Chloroform ausgekocht, worin die Kirksche „Uroleucinsäure“ ganz unlöslich sein soll; es bildete sodann nach dem Trocknen ein schneeweißes Krystallpulver, das bei 147° zu schmelzen begann und bei 152° unter Meniscusbildung völlig verflüssigt war. Der Chloroformrückstand nach dem Kochen bestand aus einer geringen, kaum wägbaren Schmiere. Damit war die Abwesenheit von „Uroleucinsäure“ bewiesen, zugleich aber gezeigt worden, daß bei ungenügender Reinigung leicht Präparate vom Schmelzpunkte der „Uroleucinsäure“ erhalten werden können.

Übrigens ergibt die Durchsicht der darauf bezüglichen Literatur, daß ein sicherer Beweis für die Existenz der „Uroleucinsäure“ im Alkaptonharn nicht erbracht ist.

Das Kirksche Präparat erwies sich bei der Nachuntersuchung als verunreinigte Homogentisinsäure; die Huppertsche Formel²⁾ kann kaum angenommen werden, weil die fragliche Säure nach dieser Formel optisch aktiv sein müßte, was nicht der Fall war; auch geht aus der schönen Arbeit von Otto Neubauer und Flatow hervor, daß die synthetisch dargestellte Säure andere Eigenschaften hatte.

¹⁾ Kirk, Brit. med. Journ. 2, 1149, 1889.

²⁾ Huppert, Zeitschr. f. physiol. Chem. 23.

Mit Rücksicht auf diese Tatsachen erschiene es mir angezeigt, die „Uroleucinsäure“ als einen im Alkaptonharn vorkommenden Stoff überhaupt zu streichen, solange nicht sichere Beweise für ihre Existenz (durch Reindarstellung aus Alkaptonharn, Analyse, Konstanz des Schmelzpunktes) erbracht sind. —

Der kurze Aufenthalt des Alkaptonmannes auf unserer Klinik wurde zu einem Stoffwechselversuche benützt, und zwar sollte der Einfluß des Jodnatriums und des Bromnatriums auf die Ausscheidung der Homogentisinsäure bestimmt werden.

Nach 2 Normaltagen bekam der Patient an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 5 g Jodnatrium in Lösung und nach weiteren 3 Nächtagen 5 g Brom. Zugleich wurden die Schwankungen in der Ausscheidung des Gesamtstickstoffes und der Harnsäure an den Versuchstagen ermittelt.

Die nachfolgende Tabelle gibt diese Verhältnisse wieder:

Tag	Tagesmenge	Gesamt-N	Harnsäure	Homogentisinsäure	Homogentisinsäure: Ges.-N	Bemerkungen
Febr.						
21.	1690	23,5348	0,6459	9,07	38:100	1. Vortag
22.	1730	18,6142	0,5740	9,08	48:100	2. „
23.	2025	17,1356	0,5813	7,72	45:100	1. Jodtag (5 g NaJ)
24.	1375	20,1113	0,4793	9,58	47:100	2. „ (5 g NaJ)
25.	1600	19,7260	0,5863	6,23	36:100	3. „ (5 g NaJ)
26.	—	—	—	—	—	Harn ging verloren
27.	2070	23,6065	0,7389	12,13	51:100	2. Nachtag
28.	1915	17,8145	0,4423	10,98	61:100	3. „
März						
1.	2340	24,3564	0,6486	12,08	49:100	Bromtag (5 g NaBr)

Aus der vorliegenden Tabelle ergibt sich:

Die Normalausscheidung (Durchschnitt aus 2 Vortagen) betrug für:

Gesamtstickstoff	. 20,0745 g pro Tag,
Harnsäure	0,6199 g „ „
Homogentisinsäure	9,075 g „ „
Quotient	$\frac{\text{Homogentisinsäure}}{\text{Gesamtstickstoff}} = \frac{43}{100}$

Die durchschnittliche Ausscheidung nach Darreichung von Jodnatrium (3 Tage):

Gesamtstickstoff	. 18,9903 g pro Tag,
Harnsäure	0,5423 g „ „
Homogentisinsäure	7,84 g „ „
Homogentisinsäure	42
Gesamtstickstoff	= 100

An 2 Nachttagen:

Gesamtstickstoff	. 20,7105 g pro Tag,
Harnsäure	0,5906 g „ „
Homogentisinsäure	11,55 g „ „
Homogentisinsäure	56
Gesamtstickstoff	= 100

Nach Eingabe von 5 g Bromnatrium:

Gesamtstickstoff	24,3564 g,
Harnsäure	0,6486 g,
Homogentisinsäure	12,08 g,
Homogentisinsäure	49
Gesamtstickstoff	= 100

Bemerkenswert erscheint, daß die erwartete Steigerung des Stoffwechsels an den Jodtagen ausgeblieben ist. Im Gegenteil, die Werte sinken ab; dabei bleibt der Quotient Homogentisinsäure:Gesamtstickstoff praktisch unverändert (43 resp. 42:100). Erst an den Nachttagen tritt eine absolute und zugleich relative (zum Gesamt-N) Steigerung der Homogentisinsäureausscheidung ein, so daß sich der Quotient auf 56:100 erhebt.

Auffallend ist die Steigerung der Werte an dem Bromtage. Dabei hält sich der Quotient Homogentisinsäure:Gesamt-N in mittleren Grenzen (49:100). An diesem Tage bestand eine leicht gesteigerte Diurese (2340 ccm Harn).

E. Abderhalden und Bruno Bloch¹⁾ fanden bei einem Alkaptonuriker bei Diurese nach Zufuhr von viel Wasser Stickstoffsteigerung bei Gleichbleiben der Homogentisinsäureausscheidung.

Das Ausbleiben der Stickstoffsteigerung an den Jodtagen steht im Einklang mit Tierversuchen, die Sgalitzer²⁾ im

¹⁾ E. Abderhalden und Bruno Bloch, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 464.

²⁾ M. Sgalitzer, Kritische Versuche zur Beurteilung d. Jodalkaliwirkung. Arch. internat. d. Pharmakodynamie 18, Fasc. III—IV, S. 285 ff. 1908.

Pohlschen Institute ausgeführt hat. Auch dort trat eine Steigerung der N-Ausfuhr nicht regelmäßig ein. Zur endgültigen Entscheidung dieser Frage beim Alkaptonuriker wäre eine mehrmalige Wiederholung der Versuche ev. mit größeren Dosen erforderlich.

Bestimmung der Harnsäure. Zahlreiche Autoren, die die Harnsäureausscheidung beim Alkaptonuriker bestimmten, fanden nach der gewöhnlich angewendeten Methode von Hopkins auffallend niedrige Werte. Dies hat seinen Grund darin, daß die Harnsäure beim Sättigen des Alkaptonharnes mit Salmiak auch bei langem Stehen gar nicht oder nicht völlig ausfällt.

Macht man jedoch mit Ammoniak deutlich alkalisch, so fällt auch im Alkaptonharn die Harnsäure quantitativ aus. Das gebildete Ammonurat wurde in der üblichen Weise mit gesättigter Salmiaklösung gewaschen, der Rückstand in heißem Wasser unter Zusatz von Salzsäure gelöst, die Lösung von den dunklen Beimengungen (Schmierer und Oxydationsprodukten der Homogentisinsäure) heiß filtriert und die nach dem Einengen erhaltene Harnsäure durch N-Bestimmung nach Kjeldahl ermittelt.

Bestimmung der Homogentisinsäure. Die nach der Methode von Baumann und Wolkow unter Anwendung von 3% Ammoniak erhaltenen Zahlen sind nach Garrods²⁾ Untersuchungen zu niedrig. Garrod titriert daher unter Anwendung von 8% Ammoniak. Ich selbst verwendete zu je 10 ccm Harn 15 ccm 5% Ammoniak. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß bei der von mir angewendeten Vorbehandlung (s. u.) eine Verdünnung des Harnes eintritt.

Die Richtigkeit der Garrodschen Beobachtung konnte ich auch in meinem Falle bestätigen. So fand ich z. B. bei einer Titration bei Verwendung von 3% Ammoniak für 10 ccm Harn 12,5 ccm $\frac{2}{10}$ -Silbernitratlösung erforderlich, bei Verwendung von 5% Ammoniak 14,5 ccm $\frac{2}{10}$ -Silberlösung.

Nach Eingabe von Jodnatrium und Bromnatrium stören diese in den Harn ausgeschiedenen Stoffe die Titration mit Silberlösung. Es mußten daher bei meinen Versuchen die Jod- bzw. Bromalkalien vorher ausgefällt werden. Ich ging daher

²⁾ Arch. E. Garrod, Journ. of Physiol. 33, 206.

bei sämtlichen Titrationen in folgender Weise vor: In einen 100-ccm-Meßkolben werden 75 ccm Harn eingebracht; nach dem Ansäuern mit Salpetersäure wird unter Vermeidung eines größeren Überschusses Silbernitratlösung so lange zugesetzt, als noch ein Niederschlag entsteht, und das Meßkölbchen hierauf auf 100 ccm mit Wasser aufgefüllt. Vom Filtrat werden in einem Meßzylinder 80 ccm zur Ausfällung des Silbers mit gesättigter Kochsalzlösung unter Vermeidung eines wesentlichen Überschusses versetzt und wiederum auf 100 ccm mit Wasser aufgefüllt. Vom Filtrat werden zu den einzelnen Proben je 10 ccm durch tropfenweisen Zusatz von Ammoniak neutralisiert und mit 15 ccm 5% Ammoniak versetzt. Nun wird in der gewöhnlichen Weise nach den Angaben von Baumann¹⁾ titriert. Ein Zusatz von Chlorcalcium und Ammoncarbonat zur leichteren Filtration des reduzierten Silbers hat sich als nicht erforderlich erwiesen. —

Um einen Überblick über den Purinstoffwechsel zu gewinnen, wurde neben der Bestimmung der Harnsäure an einem Versuchstage (27. II.) eine Bestimmung des Allantoins vorgenommen; dies geschah nach der neuerdings von Wiechowski ausgearbeiteten Methode, mit Hilfe deren es gelingt, selbst kleinste Mengen Allantoin quantitativ in Krystallform abzuscheiden. Auf diese Weise konnte Wiechowski zeigen, daß kleine Mengen Allantoin im normalen Menschenharn konstant vorkommen. In dem untersuchten Alkaptonharn fanden sich 9 mg Allantoin in der Tagesmenge, eine der Norm entsprechende Zahl.

Erwähnt sei schließlich, daß die Alkaptonurie in unserem Falle schon seit frühester Jugend besteht; schon damals bemerkte die Mutter des Patienten dunkle Flecke in der vom Urin benetzten Wäsche des Kindes. Der Harn der Schwester und des Kindes des Alkaptonurikers erwies sich als völlig normal.

Zusammenfassend sei Folgendes hervorgehoben:

1. Es fand sich kein Anhaltspunkt für das Vorkommen einer zweiten Alkaptonsäure neben Hydrochinonessigsäure. Für die Existenz der „Uroleucinsäure“ besteht bisher kein sicherer Beweis.

¹⁾ E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 16, 268, 1891.

2. Darreichung von Jodnatrium führte zu keiner Steigerung der Stickstoffausscheidung. Der Quotient Homogentisinsäure:N blieb unverändert. In den Nachttagen erfolgte eine leichte Steigerung der Homogentisinsäureausscheidung. (Quotient 56:100).

3. Die Harnsäureausscheidung hielt sich sowohl in der Vorperiode als auch an den Versuchstagen in normalen Grenzen; auch der Wert für die Allantoinausscheidung war im Bereiche des Normalen, so daß der Purinstoffwechsel im Gegensatze zum Eiweißstoffwechsel im engeren Sinne von der Anomalie unberührt bleibt. Hieraus ergibt sich auch, daß die absoluten Werte der Silbertitration nicht ganz verlässlich sein können (die relativen Vergleichswerte sind brauchbar), da die Methode mit der Abwesenheit resp. mit der Anwesenheit nur geringer Mengen von Harnsäure rechnet. Andererseits ist als analytisch bemerkenswert hervorzuheben, daß im Alkaptonharn Ammonchlorid erst bei Gegenwart von viel freiem Ammoniak die Harnsäure fällt, ein von der Norm abweichendes Verhalten.

Es sei mir gestattet, meinem Chef, Herrn Hofrat Präbram, für die Unterstützung bei dieser Arbeit den besten Dank auszusprechen.

Über Kohlenhydrate in pathologischen Körperflüssigkeiten mit Berücksichtigung der Frage des Rest-Stickstoffs.

Von

Otto Sittig.

(Aus dem chemischen Laboratorium der I. med. Klinik der deutschen Universität Prag. Vorstand: Hofrat Prof. Pflüger).

(Eingegangen am 19. Juli 1909.)

I.

In der vorliegenden Arbeit soll der Versuch gemacht werden, ein größeres Material von pathologischen Körperflüssigkeiten auf das Vorkommen von Zuckerarten zu untersuchen.

Untersuchungen über den Zuckergehalt derartiger Körperflüssigkeiten sind schon von verschiedenen Autoren auch in größeren Versuchsreihen angestellt worden. Von älteren Autoren ist insbesondere die Reduktionsfähigkeit als ein Maß für den Zuckergehalt in serösen Flüssigkeiten angesehen worden, unbekümmert ob sonstige für Kohlenhydrate wesentliche Eigenschaften vorhanden waren. Von einer Reihe von Autoren wurde auch das Phenylhydrazin zum Nachweis verwendet; doch fehlen nicht selten Angaben über den Schmelzpunkt und sonstige Eigenschaften der gewonnenen Verbindungen. Auch Gärung und Polarisation ist vielfach angewendet worden, erstere jedoch häufig nur qualitativ; bei letzterer wurde häufig der direkt abgelesene Wert auf optisch-aktives Kohlenhydrat bezogen.

In der vorliegenden Arbeit haben wir nun versucht, möglichst viele Eigenschaften zur Charakterisierung der Kohlenhydrate heranzuziehen und uns in jedem einzelnen Falle Rechenhaft zu geben, welche Kohlenhydrate vorliegen können. Es war hierbei notwendig, auch auf die optischen Verhältnisse der

serösen Flüssigkeiten im polarisierten Lichte näher einzugehen, da wir fanden, daß auch die kohlenhydratfreien oder davon befreiten Flüssigkeiten erhebliche optische Aktivität aufweisen. Das Studium der optischen Verhältnisse führte uns dazu, auch auf die Ursache dieser Eigenschaft der serösen Flüssigkeiten näher einzugehen, wobei sich ergab, daß für die gewöhnlich vorhandene, bisweilen sogar erhebliche Linksdrehung die Gegenwart von Aminosäuren verantwortlich zu machen ist. Auch sollte in dieser Arbeit auf die Beziehungen zwischen dem Vorkommen der einzelnen Kohlenhydrate und der klinischen Diagnose Rücksicht genommen werden, zumal namentlich von früheren Autoren dem Zuckergehalt seröser Flüssigkeiten eine diagnostische Bedeutung zugesprochen wurde.

Schon im Jahre 1859 fand Hoppe (1) in der Cerebrospinalflüssigkeit einen Stoff, der Zuckerreaktionen gab. Naunyn (2) fand Zucker in Transsudaten von Diabetikern, Munk (3) in einer Echinococcusflüssigkeit. Odemflüssigkeiten wurden untersucht von Bock (4), ferner von Rosenbach (5) (0,1 bis 0,2 % Zucker), Exsudate der Pleura von Eichhorst (5) (17 Fälle, davon 10 zuckerhaltige), Exsudate und Transsudate von v. Jaksch (6). Senator (7) betrachtete nach seinen Untersuchungen das Vorkommen von größeren Zuckermengen als charakteristisch für die chylöse Natur eines Ascites. Hirschler und Buday (8) fanden nachher kleine Zuckermengen in einem Fall von chylösem Ascites.

Mya und Graziadei (9) kamen auf Grund ihrer Arbeiten zu dem Schlusse, daß die Transsudate bei den verschiedenen Erkrankungen im Mittel die auch im Blutserum und anderen physiologischen Flüssigkeiten vorkommende Glykosemenge enthalten; in eitrigen Exsudaten fanden sie keinen Zucker. Die Ermittlung des Glykosegehaltes ist nach der Meinung der Verfasser diagnostisch verwertbar, da Glykose in echten Transsudaten stets vorhanden ist; in Exsudaten kann sie fehlen, in Ovarialflüssigkeiten fehlt sie immer. Moscatelli (10) fand in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose 0,15 % Zucker, Röser (11) 0,58 g Glykose in einer Hydatidencyste. Nach Ransom (12) enthält Ascitesflüssigkeit fast immer Zucker, meist nicht weniger als 0,1 %; in Ovarialtumoren fand er Zucker nicht oder nur in Spuren. A. Jolles (13) vermißte Zucker in der Flüssigkeit aus einer Abdominalgeschwulst. R. v. Zeynek (14) fand in einer Lymphcyste von einem fünfmonatigen Kind Spuren von Zucker. M. Pickardt (15) fand im Mittel bei quantitativer Bestimmung für Ascites 0,06 %, für pleuritische Exsudate 0,05 % reduzierender Substanz. In 9 von 20 polarimetrischen Bestimmungen fand er Linksdrehung und Seliwanoffsche Reaktion, so daß der Autor die Gegenwart von Lävulose vermutet. (Es ist hier nicht erwiesen, ob die Linksdrehung zur Gänze von Kohlenhydraten herrührt.) Ceconi (16) konnte in einem milchig getrübbten, nicht fett-

haltigen Ascites keinen Zucker nachweisen. Rotmann (17) fand bei 3 Fällen (Lebercirrhose, Peritonitis tuberculosa, Peritonitis carcinomatosa) Zucker in Mengen bis zu 0,109%; bei einem Diabetiker trat in einem Exsudat Zucker auf zu derselben Zeit, da der bisher zuckerfreie Harn zuckerhaltig wurde. Heil (18) vermißte reduzierende Substanz bei Untersuchung einer Parovarialcyste. H. Hodelmoser (19) fand Zucker in einer fetthaltigen Ascitesflüssigkeit. Rotmann (20) untersuchte den Zuckergehalt bei 78 verschiedenen Krankheiten. Den größten Zuckergehalt fand er in Ödemflüssigkeiten 0,099%, den geringsten in Gelenkergüssen 0,032%, in eitrigen Ergüssen fand er keinen Zucker. W. Pascheles und O. Reichl (21) titrierten in 32 Fällen mittels Fehlingscher Lösung. Sie fanden im Gegensatz zu andern Autoren keine erhebliche Differenz im Zuckergehalt zwischen Ascites und pleuritischen Exsudaten. Die Bestimmung des Zuckergehaltes basierte in der Mehrheit der Fälle auf der Reduktionsfähigkeit. In einer Reihe von Fällen wurde das Phenylglucosazon mit Schmelzpunktbestimmung gemacht. (Die Zahlen für den Schmelzpunkt sind nicht angegeben). In einem Falle wurde der Zucker durch Gärung nachgewiesen. Polarisation wurde in einer Reihe von Fällen mit „positivem Erfolge“ ausgeführt. Bemerkenswert erscheint diesen Autoren, daß in 2 Fällen von der Leiche entnommenen Flüssigkeiten Zucker fehlte, während derselbe in vivo nachgewiesen worden war. Th. Panzer (22) fand bei der chemischen Untersuchung einer Hydramniosflüssigkeit keinen Zucker. Auch vermißte derselbe Autor Zucker in menschlicher Chylusflüssigkeit, die aus einer Operationswunde herstammte. Gulewitsch (23) beobachtete bei einem alkalisch reagierenden Meningoceleninhalt starke Reduktion von Fehlingscher Lösung. J. Baer (24) konnte im Gegensatz zu Pickardt (s. o.) bei der Untersuchung von 11 Transsudaten niemals Lävulose auffinden und meint, daß die bei Pickardts Methodik entstehende alkalische Reaktion eine Umwandlung der Glykose in Lävulose hätte bedingen können. Pentosen konnte Baer in Transsudaten niemals nachweisen. Simonelli (25) kommt zu dem Schlusse, daß Transsudate immer Glykose in merklicher Menge (0,706% im Mittel) enthalten, Exsudate gar nicht oder nur in Spuren und hält den Glykosenachweis zur Differentialdiagnose für geeignet. Patein und Payon (26) fanden Zucker in einer Nierencystenflüssigkeit. Boy Teissier und A. Roussac (27) fanden in Ödemen aus verschiedenen Ursachen 0,65 bis 2,62 g Glykose.

H. Strauß (28) fand in einem Chylothorax tuberkulösen Ursprungs keinen Zucker. Neuberg und Strauß (29) fanden Fruchtzucker in Ascites- und Ödemflüssigkeit mit Hilfe von Methylphenylhydrazin. Ofner (30) zeigte dann, daß auch Glykose ein Methylphenylosazon gibt. Nach Ost (31) ist das Methylphenylhydrazin zum Nachweise von Fructose geeignet, wenn die Bildung des Osazons innerhalb 20 Stunden erfolgt. Strzyzowski (32) fand in einer chylösen Ascitesflüssigkeit 0,1388 g Traubenzucker, T. Sollmann (33) im Inhalt einer hydropischen Gallenblase infolge Gallensteinverschlusses des Ductus cysticus keinen Zucker. Lad. v. Kétly (34) fand einen chronisch entstandenen Erguß der Pleura-

höhle (Endothelium) zuckerfrei. In Hydrocelenflüssigkeit fand G. Patein (35) in 3 von 4 Fällen Glykose (0,6 bis 1,5 g pro l); der Zucker wurde als Osazon identifiziert. F. Blumental (36) fand in der Hydrocelenflüssigkeit eines Pentosurikers Traubenzucker, aber keine Pentose. O. Schumm (37) fand bei der chemischen Untersuchung von 1 1/2 l einer rahmigen, schwach alkalisch reagierenden Chyluscystenflüssigkeit keinen Zucker; desgleichen Dommering (38) bei einem Fall von traumatischem Chylothorax. Auch Leschtschinski (39) vermißte bei viermaliger Untersuchung einer chylösen Flüssigkeitssammlung in der Bauch- und Brusthöhle dreimal Zucker, nur einmal wurde Zucker in Spuren gefunden.

II.

Da es sich uns vorerst darum handelte, ein übersichtliches Urteil über das Vorhandensein resp. die Abwesenheit von Kohlenhydraten in den einzelnen untersuchten Fällen zu gewinnen, so sollte die angewendete Methodik eine möglichst einfache sein. Von einer Isolierung der vorhandenen Kohlenhydrate wurde deshalb vorläufig Abstand genommen. Auch wurden kompliziertere Methoden, wie etwa der Nachweis der Lävulose als Calcium-Lävulosat (Dubrunfaut-Ost) oder die Anreicherung von Lävulose nach dem Benzidinverfahren (Adler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1742) nicht in Anwendung gebracht.

Die Flüssigkeit wurde nach sorgfältiger Enteiweißung (s. u.) und Reinigung auf ein bestimmtes kleines Volumen eingengt. Eine auch nur vorübergehende alkalische Reaktion der Lösung wurde mit Rücksicht auf die Möglichkeit der Umwandlung der Kohlenhydrate streng vermieden. Im allgemeinen war eine schwach essigsaure Reaktion vorhanden. Die so erhaltene Lösung wurde in üblicher Weise auf Reduktion geprüft (Cu- und Bi-Salze in alkalischer Lösung). Ferner wurde das optische Verhalten im polarisierten Lichte vor und nach der Vergärung und schließlich nach dem Kochen der vergorenen Lösung mit Schwefelsäure geprüft.

Im Falle des Vorhandenseins reduzierender Substanzen wurde mit essigsaurem Phenylhydrazin behandelt und der Schmelzpunkt des erhaltenen Osazons nach dem Umkrystallisieren ermittelt. Die Gärung geschah im großen Lohnsteinischen Apparat. Zur Gärung wurde die Lösung entweder direkt oder nach gehöriger Verdünnung verwendet, letzteres aus dem Grunde, weil ich mich überzeigte, daß gelegentlich in der un-

verdünnten Lösung eine Behinderung der Gärung (Salzkonzentration) auftrat. Weiter wurde in jedem Falle die reduzierende Lösung mittels Phloroglucin resp. Orcin und Salzsäure in bekannter Weise geprüft.

Zur Orientierung über das Vorhandensein von Zucker der 6-Kohlenstoffreihe bediente ich mich einer von R. und O. Adler (Arch. f. Physiol. 106, 323) angegebenen Reaktion mit Anilin und Eisessig. Etwa 1 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wird mit $\frac{1}{2}$ ccm Anilin und 6 bis 8 ccm Eisessig versetzt und einige Minuten gekocht. Bei Gegenwart eines Zuckers der 6-Kohlenstoffreihe tritt eine deutliche Dunkelgrünfärbung auf; der grüne Farbstoff läßt sich nach entsprechender Verdünnung des Reaktionsgemisches mit Wasser durch Äther ausschütteln. Der Farbstoff gibt ein charakteristisches Band im roten Anteil des Spektrums.

Zum Nachweis des etwa vorhandenen Fruchtzuckers wurde die Seliwanoffsche Reaktion in folgender Modifikation ausgeführt. Ofner (40) hat gefunden, daß die Reaktion mit Resorcin und Salzsäure zum Nachweis von Ketosen gegenüber Aldosen nur dann charakteristisch ist, wenn die Konzentration der angewendeten Salzsäure keine zu hohe ist und deshalb die Anstellung der Reaktion in 12%iger Salzsäure empfohlen (20 Sekunden Kochzeit). Ferner haben O. und R. Adler (41) gefunden, daß die Gegenwart von Nitriten einen positiven Ausfall der Reaktion vortäuschen kann. Auch kann es gelegentlich vorkommen, daß die durch Kochen mit Salzsäure allein auftretende Rotfärbung im Harn und in Körperflüssigkeiten bei der Beurteilung des Ausfalls der Farbenreaktion stört. Unter Berücksichtigung dieser erwähnten Tatsachen wurde die Reaktion nach einem Vorschlag von Adler in folgender Weise vorgenommen: Es wird eine bestimmte Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit mit so viel Salzsäure versetzt, daß die Konzentration der Säure 12% beträgt (2 Teile Flüssigkeit mit 1 Teil 36%iger HCl). Nun wird ohne Zusatz von Resorcin zum Sieden erhitzt und die Lösung durch 20 Sekunden im Kochen erhalten. Dadurch werden Spuren von eventuell vorhandenem, störendem Nitrit entfernt. Von der Flüssigkeit wird dann etwa die Hälfte gesondert in ein Reagensglas gegossen; dieser Teil dient als Kontrolle über die durch Salzsäure allein

entstandene Färbung. Zum andern Teil werden einige Zentigramme Resorcin hinzugefügt und nunmehr beide gesonderten Teile gleichzeitig nochmals für einen Moment aufgekocht. Die mit Resorcin versetzte Lösung nimmt hierbei bei Gegenwart von Fruchtzucker eine charakteristische Rotfärbung an, die sich unter Berücksichtigung der gleichzeitig angestellten Kontrollreaktion sehr gut zum Nachweis von Fruchtzucker eignet.

Ferner konnte aus der Differenz zwischen den erhaltenen Gärungswerten und den Polarisationswerten vor und nach der Gärung ein Rückschluß auf das Vorhandensein von linksdrehenden, gärbaren Kohlenhydraten gemacht werden. Hierbei möchte ich auf folgendes aufmerksam machen: Linksdrehung, selbst höhern Grades, in Ascitesflüssigkeiten und gleichzeitiges Vorhandensein vergärbarer Kohlenhydrate kann bisweilen Lävulose vortäuschen. Ich fand nämlich, daß fast regelmäßig auch die von vergärbarem Kohlenhydrat völlig befreite, eiweißfreie Ascitesflüssigkeit schon an sich Linksdrehung, mitunter sogar eine recht beträchtliche (bis 5,4°), aufweist. Wenn in einem solchen Falle z. B. 1% Traubenzucker vorhanden wäre, so kann man bei orientierender Untersuchung den Eindruck gewinnen, als läge ein linksdrehendes, gärbares Kohlenhydrat vor.

Das erwähnte, fast konstante Vorkommen von Linksdrehung in den vergorenen resp. zuckerfreien Ascitesflüssigkeiten erforderte auch die Prüfung auf das etwaige Vorhandensein von gepaarten Glukuronsäuren. Zu diesem Behufe wurde auf Reduktion und optisches Verhalten vor und nach der Behandlung mit Schwefelsäure geprüft, Orcin- und Phloroglucinreaktion angewendet und schließlich auch die neuerdings von Tollens (42) angegebene Naphthoresorcinprobe ausgeführt. In Betracht kommt bei dieser Probe nur der spektroskopische Nachweis, da bei Anwesenheit geringer Mengen Glukuronsäuren und dem gleichzeitigen Vorhandensein anderer Stoffe die Beobachtung der Farbe gelegentlich unsicher werden kann¹⁾. Auch kann kein Zweifel bestehen, daß in einzelnen Fällen eine Behinderung des positiven Ausfalles der Probe eintritt. Davon habe ich mich im Falle 14 (s. u.) überzeugt. Die Probe fiel in der nativen, eingeengten Flüssigkeit negativ aus; wurde nun zu dieser Flüssig-

¹⁾ vgl. hierzu auch Mandel und Neuberg, diese Zeitschr. 13, 148, 1908.

keit reines, urochloralsaures Natrium¹⁾ in genügender Menge zugefügt, so war dennoch trotz genauester Einhaltung der Vorschrift ein positiver Ausfall nicht zu erzielen.

Es zeigte sich nun im allgemeinen, daß die bestehende, in einigen Fällen beträchtliche Linksdrehung nach dem Kochen mit Schwefelsäure verschwand bzw. wesentlich vermindert wurde; Rechtsdrehung wurde nach dem Kochen mit Schwefelsäure in keinem Falle beobachtet. Auch zeigten die mit Schwefelsäure behandelten Lösungen nachher keine Reduktion von Metallsalzen. Jedenfalls waren gepaarte Glykuronsäuren nicht in so erheblicher Menge vorhanden, als daß die Linksdrehung der untersuchten Flüssigkeiten daraus erklärt werden konnte.

Dies veranlaßte uns, an das etwaige Vorhandensein aktiver, linksdrehender Aminosäuren zu denken. Es wurde deshalb in zwei besonders markanten Fällen eine Untersuchung der Stickstoffverteilung des Ascites nach der Methode von Krüger und Schmid (43) vorgenommen. In dem einen dieser beiden Fälle (Lebercirrhose mit akuter gelber Leberatrophie) erschien dies um so mehr geboten, als sich schon im Harn reichlich Aminosäuren (Leucin und Tyrosin) nachweisen ließen. In beiden Fällen ließ nun tatsächlich die Verteilung des Stickstoffs auf das Vorhandensein von Aminosäuren schließen. In dem Falle der akuten gelben Leberatrophie gelang es auch tatsächlich, Tyrosin in schönen, charakteristischen Krystallen zu isolieren ($F = 295^{\circ}$).

Die Vorbereitung der Ascitesflüssigkeit zur Untersuchung auf Kohlenhydrate geschah in folgender Weise:

Die schwach essigsauer gemachte Flüssigkeit wurde durch Erhitzen über freier Flamme unter kräftigem Umrühren koaguliert, das Coagulum mit Wasser mehrfach ausgekocht, die vereinigten Filtrate wurden bis fast zur Sirupkonsistenz eingeengt, darauf mit Alkohol gründlich ausgekocht. Im alkoholischen Filtrat wurde der Alkohol verjagt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Hierauf wurde die schwach essigsaure Lösung mit neutralem Bleiacetat gefällt, im Filtrat das überschüssige Blei in einigen Fällen mit verdünnter Schwefelsäure gefällt, die Schwefelsäure mit Bariumcarbonat entfernt und sofort filtriert. Zumeist wurde aber das Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt und der über-

¹⁾ Das verwendete Präparat, das von Herrn Prof. Pohl dargestellt und mir freundlichst überlassen worden war, gab in wässriger Lösung eine prachtvolle Naphthoresorcinprobe.

schüssige Schwefelwasserstoff durch Einblasen von Luft vertrieben. Regelmäßig war die Lösung nunmehr für die weitere Untersuchung geeignet; in einem einzigen Falle war zur Untersuchung des optischen Verhaltens die Entfärbung mit reiner Tierkohle (Merck) notwendig, was in diesem Falle einen kleinen Verlust an Zucker bedingen kann. In zwei der letzten Fälle sowie in zwei früheren, wo eine vollkommene Enteiweißung nach dem angegebenen Verfahren nicht möglich war, wurde die Kolloidfällungsmethode mittels Ferrum hydroxydatum dialysatum liquidum vorgenommen. Zur Entfernung des überschüssigen Eisens wurde etwas Magnesiumsulfat zugesetzt. Das fast vollkommen farblose Filtrat wurde eingengt, wobei noch Spuren von Eisen ausfielen. Nach abermaligem Filtrieren war die Lösung direkt zur weiteren Untersuchung geeignet.

III.

Im folgenden sollen nun die einzelnen untersuchten Fälle angeführt werden.

1. Prot. Nr. 14798. Marie B., 37 J., aufgenommen am 13. X. 1908.

Diagnose: *Insufficiencia et stenosis valvulae mitralis*. Hochgradiger Ascites. Im Harn kein Zucker. 18. X. Bauchpunktion (15 l). 12 l der grünlich gefärbten Flüssigkeit wurden koaguliert und weiter in der oben erwähnten Weise verarbeitet. Es resultierten 40 ccm einer sirupösen, bräunlichen Flüssigkeit.

Reduktionsproben positiv; Resorcinreaktion auf Lävulose gibt schwache Rötung; Oroinreaktion bei längerem Kochen Rotbraunfärbung, beim Abkühlen Trübung; Phloroglucinreaktion Rotfärbung mit nachfolgender Trübung.

Polarisation¹⁾: + 0,5% (der Traubenzuckerskala²⁾).

Die quantitative Gärung nach Lohnstein ergab: 1,2%.

(Die verwendete Hefe zeigte keine Selbstgärung.)

Polarisation nach der Gärung: — 0,8%.

Mit essigsaurem Phenylhydrazin entstand ein gelber Krystallbrei; nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure war $F = 209$ bis 210° .

Probe auf Hexosen mit Anilin und Eisessig: Grünfärbung, spektroskopisch Band im Rot.

Tollenssche Naphthoresorcinprobe positiv, Streifen im Gelbgrün.

¹⁾ Zur Entfärbung mußte in diesem Falle etwas Mercksche Tierkohle verwendet werden, wodurch kleine Verluste an Kohlenhydraten entstanden sein können.

²⁾ Alle Polarisationwerte sind in Prozenten der Traubenzuckerskala ausgedrückt.

Beurteilung: Unter Berücksichtigung der bei der Gärung und bei der Polarisation vor und nach der Gärung gewonnenen Werte liegt kein Grund vor zur Annahme quantitativ nachweisbarer Mengen von Fruchtzucker. Für die Gegenwart von Spuren Fructose spricht der Ausfall der Resorcinreaktion. Der Wert von 1,2% für die gärfähigen Kohlenhydrate ist auf Dextrose zu beziehen (0,48 g Dextrose). Der Ausfall der Naphthoresorcinprobe spricht vielleicht für die Gegenwart kleiner Mengen Glykuronsäure. Gegen die Anwesenheit von Pentosen spricht der Schmelzpunkt des Osazons (209 bis 210°) und der negative Ausfall der Orcinreaktion bei leichtem Erwärmen. Bemerkenswert erscheint die nach der Vergärung bestehende Linksdrehung der (eiweißfreien) Lösung, die vielleicht zum Teil auf die Anwesenheit von Aminosäuren bezogen werden kann (s. u.).

2. Am 14. XI. 1908 2. Bauchpunktion bei derselben Patientin. 11 $\frac{1}{2}$ l grünlich gefärbter Flüssigkeit. In analoger Weise vorbehandelt, eingengt auf 250 ccm.

Reduktionsproben positiv; Resorcinreaktion auf Lävulose positiv; Phloroglucinprobe Rotfärbung; Orcinprobe Gelbfärbung; Anilin-Eisessigprobe auf Hexosen positiv; Naphthoresorcinprobe positiv.

Aus 50 ccm der Flüssigkeit konnten 0,45 g Roh-Osazon gewonnen werden, $F = 204^\circ$ (aus verdünntem Alkohol).

Polarisation: $-0,5\%$.

Vergärung nach Lohnstein: $0,95\%$.

Polarisation nach der Gärung: $-0,7\%$.

Polarisation nach 2stündigem Kochen mit H_2SO_4 (2%/ig): $-0,5\%$; nach weiterem 1stündigem Kochen von 16 ccm Flüssigkeit unter Rückfluß mit 2 ccm konz. H_2SO_4 auf dem Wasserbade war die Lösung inaktiv. Die mit Schwefelsäure behandelte Flüssigkeit gab keine deutliche Reduktion; bei der Phloroglucinprobe ging in den Amylalkohol ein roter Farbstoff über.

Beurteilung: Aus dem Gärwert und den Polarisationswerten ergibt sich in diesem Falle ein Gehalt von etwa $0,68\%$ Dextrose und $0,27\%$ Lävulose.¹⁾ Dies entspricht 1,7 g Dextrose und 0,67 g Lävulose in der ganzen Ascitesflüssigkeit.

3. Punktion bei derselben Patientin am 29. XII. 1908. (Vom 3. XII. bis 15. XII. hatte Patientin täglich 5 g Lävulose

¹⁾ Diese Zahlen sind umgerechnet nach der Formel $\frac{a-b}{2,69} =$ Prozentgehalt an Fructose, wo a den Gärwert, b den Polarisationswert in Prozenten der Traubenzuckerskala bedeutet unter Berücksichtigung der nach der Gärung zurückbleibenden Linksdrehung.

per os genommen.) 15 l grünlich gefärbter Ascites. Es resultieren 200 ccm einer schwach sauer reagierenden, sirupösen Flüssigkeit.

Reduktionsproben positiv; ammoniakalische Silberlösung wird in der Kälte nicht, beim Erwärmen dagegen stark reduziert. Resorcinreaktion schwache Rötung mit nachheriger Trübung. Phloroglucinprobe gibt Rotfärbung, Orcinprobe gibt nach einigem Kochen braunrote Färbung; die Farbe geht in Amylalkohol über. Anilin-Eisessig-Probe auf Hexosen positiv. Naphthoresorcinprobe ebenfalls positiv.

Polarisation nach genauer Neutralisation mit Soda: 1% Linksdrehung.

Quantitative Vergärung: 1%¹⁾

Polarisation nach der Gärung: — 1%.

Polarisation nach dem Kochen mit H₂SO₄: 0 (35 ccm Lösung mit 2 ccm H₂SO₄ 1 Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers auf dem Wasserbade erhitzt).

Das ziemlich reichlich erhaltene Osazon schmolz bei raschem Erhitzen bei 205°.

Beurteilung: In diesem Falle waren etwa 1,26 g Dextrose und 0,74 g Lävulose vorhanden. Einen Einfluß der per os gegebenen Fructose auf die Ausscheidung derselben im Ascites konnten wir nicht beobachten.

4. Prot. Nr. 18566. Anton K., 26 J., aufgenommen am 31. X. 1908.

Diagnose: Carcinoma bronchi, Pleuritis dextra, Pneumonia. Im Harn kein Zucker. 10. XI. Punktion des Thorax, wobei ca. 4 l einer hämorrhagischen, eiweißreichen (6%₀₀ Esbach) Flüssigkeit entleert werden. 11. XI. Exitus letalis.

Eine enteweißte Probe des Exsudates zeigte keine Reduktion und erwies sich als zuckerfrei.

5. Prot.-Nr. 20956. Anna P., 37 J., aufgenommen am 8. XII. 1908.

Diagnose: Stenosis et insufficientia valvulae mitralis, Nephritis chronica.

Im Harn kein Zucker. Am 9. XII. Punktion 3¹/₂ l. 11. XII. Exitus letalis.

Bei der Sektion, die die klinische Diagnose bestätigte, werden noch 500 ccm einer leicht galligen Ascitesflüssigkeit entleert,

¹⁾ Zur Vergärung mußte die Flüssigkeit dreifach verdünnt werden, da sonst Behinderung durch Konzentrationsverhältnisse eintrat. Die unverdünnte Lösung war nur unvollständig und zeigte den Wert: 0,28%.

die mit den bei der Punktion gewonnenen gemeinsam verarbeitet wurden. Es resultierten nach der gewöhnlichen Vorbehandlung 150 ccm einer braunen Flüssigkeit.

Reduktionsproben positiv; Resorcinreaktion schwach positiv; Phloroglucinprobe rötliche Färbung, Orcinprobe rotbraun, beim Abkühlen Niederschlag.

Polarisation: 0,4°/o links.

Gärung: 0,9°/o.

Polarisation nach der Vergärung: 0,8°/o links.

Polarisation nach Kochen mit H_2SO_4 : 0.

Naphthoresorcinprobe deutlich positiv. Anilin-Eisessig-Probe auf Hexosen gibt Grünfärbung und Absorptionstreifen im Rot.

Eigentümlich war das Verhalten des Extraktes beim Kochen mit essigsauerm Phenylhydrazin. Aus 50 ccm konnten 7,77 g eines gelblichen, in Plättchen krystallisierenden Stoffes vom Schmelzpunkt 130° gewonnen werden. Derselbe war in Wasser ziemlich leicht löslich und wurde einer weiteren Untersuchung nicht unterzogen.

Bei einer zweiten Darstellung aus 30 ccm Flüssigkeit bildete sich wiederum ein reichlicher Krystallbrei, der nun umkrystallisiert und fraktioniert wurde. Eine kleine, aus Wasser umkrystallisierte Fraktion schmolz bei 190°, eine zweite, aus verdünntem Alkohol gewonnene, bei 219 bis 220°. Nach dem zweiten Umkrystallisieren der letzteren Fraktion war $F = 218^\circ$. Es lag also hier offenbar ein Gemisch vor. Von einer weiteren Untersuchung wurde Abstand genommen.

Was die Mengenverhältnisse der Dextrose und Lävulose betrifft, so entfielen etwa 1,08 g auf Dextrose, 0,27 g auf Lävulose.

6. Prot. Nr. 17726. Rosa M., 17 J., aufgenommen am 11. XII. 1907.

Klinische Diagnose: Polyserositis.

Patientin leidet an stetig wiederkehrendem Ascites und wurde bereits 23 mal punktiert. Punktion am 27. I. 1909. 12 l einer hellgrünen Flüssigkeit. Nach der Vorbehandlung resultierten 180 ccm eines wässerigen, hellgelben Extraktes.

Reduktionsproben negativ; Resorcinprobe negativ (eine etwaige Behinderung der Lävulosereaktion lag nicht vor, da etwas zugesetzte Lävulose die charakteristische Rotfärbung ergab). Orcin- und Phloroglucinprobe bei längerem Kochen Gelbbraunfärbung. Naphthoresorcinprobe spektroskopisch schwach positiv. Gärung negativ. Mit essigsauerm Phenylhydrazin entstand eine kaum faßbare Menge von Kry-

stälchen, die nicht weiter umkrystallisiert werden konnte. $F = 172$ bis 173° .

Polarisation: $0,8\%$ links.

Nach dem Kochen mit Schwefelsäure (30 ccm + 3 ccm konz. H_2SO_4 2 Stunden auf dem Wasserbad) sank die Drehung allmählich ab auf $-0,4\%$ und schließlich $-0,3\%$. Die mit Schwefelsäure gekochte Lösung gab keine Reduktion.

Es waren also nach dem Ausfall der Reaktionen Kohlenhydrate in nachweisbarer Menge nicht vorhanden. Gegen etwaiges Vorhandensein größerer Mengen von Glykuronsäure spricht der negative Ausfall der Orcin- und Phloroglucinreaktion; der schwach positive Ausfall der Naphthoresorcinprobe erscheint nicht sicher beweisend.

Es war daher an die Möglichkeit zu denken, daß die Linksdrehung des Extraktes von Aminosäuren herrühre, und es wurde zu diesem Behufe eine Untersuchung der Stickstoffverteilung [nach Pfaundler (44) und Krüger-Schmid] vorgenommen. Es schien uns schon deshalb wichtig, diesen Punkt zu berühren, weil die Frage nach dem Reststickstoff im Blute und serösen Flüssigkeiten schon mehrfach Gegenstand spezieller Untersuchungen gewesen ist. Aminosäuren wurden bei pathologischen Zuständen gefunden von v. Jaksch (45), nachher von Umber (46), v. Bergmann und Langstein (47) und in erheblicherer Menge von Neuberg und Richter (48). Schließlich haben Neuberg und H. Strauß (49) auch in serösen Flüssigkeiten Aminosäuren (Glykokoll) mit Hilfe von α -Naphthylisocyanat nachgewiesen.

Bei der Bestimmung der Stickstoffverteilung ergaben sich, für die gesamte seröse Flüssigkeit (12 l) berechnet, in unserem Falle folgende Werte:

Gesamt-N: 0,7868 g.

Phosphorwolframsäure-Filtrat-N: 0,7545 g.

Durch Phosphorsäure abspaltbarer N: 0,5326 g.

Aminosäuren-N: 0,2219 g.

Das Ergebnis dieses Versuches sprach für die Anwesenheit von Aminosäuren in der untersuchten serösen Flüssigkeit. Dabei ist in diesem sowie in den anderen Fällen zu berücksichtigen, daß infolge der vorgenommenen Alkoholextraktion nur ein kleiner Teil der vorhandenen Aminosäuren in den Extrakt übergeht.

Spricht schon dieser Fall für das Vorkommen von Aminosäuren im Ascites, so gelang in dem nächsten Falle (akute gelbe Leberatrophie) der sichere Beweis, indem sich Tyrosin in Krystallform aus der Ascitesflüssigkeit isolieren ließ.

7. Prot. Nr. 8048. Marie M., 16 J., aufgenommen am 27. IV. 1909.

Am 3. V. Exitus letalis.¹⁾ Bei der Sektion (Prof. R. Kretz) fand sich Cirrhosis hepatis mit akuter gelber Leberatrophie. Aus der eröffneten Bauchhöhle wurden $4\frac{1}{2}$ l einer orangegelben Ascitesflüssigkeit entleert. Die Flüssigkeit wurde in der gewöhnlichen Weise vorbehandelt. Es resultierten 100 ccm eines dunklen Extraktes. Da die Flüssigkeit nach unserer gewöhnlichen Vorbehandlung nicht völlig eiweißfrei zu erhalten war, wurde zur schließlichen Enteiweißung eine Kolloidfällung mit Ferrum hydroxydatum dialysatum liquidum vorgenommen (60 ccm Extrakt auf 230 ccm mit Eisenlösung aufgefüllt).

170 ccm des Filtrates wurden auf 80 ccm eingengt. Hier von wurden 70 ccm mit $MgSO_4$ -Lösung auf 100 ccm aufgefüllt zur Ausfällung des restlichen Eisens. Hierauf wurde mit neutralem Bleiacetat versetzt und im Filtrat das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt, der Schwefelwasserstoff durch Luft vertrieben. 83 ccm dieser Lösung wurden auf 47 ccm eingengt.

Reduktionsproben schwach positiv; Resorcinreaktion negativ, Orcinprobe negativ.

Polarisation: 6% Linksdrehung (Traubenzuckerskala).

Polarisation nach der Gärung: 5,4% links.

Quantitative Vergärung nach Lohnstein: 0,9%.

Polarisation nach dem Kochen mit H_2SO_4 (2%ig): 3,6% links.

Eine Untersuchung der Stickstoffverteilung ergab folgendes Resultat:

Gesamt-N: 3,132 g.

Phosphorwolframsäure-Filtrat-N: 2,774 g.

Durch Phosphorsäure abspaltbarer N des Phosphorwolframsäure-Filtrates: 1,876 g.

Aminosäuren-N: 0,898 g.

¹⁾ In diesem Falle konnte schon zu Lebzeiten Tyrosin und Leucin im Harn nachgewiesen werden.

In diesem Falle gelang es, Tyrosin aus der serösen Flüssigkeit zu isolieren, indem sich beim Stehen der eingeengten Lösung allmählich die charakteristischen Krystalle des Tyrosins in analysenreiner Form abschieden. Die gewonnenen, seidenglänzenden Krystalle schmolzen bei 295° und gaben eine charakteristische Millonsche Reaktion, bei der Mörnerschen Probe (Formaldehydschwefelsäure) eine anhaltende, charakteristische Grünfärbung.

Dieser Befund, der in einem gegebenen Falle leicht auch intra vitam erhoben werden kann, erscheint mir von pathognomonischer Bedeutung zu sein; er gestaltet die Prognose wohl zu einer ungünstigen, da er auf einen tiefgehenden Zerfall des Lebergewebes hinzuweisen scheint.

8. Diagnose: Carc. pleurae. Im Harn kein Zucker. $1\frac{1}{2}$ l einer blutig tingierten Flüssigkeit aus dem Thorax entleert. Kein Fieber während des ganzen Krankheitsverlaufs. Exitus letalis am 31. I. 1909.

Nach der gewöhnlichen Vorbehandlung resultieren 160 ccm Flüssigkeit.

Reduktionsproben positiv; Resorcinreaktion auf Lävulose positiv; Orcin- und Phloroglucinreaktion ergeben Braunfärbung; Hexosenprobe positiv, Naphthoresorcinprobe schwach positiv.

Mit essigsäurem Phenylhydrazin ziemlich große Menge Osazon; $F = 209^{\circ}$.

Quantitative Gärung nach Lohnstein: $0,45\%$ (bei dreifacher Verdünnung).

Polarisation: $0,6\%$ links.

Polarisation nach der Gärung: $0,4\%$ links.

Durch Kochen mit H_2SO_4 nahm die Linksdrehung wenig ab ($-0,3\%$).

Die quantitativen Verhältnisse waren in diesem Fall folgende: Auf Dextrose entfielen $0,25$ g in der ganzen serösen Flüssigkeit und auf Lävulose $0,46$ g.

9. Prot. Nr. 8809. Johann K., 61 J., aufgenommen am 9. V. 1909.

Diagnose: Emphysema pulmonum, Degeneratio myocardii, Nephritis.

Am 11. V. Bauchpunktion, 3 l einer orangefarbenen Flüssigkeit. Exitus letalis am 16. V.

Nach der Vorbereitung resultieren 100 ccm Flüssigkeit.

Reduktionsproben positiv; Resorcinreaktion auf Lävulose positiv; Anilin-Eisessig-Reaktion positiv (Band im Rot); Naphthoresorcinprobe

deutlich positiv; Phloroglucinprobe beim Kochen rot, Orcinprobe rotgelb mit nachfolgendem leichten Niederschlag.

Mit Phenylhydrazin und Eisessig entsteht bereits in der Wärme krystallinische Ausscheidung; das gebildete Osazon ist schwer löslich in heißem Wasser, $F = 208^\circ$.

Lohnstein: 2,8 %.

Polarisation: + 1 %.

Polarisation nach der Gärung: 0.

In diesem Falle waren in der genannten Ascitesflüssigkeit (3 l) ca. 2,13 g Dextrose und 0,67 g Lävulose. Glycouronsäure war vielleicht in Spuren vorhanden.

10. Prot. Nr. 8598. Josef H., 37 J., aufgenommen am 5. V. 1909.

Diagnose: Pleuritis. Wegen indicatio vitalis (hochgradige Atemnot) Punktion des Thorax, 3 l blutig tingierte Flüssigkeit. 600 ccm des Exsudates werden in Arbeit genommen; es erweist sich als zuckerfrei.

11. Prot. Nr. 19315. Franziska T., 52 J., aufgenommen am 11. XI. 1908. 26. XI. Exitus letalis.

Diagnose: Akute gelbe Leberatrophie.

Es werden 250 ccm Ascitesflüssigkeit von dunkelgelber Farbe bei der Sektion entleert.

Kein Zucker. Auf das Vorhandensein von Aminosäuren war in diesem Falle, der zu Beginn der Arbeit zur Untersuchung kam, noch nicht Rücksicht genommen worden.

Die folgenden 10 Fälle entstammen dem Sektionsmaterial des deutschen pathologischen Institutes.¹⁾

12. Diagnose: Myocarditis acuta.

400 ccm Ascitesflüssigkeit von gelber Farbe, etwas blutig tingiert, auf 150 ccm eingengt.

Nach der Vorbehandlung keine Reduktion, Farbenreaktionen negativ, Naphthoresorcinprobe negativ. Polarisation: 0,4 % links.

Zuckerfrei.

13. Diagnose: Emphysema pulmonum, Degeneratio adiposa myocardii, Hydrops universalis.

l l gelb gefärbten Ascites, auf 160 ccm eingengt.

Reduktionsproben negativ, Farbenreaktionen negativ. Polarisation: 0,6 % links.

Zuckerfrei.

¹⁾ An dieser Stelle sei dem deutschen pathologischen Institut und der deutschen chirurgischen Klinik für die Überlassung einer Anzahl von Fällen der Dank ausgesprochen.

14. Diagnose: Nephritis chronica, Oedema universale.
600 ccm Ascitesflüssigkeit, auf 150 ccm eingengt.

Reduktion sehr schwach, Resorcinreaktion negativ, Orcinreaktion gibt beim Kochen Rotfärbung mit nachfolgender Trübung (kein charakteristisches Spektrum).

Polarisation: 0,8% links.

Nach dem Kochen mit Schwefelsäure: 0,7% links, leichte Reduktion.

Lohnstein: 0,15%

Mit Phenylhydrazin und Eisessig bilden sich einige spärliche Kryställchen, die aber nicht weiter untersucht werden konnten.

Es sei in diesem Falle auf das Verhalten der Tollenschen Naphthoresorcinreaktion aufmerksam gemacht. Die Probe war bei genauer Einhaltung der Vorschrift negativ. Wurde nun etwas urochloralsaures Natron, das in wässriger Lösung eine sehr intensive Probe gab, hinzugesetzt, so trat dennoch kein positiver Ausfall der Reaktion in der serösen Flüssigkeit ein. Es läßt sich also in diesem Falle auf Grund des Verhaltens der Naphthoresorcinprobe eine Entscheidung auch über die Abwesenheit von Glykuronsäure nicht treffen.

15. Diagnose: Vitium cordis.

400 ccm Ascites von orangegelber Farbe, eingengt auf 150 ccm.

Reduktionsproben negativ, Resorcinreaktion negativ, Phloroglucinprobe gibt an Amylalkohol einen roten Farbstoff ab, Orcinprobe einen braunroten. Naphthoresorcinprobe spektroskopisch positiv.

Polarisation: 0,2% links.

Kein Zucker.

16. Diagnose: Nephritis.

650 ccm Ascites, nach Vorbehandlung eingengt auf 150 ccm.

Reduktionsproben und Farbenreaktionen negativ.

Polarisation: 0,5% links.

Kein Zucker.

17. Diagnose: Vitium cordis, Nephritis.

570 ccm Ascites von grüngelber Farbe, eingengt auf 50 ccm.

Reduktionsproben negativ, Resorcinreaktion negativ, Orcinprobe gibt an Amylalkohol einen braunen Farbstoff ab, Naphthoresorcinprobe schwach positiv.

Polarisation: 0,8% links.

Kein Zucker.

18. Diagnose: Tuberculosis peritonei.

400 ccm gelben, milchig getrübbten Ascites.

Zuckerfrei.

19. Diagnose: Nephritis chronica. 600 ccm Ascites.

Zucker nicht nachweisbar.

20. Diagnose: Nephritis, Hydrops universalis.

Naphthoresorcinprobe schwach positiv. Kein Zucker nachweisbar. .

21. Diagnose: Cirrhosis hepatis, Peritonitis purulenta. Trübes, eitriges Exsudat, mikroskopisch reichlich Streptokokken enthaltend.

Die Enteiweißung erfolgte mittels Colloidfällung durch Ferrum hydroxydatum dialysatum liquidum.

Keine Reduktion, Farbenreaktionen negativ.

Polarisation: 0,15% links.

Kein Zucker.

Die beiden folgenden Fälle verdanke ich der deutschen chirurgischen Klinik.

22. 200 ccm klarer, gelber Hydrocelenflüssigkeit, eingengt auf 20 ccm.

Kein Zucker nachweisbar.

23. Diagnose: Insufficiencia vulvulae mitralis cum stenosi, Degeneratio myocardi, Nephritis chronica, Peritonitis.

1 l Sekret aus einer Bauchfistel, eitrig, leicht blutig tingierte Flüssigkeit; eingengt auf 80 ccm. Da die Flüssigkeit in der gewöhnlichen Weise nicht von Eiweiß zu befreien war, wurde die Colloidfällung mit Eisen vorgenommen und das Filtrat auf 50 ccm eingengt.

Keine Reduktion, Resorcinreaktion negativ, Orcinreaktion gibt einen gelbbraunen Farbstoff an Amylalkohol ab, Naphthoresorcinprobe schwach positiv.

Polarisation: 0,8% links.

Kein Zucker.

Mit Rücksicht auf den fast in allen Fällen negativen Ausfall des Zuckernachweises in den der Leiche entnommenen Körperflüssigkeiten sei auf eine diesbezügliche Beobachtung von Pascheles und Reichl (l. c.) hingewiesen. Die Autoren schreiben: „Die Tatsache, daß in 2 Fällen von der Leiche entnommenen Flüssigkeiten der Zuckernachweis negativ war, während derselbe in vivo gelungen ist, erscheint weiterer Untersuchung wert“. (Die Leichen waren bei großer Kälte aufbewahrt worden.) Auch mir erscheint es auffallend, daß in dem vom Sektionstische stammenden Material Zucker niemals in deut-

licher Menge vorhanden war. Wie weit hier trotz aller Vorichtsmaßregeln dennoch eine beginnende Fäulnis im Spiele ist, läßt sich vorläufig nicht sicher sagen. Irgendwelche Fäulniserscheinungen konnte ich an den von mir untersuchten Leichenflüssigkeiten nicht beobachten. Mit der Annahme eines zucker-spaltenden Fermentes, wie sie Alfr. Hand jr. (50) für entzündliche, leukocytenreiche Cerebrospinalflüssigkeiten vor kurzem gemacht hat, möchte ich vorläufig zurückhalten, so lange nicht ein derartiges Ferment in serösen oder eitrigen Flüssigkeiten mit Sicherheit nachgewiesen ist.

IV. Zusammenfassung.

1. Fassen wir die Resultate der vorliegenden Arbeit zusammen, so ergibt sich folgendes: Unter 23 untersuchten pathologischen Körperflüssigkeiten (Ascites, Exsudat, Hydrocelenflüssigkeit) fanden sich Kohlenhydrate sechsmal in erheblicher Menge, ferner in 2 Fällen Kohlenhydrate in geringer Menge, in Prozenten ausgedrückt: in 26% der Fälle erhebliche Mengen.

Die Verteilung der positiven und negativen Befunde auf die einzelnen Krankheiten ergibt folgendes:

3 Lebererkrankungen (Cirrhosis, Atrophie)	3 neg.
8 Herzerkrankungen (Vitium cordis, Myocarditis)	4 pos., 4 neg.
5 Nephriten	1 pos., 4 neg.
2 Neubildungen der Lunge resp. Pleura	1 pos., 1 neg.
1 Hydrocele	1 neg.
1 Bauchfistel (Peritonitis)	1 neg.
1 Tuberkulose des Peritoneums	1 neg.
1 Pleuritis	1 neg.
1 Polyserositis	1 neg.

2. Was das Vorkommen der einzelnen Zuckerarten anlangt, so fand sich bei allen positiven Befunden Glykose (6mal), in 4 Fällen wurde Lävulose in quantitativ nachweisbarer Menge gefunden, in den beiden andern positiven Fällen deutete die Seliwanoffsche Reaktion auf Spuren Lävulose hin. Pentosen konnten in keinem Falle mit Sicherheit nachgewiesen werden.

3. Was die Mengenverhältnisse der Kohlenhydrate betrifft, fanden sich für Dextrose Werte von 0,25 bis 2,13 g, und für Lävulose von 0,27 bis 0,74 g.

4. Das Studium der optischen Verhältnisse im polarisierten Lichte ergab folgendes: Die von Kohlenhydrat befreiten (Gärung) oder an sich kohlenhydratfreien serösen Flüssigkeiten zeigten mit Ausnahme eines Falles, der nach der Gärung inaktiv war, regelmäßig Linksdrehung (von 0,15 bis 5,4^o/_o). Die kohlenhydrathaltigen Flüssigkeiten zeigten in 2 Fällen Rechtsdrehung (0,5^o/_o und 1^o/_o), in 4 Fällen Linksdrehung (0,4 bis 1^o/_o). Die von Kohlehydraten befreiten serösen Flüssigkeiten zeigten nach dem Kochen mit Schwefelsäure eine deutliche Abnahme der Linksdrehung.

Die vorhandene, bisweilen erhebliche Linksdrehung der von Kohlenhydraten befreiten serösen Flüssigkeit ist bei polarimetrischen Untersuchungen über den Zuckergehalt zu berücksichtigen, da sonst leicht Täuschungen über das optische Verhalten der vorhandenen Zuckerarten entstehen können.

5. Die Linksdrehung der eiweißfreien, vergorenen oder schon an sich kohlenhydratfreien serösen Flüssigkeiten ist zum großen Teil auf das Vorhandensein von Aminosäuren zu beziehen. In 2 Fällen wurde dies an der Verteilung des Stickstoffs gezeigt, in einem Falle eine Aminosäure (Tyrosin) isoliert.

6. In Exsudaten (4) wurde niemals Zucker in nachweisbarer Menge gefunden; die positiven Befunde (6) beziehen sich alle auf Transsudate, doch scheint uns die von früheren Autoren angenommene diagnostische Verwertbarkeit des Zuckergehaltes (Transsudate zuckerhaltig, Exsudate zuckerarm resp. zuckerfrei) deshalb eingeschränkt, weil wir auch in Transsudaten nicht selten Zucker in nachweisbaren Mengen vermißt haben.

Ich danke zum Schluß dem klinischen Vorstande Herrn Hofrat Pribram, der in lebenswürdiger Weise mir alle Mittel zur Arbeit zur Verfügung stellte, und Herrn Assistenten Oskar Adler, der mir die Anregung zu dieser Arbeit gab.

Literatur.

1. Felix Hoppe, Über die chem. Zusammensetzung der Cerebrospinalflüssigkeit. Virchows Archiv 16, 391, 1859.
2. Naunyn, Über die Chemie der Transsudate und des Eiters. Reichert und Du Bois-Reymonds Arch. f. Anat. u. Physiol. 1865, 166.
3. Munk, Über die chem. Zusammensetzung der Echinococcus-Flüssigkeit. Virchows Archiv 1863.

4. Bock, Über den Zuckergehalt von Ödemflüssigkeit. Reichert und Du Bois-Reymonds Archiv f. Anat. u. Phys. 1873, Nr. 5, S. 620.
5. Rosenbach, Über das Vorkommen von Zucker in der Ödemflüssigkeit. Breslauer ärztliche Zeitschrift 1882, Nr. 5 (Ref. Jahresber. der Tierchemie 12, 465, 1882). — Eichhorst, Über das Vorkommen von Zucker und zuckerbildenden Substanzen in pleuritischen Exsudaten. Zeitschr. f. klin. Med. 3. 537, 1881.
6. v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 11, 20, 1886.
7. Senator, Über Chylurie mit chylösem Ascites. Charité-Annalen 10, 315, 1885.
8. Hirschler und Buday, Über einen Fall von chylösem Ascites. Orvosi hetilap, Budapest 1889, 424.
9. Mya und Graziadei, Über die Gegenwart und Menge der Glykose in serösen und eitrigen Ergüssen und Cystenflüssigkeiten. Giornale della r. academ. med. di Torino 1888, Nr. 8 (Ref. Jahrb. der Tierchemie 20, 423).
10. Moscatelli, Beiträge über das Vorkommen von Zucker und Allantoin im Harn und in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose. Arch. per le scienze med. 13, Nr. 18.
11. Röser, Über die Zusammensetzung der Flüssigkeit einer Hydatidencyste. Journ. de Pharm. et de Chim. [5] 22, 244 ff.
12. Ransom, The occurrence of sugar in pathological effusions. Practitioner Oct. 1890. (Centralbl. f. klin. Med. 12, 339).
13. A. Jolles, Analyse einer Bauchpunktionsflüssigkeit. Wiener klin. Wochenschr. 1894, Nr. 48.
14. R. v. Zeynek, Untersuchung des Inhalts zweier Lymphocysten. Zeitschr. f. phys. Chem. 20, 467, 1895.
15. M. Pickardt, Zur Kenntnis der Chemie pathologischer Ergüsse. Berl. klin. Wochenschr. 1897, Nr. 39, S. 844 ff.
16. Ceconi, Über einen Fall milchig getrübbten, nicht fetthaltigen Ascites. Riforma medic. 1. Nr. 51, 1897.
17. Rotmann. Zeitschr. f. klin. Med. 31, 416 ff.
18. K. Heil, Beiträge zur Chemie der Parovarialcysten. Centralbl. f. Gynäk. 21, 1366.
19. Karl Hodlmoser, Chem. Untersuchung einer fetthaltigen Ascitesflüssigkeit. Wiener klin. Wochenschr. 1898, 1149 ff.
20. F. Rotmann, Untersuchungen über den Zuckergehalt pathologischer Flüssigkeiten. Münch. med. Wochenschr. 1898, 170 ff.
21. W. Pascheles und O. Reichl, Zuckergehalt pathologischer Flüssigkeiten. Wiener klin. Wochenschr. 9, 311 ff.
22. Th. Panzer, Chemische Untersuchung einer Hydraminosflüssigkeit. Wiener klin. Wochenschr. 1899, 768 ff. — Th. Panzer, Zur Kenntnis der menschlichen Chylusflüssigkeit. Zeitschr. f. phys. Chem. 30, 113 ff.
23. Gulewitsch, Ein Fall von Meningocele. Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 281 ff.
24. J. Baer, Über Vorkommen und Verhalten einiger Zuckerarten im Blut und in pathologischen Flüssigkeiten. Ing.-Diss. Straßburg 1899.
25. L. Simonelli, Über die Wichtigkeit des Nachweises kleiner Zuckermengen für die Differentialdiagnose zwischen Exsudat und Transsudat. Nuova rivista clinico-terapeutica 4, 68.

34. O. Sittig: Kohlenhydrate in pathol. Körperflüssigk. u. Rest-Stickstoff.
 26. Patein und Payon, Analyse des flüssigen Inhalts einer Nieren-cyste. Journ. Pharm. Chim. 1901, 54.
 27. Boy Teissier und Rouslaacroix, Mitteilung über 15 Analysen von Odemflüssigkeiten. Compt. rend. soc. biolog. 54, 408 ff.
 28. H. Strauß, Über Chylothorax tuberculosus. Charité-Annalen 1902, 89 ff.
 29. C. Neuberg und H. Strauß, Über Vorkommen und Nachweis von Fruchtzucker in den menschlichen Körpersäften. Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 227 ff.
 30. R. Ofner, Monatshefte f. Chem. 25, 611 ff.
 31. H. Ost, Zeitschr. f. angew. Chem. 18, 1170 ff.
 32. C. Strzyzowski, Über die chem. Zusammensetzung einer chylösen Ascitesflüssigkeit. Korrespondenzbl. f. d. Schweizer Ärzte 33, 618 ff.
 33. T. Sollmann, Analysen der Flüssigkeiten von zwei Fällen von Hydrops oystidis felleae. Amer. medicine 5, 416 ff.
 34. Lad. v. Kétly, Über die chylusartigen Trans- und Exsudate im Anschluß an 2 Fälle. Orvosi hetilap 50, 226 ff., 251 ff.
 35. G. Patein, Über die Gegenwart von Glykose in der Hydrocelenflüssigkeit. Journ. Pharm. Chim. [6] 23, 239 ff.
 36. F. Blumental, Deutsche Klinik 3, 313, 1903.
 37. O. Schumm, Chem. Untersuchung des Inhalts einer Chyluscyste. Zeitschr. f. phys. Chem. 49, 266.
 38. A. Dommering, Ein Fall von Chylothorax traumaticus. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 2, 875, 1907.
 39. A. F. Leschtschinski, Über einen Fall von Ansammlung von chylöser Flüssigkeit in der Bauch- und Brusthöhle. Deutsche med. Wochenschr. 33, 101 ff.
 40. R. Ofner, Monatshefte f. Chem. 25, 611 bis 620.
 41. R. und O. Adler, Über eine Reaktion im Harn bei der Behandlung mit Resorcin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 206 ff.
 42. Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1788.
 43. Krüger und Schmid, Bestimmung des Aminosäuren-Stickstoffs im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 556, 1901.
 44. Pfaundler, Über ein Verfahren zur Bestimmung des Aminosäuren-Stickstoffs im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 75.
 45. v. Jaksch, v. Leyden-Festschrift, Berlin 1902, A. Hirschwald.
 46. Umber, Chem. Untersuchung des Blutes bei Anurie durch Hg-Vergiftung. Charité-Annalen 27.
 47. G. v. Bergmann u. L. Langstein, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 6, 27, 1905.
 48. C. Neuberg und Richter, Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 14, S. 499.
 49. C. Neuberg und H. Strauß, Zur Frage der Zusammensetzung des Reststickstoffs im Blut und in serösen Flüssigkeiten. Berl. klin. Wochenschr. 43, 258 ff.
 50. Alfr. Hand jr., The diagnostic value of the chemical and bacteriological Examination of Cerebrospinal fluids. Arch. of Pediatrics 1909.
-

Über die Oxalsäurebildung aus den Kollainen.

Von

W. S. Ssadikow, St. Petersburg.

(Eingegangen am 20. Juli 1909.)

Löst man Thioglutan¹⁾ in starker Salpetersäure und dampft die Lösung vorsichtig auf dem Wasserbade ein, so erhält man im Rückstande eine weiße krystallinische Masse, welche im angesäuerten Wasser und Alkohol sehr leicht löslich ist und beim Erhitzen über 110° sich sublimiert. Die Substanz gibt ein explosives Silbersalz; sie wird aus ihrer wässerigen Lösung durch Calciumsalze in Gegenwart von Essigsäure gefällt. Die Bildung einer Krystallmasse wurde nur bei der Oxydation des Thioglutans beobachtet, während die gleiche Behandlung mit Salpetersäure beim Glutin nur Sirupe gab; äußerst vorsichtige Einwirkungen mit verdünnter Salpetersäure oder auch mehrfache Behandlung der Substanz führten zu keiner Krystallbildung.

Um die Natur der krystallinischen Substanz zu ermitteln, wurde die im Rückstand gebliebene Masse in Wasser gelöst, die Lösung mit Ammoniak neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und mit Calciumchloridlösung gefällt. Der Niederschlag wird filtriert, mit Wasser gewaschen und in 15%iger Salzsäure aufgelöst, hierauf mit alkoholhaltigem Äther ausgezogen. Der nach dem Abdunsten des Äthers gebliebene Rückstand wird in Wasser aufgenommen, filtriert und wiederum mit CaCl₂-Lösung nach dem Ansäuern mit Essigsäure gefällt. Das Kalksalz wird gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Die Bestimmungen des Krystallwassers und des Calciums ergaben folgendes:

¹⁾ Zeitschr. f. Chem. und Ind. der Kolloide 1, 1907.

0,3060 g Substanz gaben nach dem Trocknen bei 160° bis zur Gewichtskonstanz 0,2683 g, was dem Gehalte von 12,42% Wasser entspricht. Nach dem Glühen bekommt man 0,1180 g CaO oder 38,42% Ca auf die wasserfreie Substanz berechnet und 43,94% Ca, wenn man es auf die krystallwasserhaltige Substanz umrechnet.

	Gef.	Ber. auf $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Wasser	12,42%	12,33%
CaO	38,42%	38,36%
	43,94%	43,75%

Nach diesen Ergebnissen bestand die krystallinische Masse aus Oxalsäure.

Die Menge der Oxalsäure, welche sich bei der Oxydation des Thioglutans bildet, ist in verschiedenen Versuchen eine verschiedene, was von der Menge der Salpetersäure, Oxydationsdauer und Temperatur (Wasser- ev. Sandbad) abhängig ist. Wir wollen einige Versuche hier angeben:

Thioglutan wird bei 150° getrocknet. Die abgewogene Substanz wurde in 50 ccm HNO_3 (1,40) gelöst und bis zur Trockne auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit CaCl_2 gefällt, wieder in 15%iger HCl gelöst, ausgeäthert und nochmals mit CaCl_2 gefällt; die Fällung filtriert, getrocknet und geglüht. Oxalsäuremenge wird in Prozenten der aschefreien Substanz berechnet.

I. 1,7651 g Substanz gaben 0,1220 g CaO, ev. 0,19605 g Oxalsäure oder 11,86% $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$.

II. 1,2724 g Substanz gaben 0,0770 g CaO, ev. 0,12374 g Oxalsäure oder 12,36% $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$.

III. 1,3170 g Substanz gaben 0,0556 g CaO, ev. 0,08935 g Oxalsäure oder 7,14% $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$.

Behandelt man Thioglutan mit 50 ccm auf die Hälfte verdünnter HNO_3 , so bildet sich keine Oxalsäure im Abdampfrückstände. Ich habe folgende Substanzmengen: 1,2154 g, 1,6467 g, 1,1541 g und 1,6588 g mit verdünnter Salpetersäure verarbeitet und mit CaCl_2 keine Fällung erhalten.

Auch bei der Behandlung des Glutins mit HNO_3 von 1,40 spez. Gew. bekommt man keine Oxalsäure. Folgende Mengen des Glutins: 1,5922 g, 1,1486 g, 1,7368 g, 2,2329 g,

1,4468 g mit HNO_3 abgedampft, gaben nur Sirupe, deren wässrige Lösungen mit CaCl_2 nur unbedeutende Trübung zeigten.

Auch wenn man Glutin mehrere Male mit starker Salpetersäure abdampft oder vorher 12 Stunden lang mit HNO_3 erwärmt, beobachtet man doch keine Oxalsäurebildung. Führt man aber die Oxydation in Gegenwart von Kalksalzen aus, so erhält man Oxalsäure.

IV. 1,2178 g Glutin, bei 150° getrocknet, wurden mit starker Salpetersäure oxydiert. Der Sirup gab nach seiner Verdünnung mit CaCl_2 -Lösung keine Fällung. Die essigsäure CaCl_2 -haltige Lösung wurde abgedampft, mit HNO_3 versetzt und wieder abgedampft. Der Rückstand wurde in schwacher Salzsäure gelöst, die Lösung mit Ammoniak neutralisiert, und mit Essigsäure angesäuert. Die umfangreiche Fällung des Kalksalzes wurde filtriert, gewaschen, getrocknet und geglüht. Man erhält 0,2662 g CaO , entsprechend 0,42792 g Oxalsäure, ev. 35,14% Oxalsäure. Behandelt man das Filtrat wieder mit HNO_3 , so beobachtet man keine weitere Oxalsäurebildung.

V. 1,0986 g Glutin wurden ebenso wie bei IV behandelt. Nach der zweiten Oxydation d. h. in Gegenwart von Kalksalzen erhält man 0,1857 g CaO ev. 0,29851 g Oxalsäure oder 27,17% derselben.

VI. 0,7845 g Glutin wurden mit 50 ccm konzentrierter Salpetersäure 30 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt; es bildete sich beim Abdampfen keine Oxalsäure. Nach dem Zusatz von 2 g CaCl_2 wurde der Rückstand wieder mit HNO_3 abgedampft. Man erhält dann nach dem Glühen der Fällung 0,1228 g CaO oder 0,1974 g Oxalsäure, ev. 25,16% derselben.

VII. 1,1713 g Glutin bei der Behandlung mit HNO_3 und CaCl_2 gaben 0,8148 g CaO , ev. 0,27536 g Oxalsäure oder 33,8%.

VIII. 1,5200 g Glutin bei der Behandlung mit HNO_3 und CaCl_2 gaben 0,3885 g CaO , ev. 0,62451 g Oxalsäure oder 41,09%.

IX. 1,9900 g Glutin bei der Behandlung mit HNO_3 und CaCl_2 gaben 0,5095 g CaO , ev. 0,81902 g Oxalsäure oder 41,15%.

X. 0,7700 g Glutin bei der Behandlung mit HNO_3 und CaCl_2 gaben 0,1725 g CaO , ev. 0,2773 g Oxalsäure oder 36,0%.

XI. 0,5066 g Glutin bei der Behandlung mit HNO_3 und CaCl_2 gaben 0,0895 g CaO , ev. 0,14403 g Oxalsäure oder 28,43%.

XII. 2,0970 g Glutin wurden mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft. Filtrate wurden stets abgedampft und nochmals mit HNO_3 bearbeitet. Zweite und fernere Oxydationen waren also in Gegenwart von Chlor ausgeführt.

Erste Oxydation	ergab	0,0216 g	CaO,
Zweite	„	0,0970 g	„
Dritte	„	0,0427 g	„
Vierte	„	0,4250 g	„
Fünfte	„	0,0230 g	„

Im ganzen bekommt man 0,6093 g CaO, ev. 0,97945 g Oxalsäure oder 46,70% derselben.

XIII. 1,8443 g Glutin, mit HNO_3 und MgSO_4 behandelt, gaben 0,2059 g CaO oder 17,91% Oxalsäure.

Die Oxalsäurebildung ist also durch die Anwesenheit von Kalk- ev. Magnesiumsalzen bedingt; sie wird aber durch Chlorentwicklung mächtig befördert. Thioglutan gibt beim Abdampfen mit HNO_3 die Oxalsäure nur aus dem Grunde, weil es kalkhaltig ist. Wenn man zum Thioglutan noch weitere Mengen Kalksalze hinzusetzt, so erhält man auch eine größere Oxalsäureausbeute.

XIV. 1,8562 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,3080 g CaO oder 26,67% Oxalsäure.

XV. 1,1261 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,1238 g BaO oder 16,15% Oxalsäure.

XVI. 1,3445 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,3505 g CaO oder 41,90% Oxalsäure.

XVII. 1,5280 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,3702 g CaO oder 39,34% Oxalsäure.

XVIII. 1,2905 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,2918 g CaO oder 36,35% Oxalsäure.

XIX. 1,6177 g Thioglutan mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abgedampft; man erhält 0,2670 g CaO oder 26,59% Oxalsäure.

XX. 1,3256 g Thioglutan mit HNO_3 abgedampft; man erhält 0,0340 g CaO oder 4,15% Oxalsäure.

Zu dem Filtrate war $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und HNO_3 zugesetzt; man erhält 0,1982 g CaO oder 24,03% Oxalsäure, insgesamt also 28,18%.

XXI. 1,9830 g Thioglutan. Erste Oxydation mit HNO_3 gab 0,2530 g CaO oder 21,01% Oxalsäure. Die Fällung ge-

schah mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung. Zweite Oxydation mit HNO_3 + $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ gab 0,1777 g CaO oder 15,41% Oxalsäure oder insgesamt 36,42%.

Die Menge der gebildeten Oxalsäure steigt bei der Behandlung des Thioglutans mit HNO_3 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$; sie kann bis 39,34% erreichen, anstatt 4 bis 12%, wenn man ohne Kalkzusatz abdampft. Chlorentwicklung spielt keine ausschlaggebende Rolle; man erhält die höheren Ausbeuten an Oxalsäure auch ohne Gegenwart von Chloriden. Bei der Behandlung des Tendokollagens mit HNO_3 wird die Oxalsäurebildung auch ohne Gegenwart von Kalksalzen beobachtet.

XXII. 0,8665 g Tendokollagen gaben 0,1740 g CaO oder 32,28% Oxalsäure.

XXIII. 0,8090 g Tendokollagen gaben 0,0670 g CaO oder 13,31% Oxalsäure.

XXIV. 0,9805 g Tendokollagen gaben 0,1560 g CaO oder 25,58% Oxalsäure.

XXV. 0,9320 g Tendokollagen gaben 0,0895 g CaO oder 15,43% Oxalsäure.

XXVI. 1,1892 g Tendokollagen gaben 0,1082 g CaO oder 14,62% Oxalsäure.

XXVII. 0,8400 g Tendokollagen, mit HNO_3 + CaCl_2 behandelt, gaben 0,0554 g CaO oder 10,60% Oxalsäure.

XXVIII. 1,1880 g Tendokollagen, mit HNO_3 + CaCl_2 behandelt, gaben 0,0826 g CaO oder 11,17% Oxalsäure.

Das Verhalten des Tendokollagens gegen Salpetersäure ist stark abweichend von dem des Glutins. Zusatz von Kalksalzen und Chlorgegenwart veranlassen keine größere Ausbeute.

Bedeutende Schwankungen in der Menge der gebildeten Oxalsäure sind bedingt einerseits durch die Zerstörbarkeit der entstandenen Oxalsäure, andererseits durch die kleine und ungleichmäßige Geschwindigkeit der Oxalsäurebildung. Wie schnell freie Oxalsäure durch HNO_3 angegriffen wird, zeigt folgender Versuch: 1,3051 g wasserfreier Oxalsäure (entsprechend 0,8120 g CaO) hinterlassen nach 3stündigem Erwärmen auf dem Wasserbade mit HNO_3 und Abdampfen einer 0,1040 g CaO entsprechenden Menge Oxalsäure, also nur etwa 12% von dem angewandten Gewicht. Es unterliegt keinem Zweifel, daß nur durch ihre kleine Bildungsgeschwindigkeit die Oxalsäure vor gänzlicher

Zersetzung bewahrt wird. Durch den Kalksalzzusatz wird die Bildungsgeschwindigkeit wesentlich beschleunigt, aber dabei wird die gebildete Oxalsäure mit Kalk gebunden und leistet der Zersetzung mehr Widerstand.

Bei unseren Versuchsbedingungen hatten wir aus Stärke 22,95 bis 25,67 und 27,24% Oxalsäure erhalten, d. h. nur gegen 8% des gesamten Kohlenstoffes wurde in Form von Oxalsäure wiedergefunden. Für die Cellulose war die höchste Ausbeute gegen 40%.

Um die tatsächliche Menge der Oxalsäure, welche sich überhaupt aus Kollainen bilden kann, zu ermitteln, war es erforderlich, ein anderes mehr schonendes Verfahren anzuwenden. Als solches erwies sich die Behandlung mit Kali bei 240°. Diese Temperatur ist am meisten für die Oxalsäure-Bildung und -Erhaltung günstig. Man erhält bekanntlich aus Cellulose¹⁾ bei dieser Versuchsanordnung Ausbeuten von mehr als 100% gegen 40% bei dem Salpetersäureverfahren.

Das Verhalten der Atzkalkalien gegen Proteinstoffe wurde von Nencki²⁾ untersucht. Er hatte aber das Alkali bei mehr als 240° (Schmelzen) angewandt und außerdem die Frage der Oxalsäurebildung nicht berührt. Von ihm wurde die Bildung von Fettsäuren, Indol und Skatol in sehr geringen Mengen nachgewiesen.

Ich habe zuerst die Widerstandsfähigkeit der Oxalsäure gegen Kali bei 240° nachgeprüft. Es wurden folgende Versuche angestellt:

0,1833 g Oxalsäure nach 18stündigem Erwärmen mit 5 g KHO bei 240° gaben 0,1768 g oder 97,95% wiedergefunden.

0,3666 g Oxalsäure nach 48stündigem Erwärmen mit 5 g KHO bei 240° gaben 0,3633 g oder 99,09% wiedergefunden.

0,1833 g Oxalsäure nach 48stündigem Erwärmen mit 5 g KHO bei 240° gaben 0,1786 g oder 99,22% wiedergefunden.

0,1833 g Oxalsäure nach 48stündigem Erwärmen mit 5 g KHO bei 240° gaben 0,1842 g oder 100% wiedergefunden.

¹⁾ Jahrb. d. chem. Technologie 1873, 428; 1882, 506; 1895, 547. D. R. P. Nr. 60233, 52491, 43345.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 7, 1593.

Es folgt daraus, daß die Zerstörbarkeit der Oxalsäure bei diesen Versuchsbedingungen nur eine geringe ist.

Die Behandlung des Glutins geschah folgenderweise: Eine abgewogene Substanzmenge (bei 150°, ev. an der Luft getrocknet) wurde in eine Auflösung von 5 g KHO in wenig Wasser gebracht, unter Erwärmen gelöst, 1/2 Stunde auf dem Wasserbade gehalten; dann in eine Platinschale übergeführt, eingedampft, bei 180° getrocknet und dann der Einwirkung der Hitze bei 240° in einem gut regulierbaren Trockenschranke unterworfen. Die Menge der gebildeten Oxalsäure war von der Dauer des Erhitzens abhängig. Die Bestimmung der Oxalsäure wurde in gewöhnlicher Weise in der Auflösung der Schmelze ausgeführt.

Nummer	Menge der Substanz in g	Erhitzungs-dauer in Std.	CaO in g	Oxalsäure in %
1	0,2240	3	0,1072	76,93
2	0,3557	3	0,1607	90,38
3	0,2168	3	0,1411	97,5
4	0,1683 *	3	0,0725	69,24
5	0,1682 *	3	0,0891	85,15
6	0,2003	6	0,1600	131,02
7	0,1989	6	0,1333	134,09
8	0,2500	6	0,1620	129,62
9	0,2340	6	0,1877	128,94
10	0,1680	6	0,1282	124,59
11	0,1649	6	0,1220	118,92
12	0,3923	6	0,3245	132,97
13	0,2066 *	6	0,1790	139,27
14	0,2404 *	6	0,1851	123,77
15	0,2992 *	6	0,2140	114,97
16	0,1881 *	6	0,1534	131,09
17	0,1972 *	6	0,1465	119,72
18	0,2483 *	9	0,1610	131,03
19	0,2206	9	0,1573	114,62
20	0,4011	9	0,2545	126,93
21	0,2988	12	0,2650	142,59
22	0,2002	12	0,1562	128,0
23	0,1157 *	12	0,0886	125,59
24	0,2314 *	12	0,1800	125,04
25	0,2205 *	15	0,1685	122,38
26	0,2180	18	0,1946	143,22
27	0,2475	21	0,2158	139,93
28	0,2113	24	0,1775	144,50
29	0,3054	27	0,2765	145,53
30	0,2739	30	0,2105	123,54
31	0,3029	36	0,2604	138,32
32	0,2644	45	0,2175	132,23
33	0,1851	60	0,1533	133,13
34	0,2944	0	0	0

Glutin.

Die Substanz wurde an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet. Die mit Stern (*) bezeichneten Versuche waren mit bei 150° getrockneter Substanz vorgenommen. Die Menge der gebildeten Oxalsäure ist auf die bei 150° getrocknete und aschefreie Substanz umgerechnet. (Wassergehalt 18,20%, Asche 1,84%, insgesamt durchschnittlich 20%.)

Lösen des Glutins in Kalilauge, Eindampfen und Trocknen bei 180° führt zu keiner Oxalsäurebildung. Erst bei 220 bis 240° fängt sie an. Das Maximum wird schon nach 6 Stunden erreicht, weiteres Erhitzen, sogar bis 60 Stunden, veranlaßt keine weitere Säurebildung und keine wesentliche Zersetzung der schon gebildeten Oxalsäure. Ein vorangegangenes Erhitzen des Glutins (auf 150° 6 Stunden lang) äußert sich nicht an der verlangsamten Geschwindigkeit der Oxalsäurebildung. Die höchste bisher erreichte Ausbeute war 146,90%, was 39,17% des gesamten Kohlenstoffs des Glutins ausmacht; 11% des Kohlenstoffs gehen dabei in der Form von durch Kali bei 240° nicht angreifbaren, nicht flüchtigen oder flüchtigen Verbindungen verloren. Unter den flüchtigen kohlenstoffhaltigen Stoffen wurden nur nach Geruch gewiß nur kleine, wenig in Betracht kommende Mengen von verschiedenen Stoffen konstatiert. Beim Lösen der Schmelze, wenn die Erhitzung nur 2 bis 3 Stunden gedauert hatte, wurde Skatolgeruch wahrgenommen, manchmal bei längerer Erhitzungsdauer Geruch nach Valeriansäure, welcher beim Ansäuern auftritt. Im Verlaufe des Erhitzens mit KHO bei 240° entwickeln sich Dämpfe, welche intensiv Fichtenspan röten (Pyrrol, Indol). Es handelt sich aber um äußerst geringe Spuren von Substanzen, so daß man auf ihre Kosten den verlorenen Kohlenstoffgehalt nicht zurückführen kann.

Die Bildung von Huminstoffen findet nur dann statt, wenn die Erhitzung nicht lange genug gedauert hatte; bei mehr als 3stündigem Erwärmen ist die Lösung der Schmelze völlig farblos.

Um die Frage zu entscheiden, ob der Kohlenstoffverlust nicht von Substanzen herrührt, welche durch Kali unangegriffen geblieben waren, habe ich die Säurespaltung vorausgeschickt. 23,4493 g Glutin (wasserfrei und aschefrei) waren in 500 ccm konzentrierter Salzsäure gelöst und 24 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Dann wurde die Lösung quantitativ in eine Porzellanschale übergeführt, bis zum Sirup eingedampft, nochmals wiederholt in Wasser gelöst und abgedampft. Die Lösung wurde schließlich auf 1 l aufgefüllt. 100 ccm dieser Lösung gaben nach dem Abdampfen und Trocknen des Rückstandes bei 150° 2,8640 g Trockensubstanz, anstatt 2,3449 g, welche angewandt waren.

Es findet also bei der Hydrolyse eine Gewichtszunahme gleich 0,5191 g oder 18,12% der Substanz statt. Diese Zunahme ist auf Kosten des aufgenommenen Wassers entstanden und kann natürlich zum Kohlenstoffgehalte keine Beziehung haben. 20 ccm der Lösung, entsprechend 0,4688 g des Glutins, wurden mit Zusatz von 5 g KHO in einer Platinschale abgedampft, getrocknet und bei 240° erhitzt. Nach 6stündiger Erhitzung erhält man 0,3220 g CaO oder 110,41% Oxalsäure. Abgewogene Substanzmengen des Glutins wurden mit konzentrierter HCl gekocht und dann mit KHO bei 240° behandelt.

0,2002 g des Glutins gaben nach 3stündigem Erhitzen bei 240° 0,1244 g CaO oder 99,44% Oxalsäure.

0,1772 g des Glutins gaben nach 15stündigem Erhitzen bei 240° 0,1685 g CaO oder 152,29% Oxalsäure.

0,2718 g des Glutins gaben nach 60stündigem Erhitzen bei 240° 0,2265 g CaO oder 133,59% Oxalsäure.

Die Hydrolyse des Glutins ruft keine Vermehrung der Oxalsäurebildung hervor. Der fünfte Teil des Kohlenstoffs befindet sich also in einer anderen Bindung im Molekül und ist unfähig, bei Oxydation Oxalsäure zu bilden, wie es $\frac{4}{5}$ des Kohlenstoffgehalts tun. Ähnliche Verhältnisse werden auch beim Thioglutan und Tendokollagen beobachtet.

Thioglutan.

Getrocknet bei 150°. Aschegehalt 4,98%. Aschefrei berechnet.

Nummer	Substanz in g	Erhitzungs- dauer in Std.	CaO in g	Oxalsäure in %
1	0,9828	1	0,1150	18,88
2	1,1086	1	0,1612	23,37
3	1,2628	3	0,2736	34,83
4	1,0100	6	0,2990	47,58
5	1,7035	9	0,6237	58,86
6	0,9920	12	0,5274	85,46
7	0,8850	21	0,7080	128,60
8	1,1929	24	0,9826	132,41
9	1,0660	24	0,8630	130,14
10	1,1249	24	0,9404	134,40
11	0,9411	30	0,7264	124,08

Beim Thioglutan ist die Bildungsgeschwindigkeit der Oxalsäure etwas geringer als beim Glutin. Beim Glutin wird das Maximum schon in 6 Stunden erreicht, während beim Thioglutan dazu über 20 Stunden erforderlich waren. Im Thioglutan werden 35,30% Kohlenstoff als Oxalsäure wiedergefunden und 14,70% werden auf andere Weise gebunden.

Tendokollagen.

Getrocknet bei 150°. Asche 0,37%. Aschefrei berechnet.

Nummer	Substanz in g	Erhitzungs- dauer in Std.	CaO in g	Oxalsäure in %
1	1,0515	1	0,1090	16,67
2	0,6570	3	0,1520	37,19
3	0,8047	6	0,5332	106,50
4	0,3774	6	0,2874	122,42
5	0,4186	6	0,3178	122,04
6	0,2800	6	0,1897	108,90
7	0,2594	12	0,1878	116,38
8	0,2570	12	0,1994	124,73
9	0,8530	24	0,6600	124,38
10	0,8735	24	0,7702	141,70
11	0,9094	24	0,8220	145,30

Die Geschwindigkeit der Oxalsäurebildung bei Tendokollagen ist nur unbedeutend kleiner als beim Glutin. Sie erreicht nach 6 Stunden 122,4% anstatt 134,1% beim Glutin. Das Maximum nach 24 Stunden erreicht 145,3% Oxalsäure, was 38,75% C entspricht.

Bei Stärke haben wir nach 24stündigem Erhitzen bei 240° mit KHO 123,85% Oxalsäure erhalten, d. h. nur 33,26% des Kohlenstoffs anstatt 44,4%. Bei Kalibehandlung der Stärke werden etwa 75% des Kohlenstoffs in Form von Oxalsäure gefunden, bei Kollainen gegen 80%. Die fehlende Menge des Kohlenstoffs wird allem Anschein nach größtenteils als Kohlensäure ausgeschieden, und nur ein sehr kleiner Anteil kann auf die flüchtigen organischen Verbindungen verteilt werden.

Die Zersetzung der Kohlenhydrate mit Kali bei 240° kommt unter Wasserstoffentwicklung zustande. Kollaine werden dabei in Oxalsäure und Ammoniak zerlegt. Bei dem Kochen des Glutins mit stärkeren Kalilösungen scheidet sich nur ein kleiner Teil des Stickstoffs in Form von Ammoniak aus, etwa 2,5%; der übrige Teil entwickelt sich nicht beim Erwärmen, Abdampfen und Trocknen der Kalilösung. Nur beim Erhitzen bei 220 bis 240° fängt Ammoniak an, sich wieder auszuschcheiden, parallel mit Oxalsäurebildung. Nach 12 Stunden entwickelt sich Ammoniak nur in Spuren, nach 18 Stunden ist schon keine weitere Ammoniakausscheidung zu beobachten. Das Filtrat von Calciumoxalat nach 24stündigem Erhitzen des Glutins enthielt keinen Stickstoff und keine organische Substanz mehr.

Im Kollainmolekül befindet sich Stickstoff in zweifacher Bindungsart; ein kleiner lockerer Teil kann leicht durch Alkalien in Form von Ammoniak verdrängt werden, ein größerer Teil befindet sich in einem kondensierten Kern fest eingeschaltet und kann durch Alkali bei 240° als NH_3 abgespalten werden.

Diese Zerlegung des Moleküls in Oxalsäure und NH_3 durch Erhitzung mit KHO bei 240° zeigen außer Kollainen auch Proteinstoffe. Die Verhältnisse dabei sind so mit den bei Kohlenhydraten beobachteten Verhältnissen ähnlich, daß man sie kaum als zufällige Übereinstimmung betrachten kann, vielmehr hat dieser Umstand in gewisser Gemeinschaft dieser Körper seinen Grund.

Nähere Untersuchung der Bildungsgeschwindigkeit der Oxalsäure wird uns vielleicht ein Mittel an die Hand geben, verschiedene Grade des Kondensationszustandes in Proteinen zu unterscheiden.

Über die Wirkung des Arsens auf die Autolyse.

Von

Guido Izar.

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der
K. Universität Pavia.)

(Eingegangen am 22. Juli 1909.)

In einer früheren Arbeit (1) wurde gezeigt, daß das kolloidale Arsentrisulfid in geringen Mengen eine beschleunigende, in stärkeren eine hemmende Wirkung auf die Leberautolyse entfaltet. Nach den Untersuchungen von Laqueur (2), Heß und Saxl (3) rufen arsenigsaure Salze Hemmung der Autolyse hervor. Es würden also kolloidales Arsentrisulfid und arsenigsaure Salze ein voneinander abweichendes Verhalten bieten.

Es erschien uns dieser Umstand deshalb auffallend, weil aus den ausgedehnten Untersuchungen dieses Institutes (4) eine ziemlich weitgehende Übereinstimmung in der Wirkung von Kolloiden und Salzlösungen auf die Autolyse zutage getreten ist, und wir nahmen uns vor, die Beeinflussung der Autolyse durch As-Salze einer erneuten Prüfung zu unterziehen.

Folgende Salze wurden untersucht: As_2O_3 , Na_2HAsO_3 , K_2HAsO_3 , CaHAsO_3 , AsH_3O_4 , K_2AsO_4 , Na_2AsO_4 , $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$, AsCl_3 , AsBr_3 , AsJ_3 . Die in destilliertem Wasser unlöslichen Salze wurden in HCl-Lösungen der verzeichneten Konzentrationen aufgelöst.

Was die technischen Einzelheiten anbelangt, verweisen wir auf unsere früheren Mitteilungen (5). Zur Enteiweißung wurde nach Embden und Knopp der Leberaufschwemmung 1% saures Kaliumphosphat hinzugesetzt und dieselben 5' gekocht.

Tabelle I.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
H ₂ O ccm	$\frac{n}{200}$ As ₂ O ₃ - Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	109
250	—	—	224
249	1	0,75	246
245	5	3,75	531
240	10	7,50	308
235	15	11,25	330
225	25	18,75	318
200	50	37,50	227
175	75	56,25	153
150	100	75,00	163

1) Kontrollprobe.

Tabelle II.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
H ₂ O ccm	$\frac{n}{2000}$ As ₂ O ₃ - Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	101
250	—	—	236
249	1	0,075	223
245	5	0,375	227
240	10	0,75	313
225	25	1,875	384
200	50	3,75	395
175	75	5,625	363
150	100	7,5	250
125	125	9,375	213
100	150	11,25	205

1) Kontrollprobe.

Tabelle III.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
H ₂ O ccm	$\frac{n}{1000}$ Na ₂ HAsO ₃ - Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	88
250	—	—	149
249	1	0,075	160
245	5	0,375	157
240	10	0,75	168
225	25	1,875	186
200	50	3,75	289
175	75	5,625	247
150	100	7,5	232
125	125	9,375	195
100	150	11,25	157

1) Kontrollprobe.

Tabelle IV.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
H ₂ O ccm	$\frac{n}{1000}$ K ₂ HAsO ₃ - Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	103
250	—	—	221
249	1	0,075	223
245	5	0,375	215
240	10	0,75	316
225	25	1,875	349
200	50	3,75	338
175	75	5,625	290
150	100	7,5	241
125	125	9,375	226
100	150	11,25	193

1) Kontrollprobe.

Tabelle V.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N
H ₂ O	ⁿ /1000 CaHAsO ₃ - Lösung	As- Gehalt	
ccm	ccm	mg	mg
250 ¹⁾	—	—	101
250	—	—	177
249	1	0,075	182
240	10	0,75	205
200	50	3,75	219
150	100	7,5	240
—	250	18,75	152

¹⁾ Kontrollprobe.

Tabelle VI.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N
H ₂ O	ⁿ /1000 AsH ₂ O ₃ - Lösung	As- Gehalt	
ccm	ccm	mg	mg
250 ¹⁾	—	—	83
250	—	—	178
249	1	0,075	185
245	5	0,375	210
240	10	0,75	237
225	25	1,875	316
200	50	3,75	168
175	75	5,625	174
150	100	7,5	170
125	125	9,375	171
100	150	11,25	160

¹⁾ Kontrollprobe.

Tabelle VII.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N
H ₂ O	ⁿ /1000 Na ₂ AsO ₄ - Lösung	As- Gehalt	
ccm	ccm	mg	mg
250 ¹⁾	—	—	101
250	—	—	219
249	1	0,075	345
245	5	0,375	399
240	10	0,75	315
225	25	1,875	364
200	50	3,75	387
175	75	5,625	307
150	100	7,5	274
125	125	9,375	318
100	150	11,25	307

¹⁾ Kontrollprobe.

Tabelle VIII.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N
H ₂ O	ⁿ /1000 K ₂ AsO ₄ - Lösung	As- Gehalt	
ccm	ccm	mg	mg
250 ¹⁾	—	—	103
250	—	—	239
249	1	0,075	381
245	5	0,375	449
240	10	0,75	425
225	25	1,875	393
200	50	3,75	—
175	75	5,625	442
150	100	7,5	401
125	125	9,375	280
100	150	11,25	301

¹⁾ Kontrollprobe.

Tabelle IX.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
$\frac{2}{200}$ HCl- Lösung ccm	$\frac{2}{5000}$ $\text{Ca}_2(\text{AsO}_4)_2$ - ²⁾ Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	101
250	—	—	177
249	1	0,075	183
240	10	0,75	202
200	50	3,75	194
150	100	7,5	231
—	250	18,75	282

1) Kontrollprobe.

2) In $\frac{2}{200}$ HCl-Lösung gelöst.

Tabelle X.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
$\frac{2}{10000}$ HCl- Lösung ccm	$\frac{2}{1000}$ AsCl_3 - ²⁾ Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	101
250	—	—	177
249	1	0,075	200
240	10	0,75	196
200	50	3,75	215
150	100	7,5	238
—	250	18,75	238

1) Kontrollprobe.

2) In $\frac{2}{10000}$ HCl-Lösung gelöst.

Tabelle XI.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
$\frac{2}{5000}$ HCl- Lösung ccm	$\frac{2}{1000}$ AsBr_3 - ²⁾ Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	129
250	—	—	268
249	1	0,075	288
245	5	0,375	286
240	10	0,75	354
225	25	1,875	268
200	50	3,75	286
150	100	7,5	223
100	150	11,25	241
—	250	18,75	286

1) Kontrollprobe.

2) In $\frac{2}{5000}$ HCl-Lösung gelöst.

Tabelle XII.

72stündige Autolyse von 25 g Leberbrei bei Zusatz von:			Ge- samt-N mg
H_2O ccm	$\frac{2}{1000}$ AsJ_3 - Lösung ccm	As- Gehalt mg	
250 ¹⁾	—	—	87
250	—	—	193
249	1	0,075	232
245	5	0,375	240
240	10	0,75	286
225	25	1,875	197
200	50	3,75	206
150	100	7,5	209
100	150	11,25	209
—	250	18,75	185

1) Kontrollprobe.

Wie aus den Tabellen hervorgeht, beschleunigen alle geprüften As-Salze die Autolyse, sofern sie in geringen Mengen hinzugesetzt werden; in größeren Mengen hemmen sie. Die geringste eben noch begünstigende Menge beträgt 0,75 mg As pro 250 g 10% Leberaufschwemmung: die geringste hemmende Dosis beläuft sich, unter denselben Versuchsbedingungen, auf 11 bis 18 mg.

Entsprechend den mit Ag-Salzen gemachten Erfahrungen, ruft der Zusatz steigender Mengen As-Salze nicht eine entsprechende progressive Zunahme des nicht koagulierbaren N hervor,

wie es sich für das kolloidale Arsentrisulfid und Silber ergeben hat; ebensowenig bewirken, nachdem die das Optimum der Beschleunigung darstellende Menge As erreicht ist, größere Mengen eine allmähliche Abnahme des unkoagulierbaren N. Statt dessen begegnen wir sowohl im auf als im ab steigenden Kurvenschenkel unregelmäßigen Schwankungen.

Vergleichen wir die zur Hemmung nötigen Mengen, so ergibt sich, daß die verzögernde Wirkung den As-Salzen in bedeutend stärkerem Maße zukommt als dem Kolloide. Während zur Beschleunigung der Autolyse in beiden Fällen ungefähr gleiche Mengen As nötig sind, beträgt die zur Hemmung erforderliche Menge kolloidalen Arsentrisulfids ein vielfaches der dazu genügenden Mengen von Arsensalzen. Diese Tatsache bildet das Gegenstück zur Beobachtung von Foa und Aggazzotti (6), daß die Giftigkeit des kolloidalen Arsentrisulfids beträchtlich hinter jener der löslichen As-Salze zurückbleibt.

Unsere Befunde widersprechen also zum Teil den von Heß und Saxl erhobenen. Berücksichtigen wir aber die Menge von As-Salzen, welche von den erwähnten Autoren verwendet wurden, so stellt sich heraus, daß der Gegensatz nur ein scheinbarer ist. Heß und Saxl experimentierten nämlich immer mit solchen Dosen von As-Salzen, welche die zur Aktivierung der Autolyse erforderlichen bedeutend übertreffen, und konnten folglich nur Hemmung beobachten. Laqueur bringt zwar einen Versuch, in welchem eine äußerst geringe As-Menge verwendet wurde; dieselbe ist aber viel geringer als die zur Beschleunigung erforderliche Dosis, so daß natürlich der aktivierende Effekt nicht zutage treten konnte.

Das As besitzt demnach nicht allein eine spezifische hemmende Wirkung auf den autolytischen Prozeß, sondern je nach der herangezogenen Menge eine beschleunigende resp. verzögernde Wirkung; geringe Mengen As bewirken die erste, größere die zweite Erscheinung.

Literatur.

1. M. Ascoli und Izar, diese Zeitschr. 6, 1907. — G. Izar, daselbst, 17, 1909.
2. E. Laqueur, Schriften der Physik. Ökonom. Gesellsch. zu Königsberg i. Pr. 1908.
3. L. Heß und P. Saxl, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1908.
4. L. Preti, Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 1909. — G. Izar, diese Zeitschr. 1909.
5. G. Izar, diese Zeitschr. 17, 1909.
6. C. Foa und A. Aggazzotti, Atti della R. Academia di Medicina di Torino 1907, Nota V.

Die photodynamische Wirkung der Auszüge etiologierter Pflanzenteile.

Von

Walther Hausmann und L. v. Portheim.

(Aus dem physiologischen Institute der Hochschule für Bodenkultur und der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 24. Juli 1909.)

Die Untersuchungen über die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenteile hatten ergeben, daß methylalkoholische Auszüge chlorophyllhaltiger Pflanzen deutlich sensibilisierend auf rote Blutkörperchen und auf Paramaecien einwirken. Versetzte man Emulsionen von Erythrocyten mit solchen vorsichtig neutralisierten Extrakten, so trat bei starker Belichtung Hämolyse ein, die im Dunkeln auch bei viel höherer Konzentration ausblieb.¹⁾ Zu denselben Resultaten führten Versuche mit Paramaecien, die bei Zusatz chlorophyllhaltiger Pflanzenauszüge im Lichte verendeten, während sie im Dunkeln lange Zeit ungeschädigt blieben.²⁾

Es wurde in der ersten Mitteilung des einen von uns schon darauf hingewiesen, daß jedenfalls das intensiv fluoreszierende Chlorophyll an dieser Wirkung beteiligt sei. Durch Verwendung krystallisierten Chlorophylls von Willstaetter konnte in der Tat der Beweis erbracht werden, daß das Chlorophyll zum mindesten eine der Substanzen darstelle, welche die photodynamische Wirkung der untersuchten Pflanzenauszüge hervor-

¹⁾ W. Hausmann, Die photodynamische Wirkung chlorophyllhaltiger Pflanzenextrakte. Diese Zeitschr. 12, 331, 1908.

²⁾ W. Hausmann und W. Kolmer, Die sensibilisierende Wirkung pflanzlicher und tierischer Farbstoffe auf Paramaecien. Diese Zeitschr. 15, 12, 1908.

ruft.¹⁾ Gewiß war bei Verwendung der methylalkoholischen Pflanzenauszüge und auch des krystallisierten Chlorophylls keine völlige Sicherheit darüber zu gewinnen, daß ein derartiges Chlorophyll untersucht worden war, wie es in der lebenden Pflanze selbst vorliegt, wenn dies überhaupt je möglich sein wird.

Sichergestellt ist jedoch, daß der grüne fluoreszierende Anteil der Pflanzenauszüge zum mindesten einen der Träger der beschriebenen Wirkung darstellt, daß er an sich imstande ist, die photodynamische Wirkung auszuüben.²⁾

Krystallisiertes Chlorophyll wirkte ungemein stark sensibilisierend auf rote Blutkörperchen und auf Paramaecien ein, diese Wirkung war selbst im diffusen Tageslichte trüber Dezemberstage zu konstatieren.

In der vorletzten Mitteilung des einen von uns wurde der Nachweis versucht, daß Chlorophyll, nach Art der photodynamischen Sensibilisatoren wirkend, die CO₂-Assimilation grüner Pflanzen im Lichte anrege, auch wurde die Möglichkeit, daß andere Sensibilisatoren neben Chlorophyll vorhanden seien, besprochen. Hierbei muß immer wieder auf Pfeffers³⁾ Bemerkung hingewiesen werden: „Zu tadeln ist es immer, wenn sich, wie es oft der Fall war, alle Aufmerksamkeit auf das durch die Farbe auffallende Chlorophyll konzentriert, das doch nur ein im Aufbau und im Getriebe des Chloroplasten mitwirkender Teil ist.“ Es ist nun sehr wohl möglich, daß neben Chlorophyll in der Pflanze auch im Chlorophyllkorne weitere Substanzen vorkommen können, die ebenso Licht übertragend wirken wie Chlorophyll, wengleich sie noch andere Aufgaben haben.

Daß solche Sensibilisatoren nebeneinander zu existieren vermögen, ohne direkt gemischt zu sein, ist sehr wohl möglich, wenn wir Hofmeisters⁴⁾ Vorstellung von der räumlichen Trennung verschiedener Fermente in ein und derselben Zelle

¹⁾ W. Hausmann, Die photodynamische Wirkung des Chlorophylls und ihre Beziehung zur photosynthetischen Assimilation der Pflanze. Diese Zeitschr. 16, 294, 1909 und Jahrb. f. wiss. Botan. 46, 599, 1909.

²⁾ W. Hausmann, l. c. 3, 300 und 607.

³⁾ W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1, 340, 1897.

⁴⁾ F. Hofmeister, Die chemische Organisation der Zelle. Braunschweig 1902.

auch auf dieses Gebiet übertragen. Es wäre möglich, daß Sensibilisatoren in verschiedenen Teilen des Chloroplasten nebeneinander verschiedene Funktionen zukämen. Doch ist es auch ohne weiters denkbar, daß räumlich nicht getrennte Energieüberträger in diesem Sinne voneinander auch unabhängig zu wirken imstande wären, vorausgesetzt, daß sie in Strahlen verschiedener Wellenlänge wirken.

In der vorliegenden Mitteilung soll ein weiterer Beitrag über das Vorkommen von Sensibilisatoren in Pflanzen geliefert werden, und zwar über das Verhalten etiolierter Pflanzenteile in photodynamischer Beziehung. Wirkten alkoholische Extrakte etiolierter Pflanzenteile nicht auf rote Blutkörperchen bei gleichzeitiger Belichtung, so war damit der Nachweis erbracht, daß sie keinen fluoreszierenden Lichtüberträger nach Art der Tappainerschen Sensibilisatoren enthielten. Allerdings wäre hier auch an hemmende Beimengungen zu denken gewesen. Viel wahrscheinlicher jedoch war es, daß eine solche Wirkung vorhanden war, da eine Reihe von Autoren fluoreszierende Farbstoffe in etiolierten Pflanzenteilen nachgewiesen haben.

In der ersten Mitteilung des einen von uns¹⁾ waren schon Untersuchungen an etiolierten Pflanzenteilen folgendermaßen beschrieben worden: „Versuche, die ich mit etioliertem Pflanzenmaterial anstellte, ergaben bisher keine eindeutigen Resultate. Es wirkte in einigen Fällen, in anderen nicht. Wahrscheinlich hat es sich hier um Protochlorophyll gehandelt.“ Diese Untersuchungen wurden nunmehr an größerem Materiale durchgeführt.

Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt: Samen verschiedener Pflanzen wurden auf Unterlagen von grauem Filtrierpapier im Dunkeln keimen gelassen. Ganz besonders wurde darauf geachtet, daß kein Licht zu den keimenden Pflanzen Zutritt hatte. Dieselben befanden sich in der vor jedem Lichtstrahl geschützten Dunkelkammer der biologischen Versuchsanstalt unter einem Holzsturze. Das Begießen wurde bei völliger Dunkelheit vorgenommen. Die etiolierten Pflanzen, über deren Höhe wir uns durch Betasten orientierten, wurden im Dunkeln abgeschnitten, in mehrfacher Umhüllung grauen

¹⁾ W. Hausmann, l. c. 1, 333.

Filtrierpapiers gewogen, sodann wieder im Dunkeln in einer Reibschale verrieben und deren Extrakt ebenfalls bei Lichtabschluß filtriert. Als Extraktionsmittel wurde reinster Methylalkohol (Kahlbaum) verwendet, dessen relativ geringe hämolytische Wirkung schon so oft hervorgehoben wurde. Erst die methylalkoholischen Extrakte der etiolierten Pflanzen wurden dem Lichte ausgesetzt. Eine Lichtwirkung auf die Versuchsobjekte, welche zur Bildung einer etwa wirksamen Substanz hätte Veranlassung geben können, ist demnach vollkommen ausgeschlossen. Es handelt sich in den nachstehenden Versuchen daher um Extrakte von solchen Pflanzen, die bei völligem Lichtabschluß gewachsen und verarbeitet waren.

Am Anfange unserer Untersuchungen bekamen wir ebenso wechselnde Resultate wie früher. Dies lag daran, daß die im Dunkeln verriebenen Pflanzen ursprünglich nicht genügend extrahiert worden waren. Auch wirken die farblosen Stengelextrakte fast gar nicht, und wenn, wie dies bei etiolierten dikotylen Pflanzen meist der Fall ist, die Entwicklung der Blätter hinter der der Stengel ungemein weit zurückbleibt, so kann leicht ein Resultat erhalten werden, welches, da nur wenig Blattsubstanz verwendet war, zu fehlerhaften negativen Resultaten führt.

Wir können jedoch mit völliger Sicherheit bemerken, daß alle methylalkoholischen Auszüge der von uns untersuchten etiolierten Blätter deutlich photodynamisch auf Suspensionen gewaschener, roter Blutkörperchen wirkten, sobald sie auch nur einigermaßen deutlich gelb gefärbt waren.

Die Versuche wurden ausgeführt mit Auszügen von *Zea Mays*, *Avena sativa*, *Triticum sativum*, *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* und *Phaseolus multiflorus*.

Nachstehend seien aus der großen Zahl der Versuche nur einige wenige mitgeteilt.

I. Versuche mit Auszügen von *Triticum*.

Im Dunkeln gewachsene, 12 Tage alte, etiolierte Keimlinge von *Triticum sativum* wurden abgeschnitten, mit Methylalkohol verrieben und filtriert. Diese Operationen wurden bei

vollkommenem Lichtabschlusse durchgeführt. Die Keimlinge wurden mit Methylalkohol im Verhältnis 1:2 ausgezogen; zur Kontrolle wurden, wie bei allen Versuchen, grüne am selben Tage angekeimte Pflanzen verwendet und mit Methylalkohol (1:3) extrahiert. Die Auszüge wurden nach dem Filtrieren vorsichtig mit methylalkoholischer Natronlauge neutralisiert, was besonders bei den etiolierten Pflanzen sehr notwendig war. Als Blutkörperchensuspension diente eine 1- bis 2^o/_oige Aufschwemmung 4 mal gewaschener roter Blutkörperchen vom Kaninchen. Die Extrakte wurden in steigender Menge zugesetzt, die Proben nach dem Zusetzen geteilt, der eine Teil belichtet, der andere dunkel gehalten. Die Belichtung erfolgte im Sonnenlicht unter Wasserkühlung. Kontrollen mit Methylalkohol wurden aufgestellt.

Menge des Extraktes in cem	Menge d. Blut- körperchen- suspension in cem	Bemerkung.			
		Etiolierter Weizen im Licht	Grüner Weizen im Licht	im Dun- keln	im Dun- keln
0,1	5	Keine Hämolyse nach 1 Stunde		Nach 1 Stunde komplette Hämolyse	
0,3	5	Deutliche Hämolyse nach 1 Stunde	Hämolyse	Nach 1/2 Stunde komplette Hämolyse	Hämolyse
0,5	5	Komplette Hämolyse nach 1 Stunde	Keine Hämolyse	Nach 20 Min. komplette Hämolyse	Keine Hämolyse

Die Kontrollen mit Methylalkohol allein waren negativ.

II. Versuche mit Auszügen von Zea Mays.

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie oben. Keimlinge: 16 Tage alt. Verdünnung der etiolierten und grünen Pflanzenauszüge: 1:4. Der Extrakt der etiolierten Pflanzen war deutlich gelblich-grün gefärbt.

Sodann möge noch betont sein, daß der Auszug von etiolierten Pisumkeimlingen mit besonders stark reduzierten Blättern, der ganz farblos war, aus dem bereits oben beschriebenen Grunde (S. 54) nicht wirkte, und daß die nur schwach gelben Extrakte etiolierter Stengel von Phaseolus vulgaris viel

schwächer wirkten, als der deutlich gelbe Auszug der Blätter desselben Exemplares.

Menge des Extraktes in com	Menge d. Blutkörperchen-suspension in com	Bemerkung.			
		Etiolierter Mais		Grüner Mais	
		im Licht	im Dunkeln	im Licht	im Dunkeln
0,1	5	Deutliche Hämolyse nach 1 Std.	Keine Hämolyse	Komplette Hämolyse nach 1 Std.	Keine Hämolyse
0,3	5	Komplette Hämolyse nach 45 Minuten		Komplette Hämolyse nach 15 Minuten	
0,5	5	Komplette Hämolyse nach 30 Minuten		Komplette Hämolyse nach 10 Minuten	

Die eben mitgeteilten Versuche haben demnach ergeben, daß die methyalkoholischen Auszüge der Blätter etiolierter Pflanzen photodynamisch auf rote Blutkörperchen zu wirken vermögen. Dieser Befund sagt uns, daß diese von uns untersuchten etiolierten Pflanzen einen methyalkohollöslichen, fluoreszierenden Farbstoff enthalten; er besagt weiter, daß etiolierte Pflanzenblätter sensibilisiert erscheinen, d. h. sie enthalten eine Substanz, die imstande ist, die strahlende Energie des Lichtes in eine andere Energieform umzusetzen.

Es ist nun die Frage, ob diese photodynamische Wirkung auf Spuren von Chlorophyll zurückzuführen ist. Spektroskopisch ließ sich in den von uns untersuchten Auszügen etiolierter Pflanzen kein Chlorophyll, auch nicht in sehr dicker Schichte, nachweisen,¹⁾ doch wäre es ja möglich, und dies wird zu untersuchen sein, ob nicht die sensibilisierende Wirkung noch auftreten kann, wenn zu große Verdünnung den spektroskopischen Nachweis nicht mehr ermöglicht. Die Wirkung dieser Pflanzenextrakte war ja viel schwächer als die der grünen Auszüge, doch scheint es uns vollkommen ausgeschlossen, Auszüge pflanzlicher und auch tierischer Organe quantitativ in bezug auf die photodynamische Wirkung zu vergleichen. Es ist dies

¹⁾ Herrn Priv. Doz. Dr. E. Haschek, Assistenten am II. physikalischen Institute der Wiener Universität, sei an dieser Stelle für die Hilfe, welche er uns bei diesen Untersuchungen zuteil werden ließ, der herzlichste Dank ausgesprochen.

deshalb unmöglich, da solche Extrakte immer Körper enthalten oder enthalten können, welche die Blutkörperchen resp. Paramaecien gegen die Wirkung photodynamischer Substanzen schützen. Hier kommen in erster Linie Eiweißkörper [Busk¹⁾], bei den Pflanzen vielleicht auch Gerbstoffe in Betracht. So konnte gezeigt werden, daß die intensiv gefärbten Extrakte grüner Pflanzen ungleich schwächer photodynamisch wirkten als kaum sichtbar tingierte Lösungen des Willstätterschen kristallisierten Chlorophylls.²⁾

Wir haben es nun derzeit nicht in der Hand, zu bestimmen, ob und wieviel solcher hemmender Stoffe in den zu untersuchenden Auszügen vorhanden sind. Hierzu kommt noch, daß eine Abschwächung der Wirkung durch Herabsetzung der Fluorescenz durch Beimengungen erfolgen kann. Es ist demnach möglich, daß die photodynamische Wirkung eines Auszuges sehr gering sein kann, daß trotzdem aber die betreffende Substanz stark wirksam wäre. Auch könnte umgekehrt durch Stoffe, welche die Blutkörperchen schädigen, eine stärkere photodynamische Wirkung, als sie in der Tat vorhanden ist, vorgetäuscht werden.

Wir können demnach bei Vergleich solcher sensibilisierend wirkender Auszüge nie quantitativ verfahren; eine direkte Nebeneinanderstellung solcher Wirkungen ist nur bei völlig rein vorliegenden Körpern möglich.

Bisher sind wir infolgedessen nur in der Lage, mit voller Sicherheit aussagen zu können, daß die Extrakte der etiologierten Pflanzen einen fluorescierenden, im Lichte wirksamen Sensibilisator enthalten.

Die Beobachtung eines fluorescierenden Farbstoffes in den Auszügen etiologierter Pflanzenteile ist schon öfters gemacht worden.³⁾

¹⁾ G. Busk, Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweißverbindungen. Diese Zeitschr. 1, 425, 1906.

²⁾ W. Hausmann, l. c. 3.

³⁾ F. G. Kohl, Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Leipzig 1902. — C. Timiriazeff, La protophylline naturelle et la protophylline artificielle. Compt. rend. des séances de l'academie des sciences 1895, 467. — Monteverde, Acta horti Petropolitani. 13, 201, 1894; zitiert nach F. Czapek. Bio-

Auf den Zusammenhang zwischen der hier nachgewiesenen Wirkung mit der Annahme von der photodynamischen Wirkung im Chlorophyllkorn soll später eingegangen werden.

Heute sei nur betont, daß möglicherweise der von uns gefundene Sensibilisator eine Aufgabe beim Ergrünen der Pflanze zu leisten hat, ganz besonders im Hinblick auf die ungemein geringen Lichtintensitäten, die hier in Frage kommen.

chemie der Pflanzen 1, 466, 1905. — K. Mikosch und A. Stöhr, Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die Chlorophyllbildung bei intermittierender Beleuchtung. Sitzungsber. d. Wien. Akad. 82, I. Abt., 269, 274, 1880. — H. Greilach, Spektralanalytische Untersuchungen über d. Entstehung d. Chlorophylls in der Pflanze. Sitzungsber. d. Wien. Akad. 113, I. Abt., 121, 163, 1904.

Über die Beeinflussung der Giftwirkung des Chinins auf *Elodea canadensis* durch Salze.

Von

M. v. Eisler und L. v. Porthelm.

(Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute und der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 24. Juli 1909.)

Pfeffer¹⁾ spricht sich über die Beeinflussung giftig wirkender Substanzen durch andere Stoffe in seiner Physiologie in folgender Weise aus:

„Wie weit . . . in gegebenen Fällen durch die physiologische Wirkung eines Stoffes die Eigenschaften (Stimmung) einer Pflanze derart verändert werden, daß die Empfindlichkeit gegen ein bestimmtes Gift gesteigert oder vermindert wird, ist noch nicht näher untersucht.“

Inzwischen sind auf zoologischem, bakteriologischem und botanischem Gebiete²⁾ zahlreiche diesbezügliche Beobachtungen gemacht worden, ohne daß die Ursache dieser Erscheinung mit Sicherheit ergründet worden wäre. Alle bisher ausgesprochenen Ansichten und Hypothesen bedürfen einer genauen Nachprüfung und vielfacher Ergänzung.

¹⁾ W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie 2, 336, 1904.

²⁾ F. Czapek, Biochemie der Pflanzen 2, 1905. — L. v. Porthelm u. M. Samec, Über die Verbreitung der unentbehrlichen anorganischen Nährstoffe in den Keimlingen von *Phaseolus vulgaris* II. Flora oder Allgem. botan. Zeitg. 99, H. 3, 1909. — M. v. Eisler, Über den Einfluß von Salzen und Nichtelektrolyten auf die Wirkung von lytischen Giften. Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experim. Ther. 2, H. 2, 1909. Derselbe, Über Wirkungen von Salzen auf Bakterien. Centralbl. f. Bakt. Orig. 1909. In dem Czapekschen Werke und in den drei Abhandlungen ist die diesbezügliche Literatur angegeben.

Der eine¹⁾ von uns hat in der letzten Zeit Untersuchungen über die Beeinflussung der Giftwirkung verschiedener Stoffe durch Salze bei Blutkörperchen und Bakterien angestellt. Zur Vervollständigung wollen wir nun diese Erscheinung auch bei pflanzlichen Zellen beobachten und unsere Aufmerksamkeit hauptsächlich jenen eventuellen Unterschieden zuwenden, welche vielleicht durch die Verschiedenheit der Membranen bedingt sind. In dieser Abhandlung soll nun über einen speziellen Fall berichtet werden.

Da die Entgiftung anorganischer Salze, insbesondere der als Nährstoffe dienenden Salze, durch andere Stoffe bereits des öfteren untersucht wurde, wählten wir diesmal zu unseren ersten Untersuchungen die Frage über die Beziehungen verschiedener Salze zur giftigen Wirkung organischer Substanzen auf Pflanzen, die bisher vernachlässigt worden ist.

Vor allem mußten wir für unsere Versuche eine Pflanze wählen, bei der die Giftwirkung besonders charakteristische Erscheinungen zur Folge hat, so daß dieselben leicht und schnell wahrnehmbar sind.

Versuche mit Algen (*Cladophora* sp.) hatten uns gelehrt, daß die Vergiftungserscheinungen nicht immer präzise festgestellt werden können.

Eine schnelle Wahrnehmbarkeit dieser Symptome war aber erforderlich, da sich bei unseren Versuchen die Wirkung der verschiedenen Gifte oft nur in ganz kurzen Zeitintervallen bemerkbar machte.

Als sehr brauchbares und zu jeder Zeit erhältliches Material erwies sich *Elodea canadensis*, bei der die Sistierung oder Nichtbehinderung der Plasmabewegung in den Zellen der losgelösten Blätter ein willkommenes, deutliches Merkmal bot.

Die Blätter wurden mit der Pinzette vom Stengel losgelöst, in destilliertes Wasser gelegt und im Licht oder Dunkeln so lange darin belassen, bis eine deutliche Rotation in den Zellen, mindestens in denen der Mittelrippe, zu sehen war.

Dann wurden die Blätter (2 bis 3) in die zu prüfenden Lösungen direkt übertragen; in einigen wenigen Fällen wurde

¹⁾ M. v. Eisler, l. c.

die Lösung den Blättern durch Aufsaugen vermittels eines Fließpapiers zugeführt.

Es ist selbstverständlich, daß infolge der verschiedenen Empfindlichkeit der zur Verwendung gelangten Blätter die Resultate nicht einheitlich waren.¹⁾ Abgesehen von unvermeidlichen individuellen Verschiedenheiten, war auch die Verwendung gleich alter Blätter nicht möglich, was natürlich Differenzen im Eindringen der Stoffe und in der Beeinflussung des Protoplasten zur Folge hatte.

Aus der beigelegten Tabelle (Seite 71) ist ersichtlich, daß wir die Wirkung diverser anorganischer und organischer Stoffe in verschiedenen Konzentrationen prüften.

Die anorganischen Salze kamen in äquimolekularen Lösungen zur Verwendung.

In $\frac{1}{10}$ -, $\frac{1}{40}$ - und $\frac{1}{80}$ -Lösungen von AlCl_3 war die Bewegung des Protoplasmas nach 48 Minuten in allen Zellen noch ganz unverändert. Die $\frac{1}{10}$ -Lösungen von CaCl_2 , MgCl_2 und MgSO_4 wirkten sehr schwach giftig, während in den $\frac{1}{40}$ -Lösungen der Magnesiumsalze noch nach 48 Stunden normale Bewegung zu beobachten war. Ähnliche Resultate ergaben Versuche mit Lösungen von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, welche in die Tabelle nicht aufgenommen wurden.

Die schwach giftige Wirkung der Mangansalze ist ja bekannt²⁾ und wurde nicht weiter geprüft.

Deutliche Rotation des Plasmas war in einer $\frac{1}{10}$ - NH_4Cl -Lösung nach 1 Stunde zu sehen.

In destilliertem Wasser (Licht und Dunkel-Versuche) verhielten sich die Blätter beinahe normal.

Bei langsamem Zusatz von 96 $\frac{0}{10}$ igem Äthylalkohol traten die Absterbeerscheinungen etwas später auf als bei direkter Übertragung der Blätter in Alkohol.

Wurde Äther verwendet, so trat der Tod sowohl bei langsamer als auch bei plötzlicher Zufuhr sofort ein.

Wurden *Eloдея*-Blätter in $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{400}$ und $\frac{1}{2400}$ -Sublimatlösungen übertragen, so wurde in der konzentriertesten Lösung

¹⁾ W. Pfeffer, l. c. 2, 332, 336, 344. — P. Klemm, Desorganisationserscheinungen der Zelle. Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 28, 627, 1895.

²⁾ W. Pfeffer, l. c. 2, 335.

die Bewegung sofort eingestellt, in der $\frac{1}{400}$ -Lösung war dies erst nach 15 Minuten der Fall, während in der schwächsten Konzentration die Rotation nach ca. 1 Stunde scheinbar noch normal war.

Saponin, Strychnin und Chinin wurden stets, wenn die reine Wirkung dieser Substanzen untersucht werden sollte, in Gemischen von gleichen Teilen der Lösungen dieser Stoffe und destillierten Wassers verwendet; bei Entgiftungsversuchen wurde statt des destillierten Wassers die gleiche Menge einer Salzlösung hinzugefügt.

Eine 0,2%ige Saponinlösung oder ein Gemisch dieser Lösung mit einer $\frac{1}{10}$ -Calciumchloridlösung blieb nach 24 Stunden auf die Blätter ohne Wirkung.

Sehr intensiv wirkende Gifte für unsere Versuchspflanze waren Strychnin und Chinin.

1%iges schwefelsaures Strychnin + destilliertes Wasser (1:1) brachte die Plasmabewegung in den Elodeablättern nach 25 Minuten zum Stillstand.

Die Wirkung des Chininchlorids und dessen Beeinflussung durch anorganische Salze soll den Hauptgegenstand dieser Mitteilung bilden.

Der Einfluß des Chinins auf tierisches und pflanzliches Plasma ist bereits öfters untersucht worden,¹⁾ Entgiftungsversuche gegen diesen Stoff bei Pflanzen sind, so viel uns bekannt ist, noch nicht unternommen worden.²⁾

¹⁾ A. J. Kunkel, Handb. d. Toxikologie, Jena 1901, S. 741. — C. Binz, Über die Wirkung antiseptischer Stoffe auf Infusorien von Pflanzenjauche. Centralbl. f. med. Wiss. 1867, Nr. 20, S. 305. Derselbe, Über die Einwirkung des Chinins auf Protoplasmabewegung. Schultzes Arch. f. mikrosk. Anatomie 3; Ref. Centralbl. f. med. Wiss. 1867, 655. — O. Loew und Th. Bokorny, Chemisch-physiologische Studien über Algen. Journ. f. prakt. Chem. Neue Folge. 36, 272, 1887. — Th. Bokorny, Vergleichende Studien über die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. Arch. f. d. ges. Physiol. 64, 262, 1896. — F. Czapek, l. c. 2, 927, 928.

²⁾ Auf zoologischem Gebiete wurde die Wirkung verschiedener Salze auf die Toxizität von Alkaloiden, auch des Chinins, in der letzten Zeit von Robertson bei Paramaecium, Gammarus und Tubifex untersucht. (T. Brailsford, Robertson, Studies in the chemistry of the Ion-proteid compounds. III. On the influence of electrolytes upon the toxicity of alkaloids.) Journ. of Biol. Chem. 1, Nr. 6, 1906. — Über die Hemmung

Über die Hemmung der Plasmabewegung in den Blättern von *Elodea canadensis* durch Chinin (1 und 2%) im Licht und im Dunkeln¹⁾ gibt die folgende Tabelle Aufschluß.

* In allen Zellen hatte die Bewegung eben aufgehört resp. war bereits sistiert am:

23. III. nach 25' im Licht,	22. IV. nach 15' im Schatten,
29. „ „ 32' „ „	27. „ „ 7' „ Sonne,
29. „ „ 34' „ „	27. „ „ 7' „ „
** 3. IV. „ 24' „ „	27. „ „ 9' „ Schatten,
8. „ „ 25' „ „	18. V. nach 8' im Licht,
14. „ „ 28' „ „	18. „ „ 11' „ Dunkeln,
14. „ „ 28' „ Dunkeln,	22. „ „ 10' „ Licht,
17. „ „ 16' „ Licht,	22. „ „ 7' „ „
17. „ „ 16' „ Dunkeln,	26. „ „ 7' „ „
17. „ „ 21' „ Licht,	28. „ „ 10' „ „
20. „ „ 11' „ Sonne,	7. VI. „ 13' „ „
20. „ „ 18' „ Schatten,	11. „ „ 15' „ „
22. „ „ 8' „ Sonne,	11. „ „ 20' „ „
	16. VI. nach 6—8' im Licht
	22. „ „ 15—20' „ „
	29. „ „ 41' im Licht,
	29. „ „ 32' „ Dunkeln,
	1. V. „ 47' „ Licht,
	1. „ „ 37' „ Dunkeln,
	7. „ „ 44' „ Licht,
	7. „ „ 31' „ Dunkeln,
	9. VI. „ 37' „ Licht,
	19. „ „ 45' „ „
	22. „ „ 28' „ „

* Durch Zusatz von dest. Wasser wurde die Konzentration der Chininlösung auf die Hälfte herabgesetzt.

** Die Versuche bis inkl. 3. April wurden mit einer 1%igen Chininlösung durchgeführt.

Bis Mitte April dauerte es ca. $\frac{1}{2}$ Stunde, bis die Bewegung in allen Zellen der Blätter aufgehört hatte, von da ab wurde die Rotation schon in 6 bis 20 Minuten gehemmt.

der Giftwirkung des Chininum sulfuricum auf Paramaecien durch Serumzusatz berichtet Busck (G. Busck, Die photobiologischen Sensibilisatoren [und ihre Eiweißverbindungen. Diese Zeitschr. 1, 425 und 473, 1906).

¹⁾ Die Versuche im Licht, Schatten und Dunkeln wurden im Anschluß an die Untersuchungen Josings (Eugen Josing, Der Einfluß der Außenbedingungen auf die Abhängigkeit der Protoplasmaströmung vom Licht. Jahrb. f. wiss. Botan. 36, 197, 1901) durchgeführt.

An 6 Tagen (29. IV., 1. V., 7. V., 9. VI., 19. VI., 22. VI.) war freilich eine bedeutende Verzögerung der Hemmung zu beobachten, die wohl darauf zurückzuführen ist, daß besonders alte Blätter mit sehr stark entwickelter Cuticula zur Verwendung kamen.

Auffallend ist, daß die Wirkung des Chinins bei einigen Versuchen im Licht gleichzeitig oder früher eintrat als im Dunkeln, während bei den Versuchen am 29. IV., 1. V. und 7. V. die Blätter im Dunkeln die Bewegung früher einstellten als die im Licht.

Bei den direkt der Sonne ausgesetzten Präparaten hörte die Rotation früher auf als bei den im Schatten aufgestellten Versuchen.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, festzustellen, ob die Beschleunigung der Chininwirkung im diffusen Licht und in direktem Sonnenlicht auf Licht-, oder Temperatureinfluß zurückzuführen ist.

Die Bewegungshemmung schritt in den Blättern in akropetaler Richtung vorwärts; zuerst zeigte sich die Erscheinung in den Zellen in der Nähe der Wundstelle. Vor Eintritt des Stillstandes hatte sich der Zellinhalt meist bereits verändert. Das Plasma nahm eine schmutzig-graue Färbung an, und es traten zahlreiche Körnchen, welche sich in lebhafter Bewegung befanden, in den Zellen auf.

Durch die nun folgenden Versuche sollte festgestellt werden, wie die Wirkung des Chinins auf die Plasmarotation in Elodeablättern durch den Zusatz verschiedener Salzlösungen beeinflusst wird.

Wurden Blätter unserer Versuchspflanze in ein Gemisch von gleichen Teilen einer Chininlösung und einer Lösung eines Kaliumsalzes gelegt, so gelangte man zu folgenden Resultaten:

* Die Plasmabewegung war eben oder bereits eingestellt:

am 29. III.	in einer 1% Chininlösung	nach 32',
	„ „ 1% „ „	„ 34',
	„ „ Chininlösung + $\frac{2}{10}$ -KCl-Lösung	nach 42',
„ 3. IV.	„ „ 1% Chininlösung	nach 24',
	„ „ Chininlösung + $\frac{2}{10}$ -KCl-Lösung	„ 34',
„ 8. „	„ „ 2% Chininlösung	nach 25',
	„ „ Chininlösung + $\frac{2}{10}$ -KCl-Lösung	„ 48',

am 28. V.	in einer 2 ^o / _o Chininlösung	nach 10',	
„ „	Chininlösung + ⁿ / ₁₀ -KCl-Lösung	„	24',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ - „ „	„	15',
„ 11. VI.	„ „ 2 ^o / _o „	nach 15',	
„ „	„ „ + ⁿ / ₁₀ -KCl-Lösung	„	32',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ - „ „	„	26',
„ 7;	„ „ 2 ^o / _o „	nach 13',	
„ „	„ „ + ⁿ / ₁₀ -Kaliumacetat-Lösung	„	20',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ - „ „	„	14',
„ 9. „	„ „ 2 ^o / _o „	nach 37',	
„ „	„ „ + ⁿ / ₁₀ -Kaliumacetat-Lösung	„	19',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ - „ „	„	24'.

* Durch Zusatz von gleichen Teilen der Chininlösung zu den Salzlösungen wurde bei diesen und allen folgenden Versuchen die Konzentration der Lösungen auf die Hälfte herabgesetzt.

Der Zusatz von Kaliumchlorid oder Kaliumacetat hatte eine schwache Verzögerung in der Giftwirkung des salzsauren Chinins zur Folge, und zwar um so mehr, je konzentrierter die Salzlösung war.

Hiermit stimmt bloß der Befund am 9. VI. nicht überein. Hier, wie in den meisten Fällen mit stark differierenden Ergebnissen, ist dies darauf zurückzuführen, daß ungleich alte Blätter zu den Versuchen verwendet worden waren.

Wie aus dem Verzeichnis der Versuchsergebnisse mit Natrium- und Ammoniumchlorid hervorgeht, wurde auch durch Zusatz von Lösungen dieser Salze zur Chininlösung eine geringe Retardierung der Bewegungshemmung erzielt. Diese Verzögerung war um so stärker, je konzentrierter die Lösung war. Der reinen Chininwirkung gleiche Werte wurden bei der ⁿ/₄₀-Lösung des Ammoniumchlorids gefunden.

Die Plasmabewegung war eben oder bereits eingestellt:

am 11. VI.	in einer 2 ^o / _o Chininlösung	nach 15',	
„ „	Chininlösung + ⁿ / ₁₀ -NaCl-Lösung	nach 26',	
„ „	„ „ + „ „ „	„	24',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ „ „	„	22',
„ „	„ „ + „ „ „	„	25',
„ 28. V.	„ „ 2 ^o / _o „	nach 10',	
„ „	„ „ + ⁿ / ₁₀ -NH ₄ Cl-Lösung	„	14',
„ „	„ „ + „ „ „	„	10',
„ „	„ „ + ⁿ / ₄₀ - „ „	„	11',
„ „	„ „ + „ „ „	„	9'.

Hatten wir bei Zusatz von Kalium-, Natrium- und Ammonium-Salzlösungen zur Chininlösung ein etwas späteres Ein-

treten der Hemmung der Rotation beobachten können, so wurde dieser Unterschied bei Verwendung von Magnesiumsalzen noch verstärkt und kam, als Mangan-, Aluminium- und Calciumsalze hinzugefügt wurden, noch viel deutlicher zum Ausdruck.

Eine $\frac{2}{10}$ -Lösung von Magnesiumchlorid hemmte die Bewegung nach 40 resp. 57 Minuten, während in den Kontrollversuchen mit salzsaurem Chinin nach 24 resp. 25 Minuten der Stillstand der Rotation zu verzeichnen war.

Die nun folgenden Daten beziehen sich auf das Verhalten der Blätter in Chininlösungen + Lösungen von $MnCl_2$ oder $AlCl_3$.

Die Bewegung		war eben sistiert	war bereits sistiert	war noch sichtbar
				nach Minuten:
7. VI.	in der 2 ^o / ₁₀ Chininlös.	13		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ - $MnCl_2$ -Lös.	79		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "		19	
9. VI.	" 2 ^o / ₁₀ " "	37		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ " "			100
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "	85		
22. V.	" 2 ^o / ₁₀ " "	10		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ - $AlCl_3$ -Lös.	25		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "	18		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " "	7		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ " "			45
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "	30		
26. V.	" 2 ^o / ₁₀ " "	7		
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ " "	240—230		50
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "	240—300		50
28. V.	" 2 ^o / ₁₀ " "		10	
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{10}$ " "			95
" "	" 2 ^o / ₁₀ " + $\frac{2}{40}$ " "			40

Der Einfluß des Salzzusatzes und die stärkere Wirkung bei höherer Konzentration kamen bei diesen Versuchen deutlich zur Geltung.

Schön und klar ging dies auch aus den zahlreichen von uns mit Calciumsalzen durchgeführten Versuchen hervor, wie aus dem nachfolgenden zu ersehen ist.

Verglichen mit den Chininlösungen rotiert das Plasma in den Zellen der Elodeablätter, welche sich in Chininlösung + Calcium-, Mangan- oder Aluminium-Salzlösungen befanden, besonders lange, freilich meist doch nicht so lange wie im destillierten Wasser.

Nr.	(1 u. 2 ^o / _o) Chinin- lösung	Die Rotation hatte eben aufgehört, oder war bereits sistiert nach Minuten:								Die Bewegung war noch zu sehen nach Min.:		
		Chininlösung + ⁿ / ₁₀ , ⁿ / ₂₀ , ⁿ / ₄₀ , ⁿ / ₈₀ CaCl ₂ - Lösung				Chininlösung + ⁿ / ₁₀ , ⁿ / ₂₀ , ⁿ / ₄₀ , ⁿ / ₈₀ Ca(NO ₃) ₂ - Lösung				Chinin- lösung + ⁿ / ₁₀ , ⁿ / ₄₀ Calcium lacticum		Chininlös. + ⁿ / ₁₀ -CaCl ₂ - od. ⁿ / ₁₀ -Ca(NO ₃) ₂ - Lösung
1.	25	210										25, 50, 70 ⁿ / ₁₀ - CaCl ₂ -Lösung
2.	32											49 ⁿ / ₁₀ -CaCl ₂ - Lösung
3.	34 24											78 ⁿ / ₁ ^o -CaCl ₂ - Lösung
4.	25	73										80 ⁿ / ₁₀ -CaCl ₂ - Lösung
4 a.												80 ⁿ / ₁₀ -Ca(NO ₃) ₂ - Lösung
5.	26				77	65	52	32				
6.	26				77	65	44	30				
7.	16				35	38	53	38				
8.	16				27	38	53	38				
8 a.	21				80		36					
9.	11				26		35	13				
10.	18				56		42	36				
11.	8				40		26					
12.	15				67		29					
13.	7						32					
14.	9				30		20					
15.	7				2	33	24					
16.	—				15		18					
17.	41				37		18					
18.	32				270		270					
19.	47				7 0		270					
20.	37				300		80					
21.	44				300		80					
22.	31						62					110 ⁿ / ₁₀ -Ca(NO ₃) ₂ - Lösung
23.					102		91					
24.					48		19	12				
							27	20				
					73		34	15				
							27	20				
25.	8				78		40	24				
26.	11				75		50	41				
27.	13								67	57		
28.	37								54	42		
29.	45				40							40 ⁿ / ₁₀ -Ca(NO ₃) ₂ - Lösung

— zeigt an, daß die Präparate im Dunkeln aufgestellt waren.
 ---- zeigt an, daß die Präparate im Schatten aufgestellt waren,
 während die Kontrollversuche dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt wurden.

Eine vollständige Aufhebung der Giftwirkung des Chinins war also durch Salzzusatz doch nicht möglich.

Ein Unterschied zwischen den Versuchen im diffusen Licht und im Dunkeln, in direkter Sonne und im Schatten war hier nicht gut sichtbar, es scheint aber doch, daß die Verzögerung der Giftwirkung im diffusen Licht oder in direktem Sonnenlicht eine geringere war als im Dunkeln, resp. im Schatten.

Um ein beiläufiges Bild von der Wirkung der verschiedenen Salze zu geben, haben wir durch Verhältniszahlen auszudrücken versucht, um wieviel später die Protoplasmabewegung bei Salzzusatz eingestellt wurde, als wenn Chinin direkt einwirkte. Es handelt sich natürlich nur um approximative Werte, da wir zu deren Ermittlung die erzielten Resultate, ohne Rücksicht darauf, ob alte oder junge Blätter verwendet wurden, oder ob die Bewegung noch zu sehen war, heranzogen.

Wirkung der Chininlösung: Wirkung der Chininlösung + Salzzusatz
in Zeiteinheiten:

+ ⁿ / ₁₀ -NH ₄ Cl-Lösung	1: ca. 1,2
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 1
+ ⁿ / ₁₀ -NaCl- "	1: " 1,2
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 1,1
+ ⁿ / ₁₀ -Kaliumacetat-Lösung	1: " 1,5
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 1,1
+ ⁿ / ₁₀ -KCl-Lösung	1: " 1,7
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 1
+ ⁿ / ₁₀ -MgCl ₂ - "	1: " 2,3
+ ⁿ / ₁₀ -MnCl ₂ - "	1: " 4,2
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 2,4
+ ⁿ / ₁₀ -Calciumacetat-Lösung	1: " 2,8
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 2,3
+ ⁿ / ₁₀ -Ca(NO ₃) ₂ -Lösung "	1: " 4,3 diff. Licht (Sonne)
+ ⁿ / ₁₀ " "	1: " 4,7 Dunkel (Schatten)
+ ⁿ / ₂₀ " "	1: " 2,4 diff. Licht (Sonne)
+ ⁿ / ₂₀ " "	1: " 2,4 Dunkel (Schatten)
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 2,5 diff. Licht (Sonne)
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 2,8 Dunkel (Schatten)
+ ⁿ / ₈₀ " "	1: " 1,1 diff. Licht (Sonne)
+ ⁿ / ₈₀ " "	1: " 1,4 Dunkel (Schatten)
+ ⁿ / ₁₀ -CaCl ₂ -Lösung	1: " 4,8
+ ⁿ / ₂₀ " "	1: " 3,4
+ ⁿ / ₁₀ -AlCl ₃ - "	1: " 5,1
+ ⁿ / ₄₀ " "	1: " 4,2

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich eine auffallende Verzögerung der Chininwirkung bei Zusatz von Calcium-, Magnan- und Aluminiumsalzen, während Kalium-, Natrium- und

Ammoniumsalze nur einen geringen Einfluß auf den Ablauf der Vergiftung ausüben.

Das Magnesium nimmt eine Mittelstellung zwischen den drei stark hemmenden und den wenig wirksamen einwertigen Salzen ein. Die Vergiftung durch Chinin verläuft bei Gegenwart dieses Salzes zwar langsamer als in Wasser, allein die Retardierung ist nicht so ausgesprochen wie bei Calcium-, Mangan- und Aluminiumzusatz.

Es ist jedenfalls bemerkenswert, daß gerade den drei letzteren Salzen eine so deutliche Hemmungswirkung zukommt.

Es war zunächst daran zu denken, daß die genannten Salze eine Veränderung der Plasmamembranen und damit eine Permeabilitätsänderung im Sinne einer Erschwerung des Chinindurchtrittes bewirken könnten.

Zur Entscheidung dieser Frage haben wir Blätter zuerst verschieden lange Zeit ($\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ Stunden) in $\frac{2}{20}$ - und $\frac{2}{10}$ -Lösungen von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und MnCl_2 gelegt. Hierauf wurden die Blätter in destilliertem Wasser abgewaschen und dann in unsere gewöhnlichen Chininlösungen übertragen.

Diese Versuche haben immer ein vollkommen negatives Resultat ergeben. Selbst nach $1\frac{1}{2}$ stündigem Aufenthalt in der betreffenden Salzlösung verhielten sich die Blätter gegen das Chinin nicht anders, als Blätter, die ebenso lange in destilliertem Wasser gelegen hatten.

Das Eindringen der anorganischen Salze in die Blätter geschieht bei den gewählten Konzentrationen möglicherweise nicht so rasch, daß sich innerhalb der Versuchszeit von $\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ Stunden schon eine nennenswerte Salzwirkung geltend machen könnte, im Gegensatze zu dem rasch aufgenommenen Chininsalze.

Ganz andere Verhältnisse müssen aber bei gleichzeitigem Zusatz von Chinin und Salz herrschen.

Unter dem Einflusse des Chinins dürfte vielleicht auch das Calcium-, Mangan- oder Aluminiumsalz rasch von der Zelle aufgenommen werden und dort seine Wirkung entfalten können.

Eine weitere Möglichkeit für die verzögernde Wirkung der Salze muß noch erwähnt werden, nämlich eine direkte Wirkung der Salze auf das Chinin.

Diese Möglichkeit muß aber bei unserer Versuchsanordnung als höchst unwahrscheinlich bezeichnet werden, da wir das

Chinin als salzsaure Verbindung verwendet haben und neutrale Salze zugesetzt wurden. Da auch alle Versuche bei relativ niederen Temperaturen angestellt wurden, so scheint unter diesen Umständen eine direkte Beeinflussung des Chinins so gut wie ausgeschlossen.

Inwieweit beim $AlCl_3$ eine Säurewirkung mit beteiligt ist, muß dahingestellt bleiben.

Dem Chininum hydrochloricum kommt nach unseren Beobachtungen eine desorganisierende Fähigkeit auf das Protoplasma von *Elodea canadensis* zu, die sich im Auftreten kleiner Körnchen und Veränderung der Farbe äußert.

Eine verändernde Wirkung des Chinins ist auch für andere Zellarten gefunden worden; so wirkt das Chinin nach Untersuchungen von Příbram¹⁾ lösend auf rote Blutkörperchen.

Wie nun neuerdings von Traube Mengarini und Scala²⁾ durch direkte Beobachtung der Salzwirkung an Zellen von *Cladophora* und *Spirogyra* gefunden wurde, kommt den einzelnen Salzen eine verschiedene Wirkung auf das Plasma zu. So wird z. B. durch $NaCl$ Desorganisation und Verflüssigung des Protoplasmas, durch KCl Auflösung der Chlorophyllkörner und Brüchigkeit der Zellmembranen bewirkt, während das $CaCl_2$ der Verflüssigung des Protoplasmas entgegenwirkt.

Nach diesen Versuchen und Überlegungen erscheint es wahrscheinlich, daß die beschriebene Verzögerung der Chininwirkung durch Calcium-, Mangan- und Aluminiumsalze dadurch zustande kommt, daß diese Salze auf die Plasmakolloide in entgegengesetztem Sinne einwirken.

Wir werden durch Fortsetzung der Versuche und Beobachtung der Wirkung und Beeinflussung anderer Gifte dieser wichtigen Frage näher zu kommen trachten.

¹⁾ Ernst Příbram, Über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution, physikalisch-chemischen Eigenschaften und pharmakodynamischen Wirkungen. Wiener klin. Wochenschr. 21, Nr. 30, 1908.

²⁾ Margherita Traube Mengarini und A. Scala, Über die chemische Durchlässigkeit lebender Algen- und Protozoenzellen für anorganische Salze und die spezifische Wirkung letzterer. Diese Zeitschr. 17, 443, 1909.

Zusammenfassung der gesamten Resultate.

Datum	Gift	Zusatz	Konzentration des Giftes	Konzentration des Zusatzes	Bewegung eingestellt	Bewegung bereits ein- gestellt	Bewegung noch fort- dauernd	Anmerkungen
6. III.	CaCl ₂		n/10			nach Stund. oa. 48	nach Stund.	Plasmolyse
8. III.	MgCl ₂		n/20			" 48	ca. 48	manche Zellen plasmolysiert
	MgSO ₄		n/10			" 48	" 48	Plasmolyse manche Zellen plasmolysiert
	Athylalkohol		96%		sofort			Blätter direkt übertragen
	dest. Wasser		96%		etwas später		" 48	langs. zugesetzt der Inhalt einig. Zellen desorgani- nisiert
	Hochquellwasser Äther				sofort		" 48	Bewegung deutl. Kontrolle. Blät- ter direkt über- tragen langsam zugesetzt
10. III.	Saponin	dest. Wasser	0,2%	n/10	sofort		24	
16. III.	Sublimat	CaCl ₂	n/10		sofort		24	
	"		n/400		nach Min. 15	nach Min.	nach Min.	Vor dem Stillstand Bewegung äußerst stark
23. III.	salzsaure Chinin	dest. Wasser	n/2400 1%			25	ca. 60	
	"	KCl	"	"			20	
	"	CaCl ₂	"	"		210	25, 50, 70	
29. III.	Strychnin sulf.	dest. Wasser	"			25		
	salzsaure Chinin	"	"		32			
	"	"	"		34			
	"	KCl	n/10		42			
3. IV.	"	CaCl ₂	"				49	schwache Beweg.
	"	dest. Wasser	1%		24			
	"	KCl	"	"	34			
	"	MgCl ₂	"	"	40			
	"	CaCl ₂	"	"			78	
	dest. Wasser						78	
8. IV.	salzsaure Chinin	dest. Wasser	2%		25			
	"	KCl	"	"	48			
	"	MgCl ₂	"	"	57			
	"	CaCl ₂	"	"			80	
	"	"	"	n/20	73			
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10			80	
	dest. Wasser						80	
14. IV.	salzsaure Chinin	dest. Wasser	"			26		Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	"		77		"
	"	"	"	n/20		65		"

Datum	Gift	Zusatz	Konzentration des Giftes	Konzentration des Zusatzes	Bewegung eingestellt	Bewegung bereits ein- gestellt	Bewegung noch fort- dauernd	Anmerkungen
14. IV.	salzsaur. Chinin	Ca(NO ₃) ₂	2 ⁰ / ₀	n/40	nach Min. 52	nach Min.	nach Min.	Licht. Nach 44 Min. nur mehr in einem Blatte von dreien schwache Beweg.
	"	"	"	n/80	32			Licht. Nach 26 Min. bei zwei Blättern Bewegung sistiert, bei einem Blatte schwache Beweg. in einzelnen Zellen
14. III.	"	dest. Wasser	"	"		26		Dunkel
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10		77		"
	"	"	"	n/20		65		"
	"	"	"	n/40	44			"
	"	"	"	n/80		30		"
17. IV.	"	dest. Wasser	"	"	16			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	35			Licht. Nach 25 Min. nur mehr in einem Blatte Bewegung
	"	"	"	n/20		38		Licht
	"	"	"	n/40	53			Licht. Nach 40 Min. noch deutliche Be- wegung in einem Blatte
	"	"	"	n/80	38			Licht
	"	dest. Wasser	"	"		16		Dunkel
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10		27		"
	"	"	"	n/20		38		"
	"	"	"	n/40		53		"
	"	"	"	n/80	38			"
	"	dest. Wasser	"	"	21			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	80		70	"
	"	"	"	n/40	36			"
20. IV.	"	dest. Wasser	"	"	11			Sonne
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	26			"
	"	"	"	n/40		35		"
	"	"	"	n/80	13			"
	"	dest. Wasser	"	"	18			Schatten
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	56			"
	"	"	"	n/40		42		"
	"	"	"	n/80		36		"
22. IV.	"	dest. Wasser	"	"	8			Sonne
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	40			"
	"	"	"	n/40	26			"
	"	"	"	"	22			"
	"	dest. Wasser	"	"	15			Schatten
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	67			"
	"	"	"	n/40	29			"
	"	"	"	"	32			"
	dest. Wasser	"	"	"			90	Licht
	"	"	"	"			90	Schatten
27. IV.	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	"	"	7			Sonne
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	30			"
	"	"	"	n/40		20		"

Datum	Gift	Zusatz	Konzentration des Giftes	Konzentration des Zusatzes	Bewegung eingestellt	Bewegung bereits ein- gestellt	Bewegung noch fort- dauernd	Anmerkungen
27. IV.	salzsaure. Chinin	dest. Wasser	2 ^o / _o		nach Min. 7			Sonne
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀	15			"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀		18		"
	"	dest. Wasser	"	"	9			Schatten
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀	33			"
29. IV.	"	dest. Wasser	"	ⁿ / ₄₀	24			Schatten. Bei einem Blatte nach 15 Min. Stillstand, bei dem zweiten noch nach 30 Min. an ein- zelnen Stellen Be- wegung.
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀	37			Schatten
	"	"	"	ⁿ / ₄₀	18			"
	"	dest. Wasser	"	"	41			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀		270	80	"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀		270	60	"
	"	dest. Wasser	"	"	32			Dunkel
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀		270	80	"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀		270	60	"
	"	dest. Wasser	"	"			300	Licht Dunkel
1. V.	salzsaure. Chinin	dest. Wasser	"	"	47			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀		300	120	"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀	80			"
	"	dest. Wasser	"	"	37			Dunkel
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀		300	120	"
7. V.	"	"	"	ⁿ / ₄₀	80			Licht Dunkel
	salzsaure. Chinin	dest. Wasser	"	"	44			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀			110	"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀	62			"
	"	dest. Wasser	"	"	31			Dunkel
10. V.	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀				"
	"	"	"	ⁿ / ₄₀	19			"
	"	"	"	"	27			"
	"	"	"	ⁿ / ₈₀	12			"
	"	"	"	"	20			"
18. V.	"	"	"	ⁿ / ₁₀	73			Dunkel
	"	"	"	ⁿ / ₄₀	34			"
	"	"	"	"	27			"
	"	"	"	ⁿ / ₈₀		15		"
	"	"	"	"	20			"
	"	dest. Wasser	"	"	8			Licht
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	ⁿ / ₁₀	78			"

Datum	Gift	Zusatz	Konzentration des Giftes	Konzentration des Zusatzes	Bewegung eingestellt	Bewegung bereits ein- gestellt	Bewegung noch fort- dauernd	Anmerkungen
18. V.	salzsaur. Chinin	Ca(NO ₃) ₂	2 0/0	n/40	nach Min. 40	nach Min.	nach Min.	Licht
	"	"	"	n/80	24			"
	"	dest. Wasser	"	"	11			Dunkel
	"	Ca(NO ₃) ₂	"	n/10	75			"
	"	"	"	n/40	50			"
	"	"	"	n/80	41			"
	dest. Wasser	"	"	"			80	Licht
	"	"	"	"			80	"
22. V.	AlCl ₃	"	n/10	"			48	Dunkel
	"	"	n/40	"			48	"
	"	"	n/80	"			48	"
	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 0/0	"	10			
	"	AlCl ₃	"	n/10	25			
	"	"	"	n/40	18			
	"	dest. Wasser	"	"	7			
	"	AlCl ₃	"	n/10			45	
	"	"	"	n/40	30			
26. V.	"	dest. Wasser	"	"	7			
	"	AlCl ₃	"	n/10		210—300	50	
	"	"	"	n/40		240—300	50	Nach 50 Min. noch in einzelnen Zellen Bewegung
28. V.	"	dest. Wasser	"	"		10		
	"	NH ₄ Cl	"	n/10	14			
	"	"	"	"	10			
	"	"	"	n/40	11			
	"	"	"	"	9			
	"	KCl	"	n/10	24			
	"	"	"	n/40		15		
	"	AlCl ₃	"	n/10	40		95	
	"	"	"	n/40			60	
7. VI.	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 0/0	n/10	13			
	"	Kaliumacetat	"	n/10		20		
	"	"	"	n/40	14			
	"	MnCl ₂	"	n/10	79			
	"	"	"	n/40		19		
	"	Calcium lacticum	"	n/10	67			
	"	"	"	n/40	57			
9. VI.	"	dest. Wasser	"	"	37			
	"	Kaliumacetat	"	n/10	19			
	"	"	"	n/40	24			
	"	MnCl ₂	"	n/10			100	Nach 100 Min. nur mehr in 2 Zellen eines Blattes Be- wegung
	"	"	"	n/40	85			
	"	Calcium lacticum	"	n/10	54			
	"	"	"	n/40	42			
11. VI.	"	dest. Wasser	"	"	15			
	"	KCl	"	n/10	32			

Datum	Gift	Zusatz	Konzentration des Giftes	Konzentration des Zusatzes	Bewegung eingestellt	Be- wegung bereits ein- gestellt	Be- wegung noch fort- dauernd	Anmerkungen
11. VI.	salzsaur. Chinin	KCl	2 ⁰ / ₀	n ⁴⁰ / ₁₀	26	nach Min.	nach Min.	
	"	NaCl	"	n ¹⁰ / ₁₀	26			
	"	"	"	"	24			
	"	"	"	n ⁴⁰ / ₁₀	22			
	"	"	"	"	25			
	CaCl ₂	salzsaur. Chinin	n ²⁰ / ₂₀	2 ⁰ / ₀		24		Die Blätter waren ³ / ₄ Stunden in der CaCl ₂ -Lösung
16. VI.	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 ⁰ / ₀		20		6—8	
	Ca(NO ₃) ₂	salzsaur. Chinin	n ¹⁰ / ₁₀	"	12			Die Blätter waren ¹ / ₂ Stunde in der Ca(NO ₃) ₂ -Lösung
	"	"	"	"	11			Die Blätter waren ³ / ₄ Stunden in der Ca(NO ₃) ₂ -Lösung
19. VI.	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 ⁰ / ₀		45		40	
	Ca(NO ₃) ₂	salzsaur. Chinin	n ¹⁰ / ₁₀	n ¹⁰ / ₂₀ / ₀	40			Die Blätter waren 1 Stunde in der Ca(NO ₃) ₂ -Lösung
22. VI.	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 ⁰ / ₀		28			
	MnCl ₂	salzsaur. Chinin	n ¹⁰ / ₁₀	"	25			Die Blätter waren 1 Stunde in der MnCl ₂ -Lösung
	salzsaur. Chinin	dest. Wasser	2 ⁰ / ₀			15—20		
	MnCl ₂	salzsaur. Chinin	n ¹⁰ / ₁₀	"		15—20		Die Blätter waren ¹ / ₂ Stunden in der MnCl ₂ -Lösung
	Ca(NO ₃) ₂	"	"	"		15—20		Die Blätter waren ¹ / ₂ Stunden in der Ca(NO ₃) ₂ -Lösung

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

13. Mitteilung.

Die Ausscheidung von Gesamt-Stickstoff und Harnsäure bei Albumosennahrung; zugleich ein Beitrag zur Physiologie der Leber.

Von

Karl Reichenau.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 15. Juni 1909.)

Mit 21 Kurvenfiguren.

Die Funktion der Leber ist in der Physiologie der Drüsen und des gesamten Stoffwechsels überhaupt als eine der wichtigsten, aber auch zugleich als eine der schwierigsten längst erkannt worden; ausgehend von dem innigen Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion im tierischen Organismus, hat man selbstverständlich versucht, auf anatomischer Grundlage der Entscheidung der Frage etwas näher zu kommen. Seit Heidenhains grundlegenden Versuchen über Drüsenfunktion, speziell derjenigen des Darmes und der Leber, kann es uns nicht wundern, wenn verschiedene Untersucher nach ihm das mikroskopische Aussehen der Leberzellen bei verschiedener Ernährung des Versuchstieres einer genaueren Betrachtung gewürdigt haben.

Die Rolle, welche die Leber durch die Ablagerung von Glykogen in dem Kohlenhydratstoffwechsel spielt und die Tatsache, daß mit Sicherheit der Genuß von gärfähigen Kohlenhydraten Einfluß auf die Ablagerung des Glykogens in der Leber hat, ist in seiner Bedeutung der Hauptsache nach längst

bekannt. Man sollte meinen, daß die Leber eine zum wenigsten nicht kleinere Bedeutung im Eiweißstoffwechsel besäße. Tatsächlich hat man wohl allgemein ihr eine solche zugeschrieben. Bei näherem Zusehen zeigt sich, daß auf gesicherter experimenteller Grundlage nur die Entstehung gewisser intermediärer und Endprodukte des Eiweißstoffwechsels steht. Hingegen fehlen sichere Anhaltspunkte hinsichtlich der Rolle der Leber bei der Aufnahme und der Assimilation des Eiweißes. Von Abderhalden z. B. wird bekanntlich die Beteiligung der Leber hierbei sehr reserviert beurteilt. Andererseits hat aber die mikroskopische Untersuchung der Leber in dieser Richtung im Gegensatz zu der chemischen Methode in ihrer bisherigen Anwendung in hohem Grade befruchtend gewirkt.

Kusmine hat durch intravenöse Einspritzung verschiedener Lymphoga, von denen mich für meine Arbeit nur die Peptone interessieren, gezeigt, daß diese Substanzen eine typische histologische Wirkung auf die Leber haben. Soviel also bei intravenöser Applikation.

P. Boehm suchte dem Problem einen Schritt näher zu kommen durch Verfütterung von magerem Rindfleisch, Witte-Pepton, Alanin und Asparaginsäure und verglich die Resultate mit dem hungernden Tier; es waren also die wesentlichsten Substanzen in der Reihe der Abbauprodukte des Eiweißes: Peptone (resp. Albumosen) und Aminosäuren vertreten; ich zitiere hier wörtlich die Zusammenfassung Boehms über das histologische Ergebnis der Untersuchung über die Albumosen; ursprünglich hatte ich auch im Sinne, den Einfluß einiger Aminosäuren auf die Ausscheidung des Gesamt-Stickstoffs und der Harnsäure zu untersuchen, mußte mich aber dann im Laufe des Winters auf die Albumosen beschränken und zitiere deshalb auch nur den betreffenden Abschnitt über die Albumosen.

„b) Albumosenleber: Im Vergleiche mit den soeben beschriebenen Zellen erscheinen die Zellen der Albumosenleber als wahre Riesengestalten. Sowohl Zellen wie Kerne haben die größten Durchschnittsmaße aufzuweisen. Schon bei schwacher Vergrößerung erkennt man, wie sehr verschieden dieses Bild von der Hungerleber ist; die Zellen sind scharf voneinander getrennt, ihre Grenzen sind überall deutlich erkennbar. An der Peripherie vieler Zellen liegt das Protoplasma verdichtet und bildet gleichsam einen Saum der Zelle, im zentralen Zellraum liegt es aufgelockert, feingekörnt und zum Teil netzförmig angeordnet. In andern Zellen wiederum ist das Protoplasma unregelmäßig verteilt, indem es in einer Zellecke besonders dicht angeordnet ist. Auffallend groß sind die Zellkerne, ihr Durchschnittsmaß 9,9 μ m, womit sie die Kerne aller übrigen Lebern bei weitem an Größe überragen. Einige, die sich durch ganz besondere Größe hervortun, sind heller gefärbt als die übrigen und besitzen nur ein sehr spärliches Chromatingerüst. In andern Kernen

wieder ist die netzförmige Anordnung der Chromatinsubstanz eine sehr deutliche.“

Es fragt sich nun, worauf diese Bilder beruhen. Bekanntlich ist die Leber der Zentraldurchgangspunkt für alle drei Gruppen von Nahrungsstoffen (selbst ihre Rolle im Fettstoffwechsel wurde ja histologisch und physiologisch-chemisch nachgewiesen). Aus diesem Grunde muß gefragt werden, welche Ursache die bei Albumosenfütterung von den übrigen so differenten Bilder haben können:

1. Können es — und man hat die Pflicht, in der Mikroskopie stets daran zu denken — einfach Kunstprodukte, hervorgerufen durch die verschiedenen Fixierungs- und Färbungsmethoden sein; gar mancher strittige Punkt in der mikroskopischen Anatomie hat sich später durch Anwendung vervollkommener Methoden aufgeklärt als das Produkt eines Fehlers in der Fixierung oder Färbung. Kusmine sowohl wie Boehm haben aber die Möglichkeit von Kunstprodukten ausgeschlossen.

2. Witte-Pepton, intravenös eingespritzt, ruft starke Reizungserscheinungen hervor, die nicht nur verursacht sind durch die Art ihrer Anwendung, sondern sich auch bei Verfütterung von verhältnismäßig geringen Dosen in starken Diarrhöen, ja selbst Entzündung des Darmes bei längerem Gebrauch wieder zeigen können; es ist also nicht ganz ausgeschlossen, daß diese charakteristischen Albumosenbilder Boehms auf einer abnormen Beeinflussung des Stoffwechsels in der Leber beruhen.

Bei der Vielgestaltigkeit des Stoffwechsels in der Leber muß man von einem bestimmten Anhaltspunkte ausgehen, um auf physiologisch-chemischem Wege der Frage näher zu treten, ob die massenhafte Einfuhr von Albumosen anstatt nativen Eiweißes die Leber in besonderer Weise beeinflusse. Am nächstliegenden ist es, an eine Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels der stickstoffhaltigen Substanzen in der Leber zu denken. Die Leber ist u. a. der Ort der wesentlich an der Bildung des Harnstoffs und der Purinkörper beteiligt ist; diese Tatsache bildet eine Handhabe zur experimentellen Fragestellung. Ich habe deshalb, hiervon ausgehend, auf Anraten und unter Beihilfe von Professor Asher untersucht, ob die Ernährung mit Albumosen, d. h. die Superposition von Albu-

mosen auf eine Standardkost auf die Ausscheidung des Stickstoffs im Harn derart wirke, daß daraus ein Rückschluß auf die Bedeutung der histologisch erwiesenen Beeinflussung der Leber gemacht werden könne. Unter der Annahme, daß eine von der Norm abweichende Zufuhr von Albumosen in den intermediären Stoffwechsel der stickstoffhaltigen Substanzen in der Leber eingriffe, konnte vielleicht die Art der Ausscheidung des Harnstoffs und der Harnsäure modifiziert werden.

Der Plan war also, den Organismus mit einer großen Dosis von Albumosen gleichsam zu überschwemmen und nun einerseits durch Bestimmung des Gesamtstickstoffs ein Bild zu bekommen von der Resorption und dem Abbau des Eiweißes; andererseits kamen als eventueller Maßstab für die Vorgänge in der Leber aus den oben angeführten Gründen die Purinkörper in Betracht und aus diesen wiederum ragt am meisten die Harnsäure hervor, und die quantitativ hohe Bedeutung der Harnsäure unter den Purinkörpern neben deren nicht allzu schweren Bestimmung ist der Grund, weshalb ich als Mittel zur Aufklärung der durch die vorausgehende Boehmsche Arbeit angeregten Fragestellung neben der Bestimmung des Gesamtstickstoffs diejenige der Harnsäure wählte.

Ausdrücklich wurde in der Boehmschen Arbeit hervorgehoben, daß die endgültige Entscheidung über die Frage, ob Aufnahme von Albumosen in größerer Menge einen Einfluß auf die Leber ausübe und insbesondere, welcher Art dieser Einfluß sei, der physiologisch-chemischen Untersuchung zustehe. Daß diese Untersuchung am Gesamtorganismus seine großen Schwierigkeiten hat, ist klar; denn an der Art und Weise, wie Gesamtstickstoff und Harnsäure bei der von mir gewählten Versuchsanordnung im Harn ausgeschieden wird, haben sehr zahlreiche Faktoren im Organismus Anteil; selbst wenn daher, was ja Gegenstand der Untersuchung sein soll, die Leber einen Anteil daran hat, kann derselbe nur ein partieller, und wenn vorhanden, doch verdeckt durch die anderen Erscheinungen sein. Diese indirekte und durch die Schwierigkeiten der Verhältnisse komplizierte Untersuchung hat aber, selbst wenn sie nicht allzu viele Aussichten bietet, deshalb Wert, weil es mir darauf ankam, gerade den Fall zu untersuchen, wo vom normalen Organismus auf dem normalen Wege Albumose aufgenommen wird.

wieder ist die netzförmige Anordnung der Chromatinsubstanz eine sehr deutliche.“

Es fragt sich nun, worauf diese Bilder beruhen. Bekanntlich ist die Leber der Zentraldurchgangspunkt für alle drei Gruppen von Nahrungsstoffen (selbst ihre Rolle im Fettstoffwechsel wurde ja histologisch und physiologisch-chemisch nachgewiesen). Aus diesem Grunde muß gefragt werden, welche Ursache die bei Albumosenfütterung von den übrigen so differenten Bilder haben können:

1. Können es — und man hat die Pflicht, in der Mikroskopie stets daran zu denken — einfach Kunstprodukte, hervorgerufen durch die verschiedenen Fixierungs- und Färbungsmethoden sein; gar mancher strittige Punkt in der mikroskopischen Anatomie hat sich später durch Anwendung vollkommener Methoden aufgeklärt als das Produkt eines Fehlers in der Fixierung oder Färbung. Kusmine sowohl wie Boehm haben aber die Möglichkeit von Kunstprodukten ausgeschlossen.

2. Witte-Pepton, intravenös eingespritzt, ruft starke Reizungserscheinungen hervor, die nicht nur verursacht sind durch die Art ihrer Anwendung, sondern sich auch bei Verfütterung von verhältnismäßig geringen Dosen in starken Diarrhöen, ja selbst Entzündung des Darmes bei längerem Gebrauch wieder zeigen können; es ist also nicht ganz ausgeschlossen, daß diese charakteristischen Albumosenbilder Boehms auf einer abnormen Beeinflussung des Stoffwechsels in der Leber beruhen.

Bei der Vielgestaltigkeit des Stoffwechsels in der Leber muß man von einem bestimmten Anhaltspunkte ausgehen, um auf physiologisch-chemischem Wege der Frage näher zu treten, ob die massenhafte Einfuhr von Albumosen anstatt nativen Eiweißes die Leber in besonderer Weise beeinflusse. Am nächstliegenden ist es, an eine Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels der stickstoffhaltigen Substanzen in der Leber zu denken. Die Leber ist u. a. der Ort der wesentlich an der Bildung des Harnstoffs und der Purinkörper beteiligt ist; diese Tatsache bildet eine Handhabe zur experimentellen Fragestellung. Ich habe deshalb, hiervon ausgehend, auf Anraten und unter Beihilfe von Professor Asher untersucht, ob die Ernährung mit Albumosen, d. h. die Superposition von Albu-

mosen auf eine Standardkost auf die Ausscheidung des Stickstoffs im Harn derart wirke, daß daraus ein Rückschluß auf die Bedeutung der histologisch erwiesenen Beeinflussung der Leber gemacht werden könne. Unter der Annahme, daß eine von der Norm abweichende Zufuhr von Albumosen in den intermediären Stoffwechsel der stickstoffhaltigen Substanzen in der Leber eingriffe, konnte vielleicht die Art der Ausscheidung des Harnstoffs und der Harnsäure modifiziert werden.

Der Plan war also, den Organismus mit einer großen Dosis von Albumosen gleichsam zu überschwemmen und nun einerseits durch Bestimmung des Gesamtstickstoffs ein Bild zu bekommen von der Resorption und dem Abbau des Eiweißes; andererseits kamen als eventueller Maßstab für die Vorgänge in der Leber aus den oben angeführten Gründen die Purinkörper in Betracht und aus diesen wiederum ragt am meisten die Harnsäure hervor, und die quantitativ hohe Bedeutung der Harnsäure unter den Purinkörpern neben deren nicht allzu schweren Bestimmung ist der Grund, weshalb ich als Mittel zur Aufklärung der durch die vorausgehende Boehmsche Arbeit angeregten Fragestellung neben der Bestimmung des Gesamtstickstoffs diejenige der Harnsäure wählte.

Ausdrücklich wurde in der Boehmschen Arbeit hervorgehoben, daß die endgültige Entscheidung über die Frage, ob Aufnahme von Albumosen in größerer Menge einen Einfluß auf die Leber ausübe und insbesondere, welcher Art dieser Einfluß sei, der physiologisch-chemischen Untersuchung zustehe. Daß diese Untersuchung am Gesamtorganismus seine großen Schwierigkeiten hat, ist klar; denn an der Art und Weise, wie Gesamtstickstoff und Harnsäure bei der von mir gewählten Versuchsanordnung im Harn ausgeschieden wird, haben sehr zahlreiche Faktoren im Organismus Anteil; selbst wenn daher, was ja Gegenstand der Untersuchung sein soll, die Leber einen Anteil daran hat, kann derselbe nur ein partieller, und wenn vorhanden, doch verdeckt durch die anderen Erscheinungen sein. Diese indirekte und durch die Schwierigkeiten der Verhältnisse komplizierte Untersuchung hat aber, selbst wenn sie nicht allzu viele Aussichten bietet, deshalb Wert, weil es mir darauf ankam, gerade den Fall zu untersuchen, wo vom normalen Organismus auf dem normalen Wege Albumose aufgenommen wird.

Methodik der Versuche.

Die Versuche sind ausnahmslos am Menschen angestellt und zwar an mir selbst; ausgehend von dem Gedanken, den Organismus an dem jeweiligen Versuchstage mit einer ziemlich großen Dosis von Albumosen zu überschwemmen, wurde auch schon an den Normaltagen ohne Albumosen eine sehr N-reiche Kost gewählt. Auf diese sehr stickstoffreiche Kost wurde jeweilig die Albumose superponiert. Bei der Superposition hat zunächst die Albumose keine neue Funktion zu leisten und es kann daher, wenn überhaupt ein besonderer Erscheinungskomplex existiert, derselbe hierbei zutage kommen. Wegen der Menge von Albumosen, die ich schließlich nahm, kam es, daß mir gegen Ende der 22tägigen Versuche die Kost entschieden zuwider wurde und ich bei dem letzten Versuche z. B. sogar Mühe hatte, die 50 g Lacto-Somatose noch zu den gewöhnlichen 400 g Fleisch hinunter zu bringen; es mag dies mit der Zubereitungsmethode einigermaßen zusammengehangen haben, doch mußte daran absolut festgehalten werden, aus dem Grunde, weil die anzuwendende Methode mit möglichst wenig Fett arbeiten sollte, denn nach den übereinstimmenden Beobachtungen vieler Untersucher verzögert Fett die Ausscheidung von Stickstoff erheblich; alle diese Bedingungen wurden nun doch am besten erfüllt, wenn das makroskopisch fettfrei gemachte und in rohem Zustande abgewogene Fleisch mit den zur Verwendung kommenden 100 g Reis in einen Kochtopf zusammengebracht und das Ganze mit ca. 1 l Wasser gekocht wurde. Die Angabe des Gewichts für Äpfel bezieht sich auf den rohen, das der Kartoffeln auf den gekochten Zustand.

An den Tagen vor dem eigentlichen Versuchstag wurde von mir die gewöhnliche Nahrung, die im ganzen etwa aus 200 bis 300 g Fleisch, etwa 1 l Milch und ziemlich reichlichen Kohlenhydraten bestand, genossen; der Versuchstag begann um 11 Uhr mittags und endete zu gleicher Zeit am folgenden Tage. Am Abend vor dem eigentlichen Versuchstage wurde stets ein stickstoffarmes Essen (250 g Kartoffeln, 2 Tassen Tee, 20 g Zucker) eingenommen.

Die Bestimmung des N geschah ausschließlich nach der Kjeldahlschen Methode.

Die Harnsäure wurde nach Folin und Schaffer bestimmt.

Es gelang mir, mit dieser Methode in 2 ev. 3 Kontrollanalysen übereinstimmende Resultate zu erzielen und ist diese Methode jedenfalls leichter, als die Bestimmung nach Salkowski-Ludwig.

I. Teil.

Zeitliche Ausscheidung von Gesamt-Stickstoff und Harnsäure.

In den nachfolgenden ersten Versuchen war der Plan, die tägliche Ausscheidung von Stickstoff und Harnsäure in einzelnen mehrstündigen Perioden bei Standardkost und bei Standardkost + superponierter Albumose zu vergleichen; die Art der Ausscheidung von Stickstoff in den einzelnen Perioden eines Tages bei gewöhnlicher Nahrung ist durch zahlreiche Untersuchungen bekannt. Vor kurzem noch hat E. Haas (E. Haas, Biochem. Zeitschr. 12, 1908) hierzu in diesem Laboratorium neue Beiträge geliefert, die für mich in vieler Beziehung wichtig waren; wenn man von der Annahme ausgeht, daß es möglicherweise nicht gleichgültig für die Leber ist, ob der Stickstoff in Form von nativem Eiweiß oder in Form von Eiweiß und Albumosen gegeben wird, kann daran gedacht werden, ob nicht die Verhältnisse der Stickstoff- und Harnsäureausscheidung innerhalb kurzer Versuchsperioden andere werden; sowohl die Gesamtstickstoff- wie die Harnsäureausscheidung sind in erster Linie von der Lebertätigkeit abhängig. Was die Harnsäure anbetrifft, so gestattete die Anwendung von Milchsomatoase die vollständige Ausschaltung einer Mehrzufuhr von Nahrungspurin; daher würden etwaige Änderungen in der Harnsäureausscheidung auf endogene Verhältnisse hinweisen.

Ich gehe zunächst zum Bericht über meine Versuche nach dem soeben dargelegten Versuchsplane über.

Versuch 1 vom 27./28. Okt.

wurde angestellt, um ein Bild zu bekommen von dem Verlauf der N-Ausscheidungskurve und derjenigen der Harnsäure. Aus den nebenstehenden Kurven ist ersichtlich, daß die Stickstoffausscheidung ungefähr so verläuft, wie sie von verschiedenen Untersuchern, wie Tigerstedt, Tschlenoff, Veraguth, Falta,

Vogt u. a. beschrieben wurde; natürlich werden die feineren Einzelheiten dieser Kurven, da es sich nicht um stündliche, sondern um 3stündliche Entleerung des Harnes handelt, etwas verwischt; immerhin ist die hohe Ausscheidung nach der 3., eine ziemliche Steigerung nach der 6. und ein leichtes Absinken nach der 9. Stunde deutlich zu sehen. Die zwei Maxima in der 2. bis 4. und in der 6. bis 7. Stunde kommen also gut zum Ausdruck. Das erste Maximum unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme, das sich nach den Untersuchungen von E. Haas zum größten Teil zurückführen läßt auf eine Ausschwemmung stickstoffhaltiger Abbauprodukte aus den Geweben, hervorgerufen durch die bei der Mahlzeit mit eingenommene Flüssigkeit, muß natürlich bei meiner 3stündlichen Auffangungsmethode etwas verwischt werden.



Fig. 1.

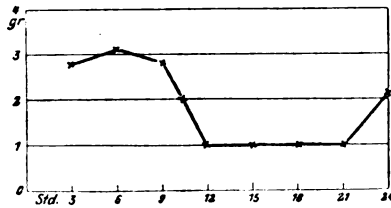


Fig. 2.

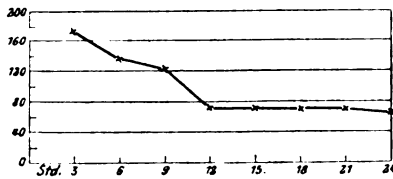


Fig. 3.

Harnmenge in cm:

I.	213
II.	247
III.	287
IV.	430
V.	155
	<hr/>
	1332

N-Menge in g:

I.	2,779
II.	3,195
III.	2,863
IV.	3,071
V.	2,132
	<hr/>
	14,240

Harnsäure in mg:

I.	175,86
II.	138,3
III.	123,3
IV.	224,2
V.	65,7
	<hr/>
	727,36

Die Kurve der Harnsäure zeigt im ganzen einen absteigenden Verlauf entsprechend der Kurve der Harnmenge, die leicht steigt bis zur 9. Stunde und dann sinkt. Ich werde in einem späteren Versuche (3) noch auf die Abhängigkeit von Harnmenge und Harnsäureausscheidung zu sprechen kommen.

Versuchsübersicht.

	N-Einnahme
	in g
27. Okt. 8 ^h —8 ^h 15' 2 Tassen Tee, 2 Stück	
Brot, (60 g) Butter, etwas	
Konfitüre	1,87
1 ^h —1 ^h 20' 350 g Fleisch, 150 g	
Reis	11,9
4 ^h I. Portion Harn	
7 ^h II. Portion Harn	
8 ^h —8 ^h 15' 3 Tassen Tee, 30 g	
Zucker, 250 g Kartoffeln . .	0,71
10 ^h III. Portion Harn	
28. Okt. 8 ^h —8 ^h 15' 2 Tassen Tee, 60 g Brot	0,60
16 g Butter	0,02
10 ^h IV. Portion Harn	
1 ^h V. Portion Harn	
	<u>15,10</u>
Eingenommener N.	15,10 g
Ausgeschieden im Harn	14,86 g
	Bilanz + 0,24 g N

Versuch 2 vom 2./3. Nov.

Harnmenge in com:

- I. 225
- II. 247
- III. 215
- IV. 225
- V. 350
- VI. 220
- 1482

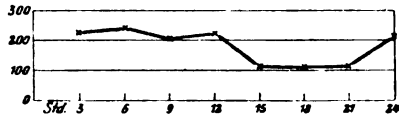


Fig. 4.

N-Menge in g:

- I. 2,920
- II. 3,783
- III. 3,226
- IV. 2,448
- V. 6,154
- VI. 2,556
- 21,087

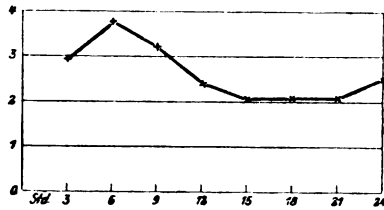


Fig. 5.

Harnsäure in mg:

- I. 155,1
- II. 154,6
- III. 99,6
- IV. 82,1
- V. 177,4
- VI. 132,6
- 801,4

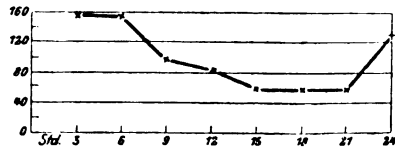


Fig. 6.

Versuchsübersicht.

		N-Einnahme in g
2. Nov.	8 ^h 15'—8 ^h 25' 2 Tassen Tee, Brot, Butter usw.	0,62
	11 ^h 15' Gründliche Harnentleerung	
	11 ^h 15' 400 g Fleisch	13,73
	100 g Reis	1,25
	200 g Apfelkompott, 20 g Zucker	0,12
	2 ^h 15' Harnportion I	
	5 ^h 15' „ II	
	8 ^h 15' „ III	
	8 ^h 15' 2 ¹ / ₂ Tassen Tee, 20 g Zucker, 250 g Kartoffeln	0,71
	11 ^h 15' Harnportion IV	
3. Nov.	8 ^h 15' „ V	
	8 ^h 15' 2 Tassen Tee, Brot usw., 20 g Zucker	0,62
	11 ^h 15' Harnportion VI	
		<hr/> 17,05
	Eingenommener N	17,05 g N
	Ausgegeben im Harn	<u>21,087 g N</u>
	Bilanz —	4,037 g N.

Versuch 3 vom 9./10. Nov.

		N-Einnahme in g
9. Nov.	8 ^h 15' 430 ccm Milch	2,48
	60 g Brot usw.	0,62
	11 ^h 15' Gründliche Harnentleerung	
	11 ^h 15' 404 g Fleisch	13,73
	100 g Reis.	1,25
	200 g Apfel, 20 g Zucker	0,12
	2 ^h 15' Harnportion I 420 ccm	
	5 ^h 15' Harnportion II 575 „	
	8 ^h 15' Harnportion III 250 „	
	8 ^h 15' 2 ¹ / ₂ Tassen Tee, 20 g Zucker, 250 g Kartoffeln	0,71
	11 ^h 15' Harnportion IV 435 ccm	

10. Nov. 8^h 15' Harnportion V 270 ccm
 8^h 15' 2 Tassen Tee, Zucker, Brot usw. $\frac{0,62}{19,53}$

Eingenommener N 19,530 g N
 Ausgegeben im Harn . . . $\frac{20,271 \text{ g N}}$
 Bilanz — 0,741 g N.

Harnmenge in ccm:

I. 420
 II. 575
 III. 250
 IV. 435
 V. 270
 VI. 110
2060

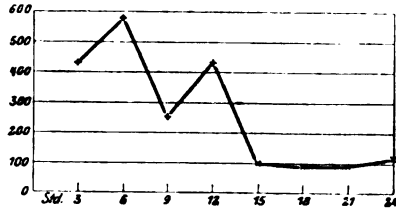


Fig. 7.

N-Gehalt in g:

I. 2,981
 II. 4,001
 III. 3,100
 IV. 3,520
 V. 4,676
 VI. 1,993
20,271

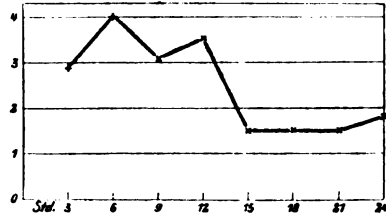


Fig. 8.

Harnsäure in mg:

I. 149,8
 II. 218,7
 III. 85,4
 IV. 120,9
 V. 116,9
 VI. 112,3
804,0

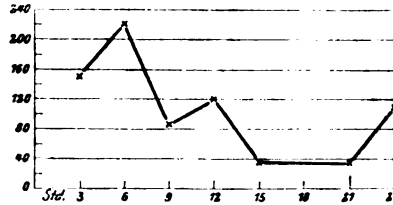


Fig. 9.

Diese Bilanz (— 0,741 g N) hat — für einen Tag aufgestellt — nicht sehr viel Wert.

Es ist in den Versuchen mit 400 g magerem Rindfleisch wohl zutreffend anzunehmen, daß der Organismus in Ermangelung von Fett und teilweise auch Kohlenhydraten, überhaupt von sparenden Bestandteilen, nun mehr zersetzt und ausscheidet, als er eingenommen hat.

Dieser 3. Versuch zeichnet sich aus durch eine beträchtliche Schwankung in der Kurve der Harnmengen, besonders in

der 2. und 4 Periode. Diese Tatsache, wie sie von E. Haas für den N-Gehalt nachgewiesen ist, scheint nun auch, obschon vielleicht in etwas geringerem Grade, für die Harnsäure einzutreten. Man vergleiche nur die Harnsäure und die Harnmenge, und man wird sie ziemlich übereinstimmend finden, nur steigt in der letzten Periode der 24 Stunden die Harnsäure relativ mehr als die Harnmenge.

Das wären also bis jetzt drei Normalversuche, wovon der dritte direkt vergleichbar ist mit den drei folgenden. Im 4. Versuche probierte ich, der gewöhnlichen N-reichen Nahrung 25 g Lacto-Somatose zu superponieren. (Das Präparat war die bekannte Milchsomatose, hergestellt in den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Cie., Elberfeld; auf unsere Anfrage hin stellte uns die Fabrik ein genügendes Quantum freundlichst zur Verfügung, wofür ich noch an dieser Stelle meinen Dank abstaten möchte.)

Die Somatose wurde entsprechend der Gebrauchsanweisung in etwas warmem (nicht zu heißem) Wasser angerührt und mittels eines Röhrchens eingenommen; dieses Präparat nun enthielt, um die übermäßige Darmreizung, welche, wie schon erwähnt, den Albumosen und Peptonen eigen ist, aufzuheben, 5% Tannin; ich war deshalb gezwungen, um die Frage der Albumosen rein zu studieren, zu der Frage des Einflusses von Tannin auf den Stoffwechsel Stellung zu nehmen und entsprechende Versuche anzustellen. Gerade in letzter Zeit ist diese Frage der Wirkung verschiedener Darmadstringenzien auf den Stoffwechsel Gegenstand eingehender Untersuchungen von pharmakologischer und physiologisch-chemischer Seite gewesen (Spiro, Schmiedeberg-Festschrift). Ich werde bei Besprechung meiner eigenen 3tägigen Versuche einen Vergleich mit den betreffenden Angaben aus der Literatur ziehen.

Versuch 4 vom 16./17. Nov.

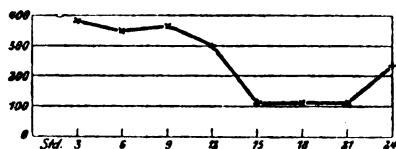


Fig. 10.

Harnmenge in ccm:

- I. 385
 - II. 350
 - III. 360
 - IV. 300
 - V. 325
 - VI. 240
-
- 1960

N-Gehalt in g:

I	3,180
II	3,890
III	3,074
IV	2,442
V	5,074
VI	2,126
	<hr/>
	19,786

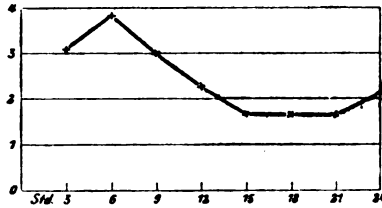


Fig. 11.

Harnsäure in mg:

I	202,2
II	209,5
III	120,3
IV	53,6
V	166,7
VI	111,6
	<hr/>
	863,9

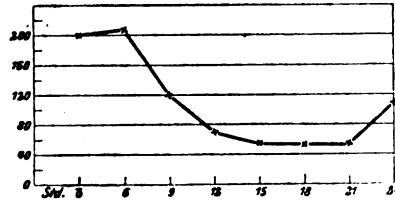


Fig. 12.

Versuchsübersicht.

		N-Einnahme in g
16. Nov.	8 ^h 30'	430 ccm Milch, 60 g Brot usw. 2,48
	11 ^h 30'	gründliche Harnentleerung 0,62
	11 ^h 30' bis 12 ^h	400 g Fleisch 13,73
		100 g Reis 1,25
		200 g Äpfel, 20 g Zucker 0,12
		25 g Lacto-Somatose 2,98
		(wovon 5% = 1,25 g Tannin)
	2 ^h 30'	Harnportion I 385 ccm
	5 ^h 30'	„ II 350 „
	8 ^h 30'	„ III 360 „
	8 ^h 30'	250 g Kartoffeln, 2 Tassen Tee usw. 0,71
	11 ^h 30'	Harnportion IV 300 ccm
17. Nov.	8 ^h 30'	„ V 325 „
	8 ^h 30'	2 Tassen Tee, Brot usw. 0,62
	11 ^h 30'	Harnportion VI 240 ccm
		<hr/>
		22,51
		Eingenommener N 22,510
		im Harn ausgeschieden 19,530
		<hr/>
		Bilanz + 2,970

Entsprechend den hohen Harnmengen im Anfange des Versuches zeigt die Kurve besonders die des N eine ziemliche Steigung nach der 6. Stunde, um dann langsam abzufallen; merkwürdig ist die geringe Gesamtausscheidung, so daß der Versuch noch mit einer + -Bilanz von 2,97 g (wenn nur der

Harn berücksichtigt wird) abschließt; verglichen also mit dem 3. Versuch ergibt sich trotz einer Mehreinnahme von 2,98 g N eine Minderausscheidung von ca. 0,485 g N bei sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Es ist nicht anders möglich, als daß entweder die Somatose oder das Tannin schuld war an dieser vorübergehenden Retention von N. Es wäre ja gut denkbar, daß die Somatose in dem Sinne sparend wirken würde, wie etwa Nahrungseiweiß oder die Kohlenhydrate, daß der Körper bei Aufnahme größerer Dosen von Somatose dafür weniger von seinem eigenen Körper-eiweiß zersetzen würde. An eine verlangsamte Resorption der Somatose ist wohl kaum zu denken schon aus dem Grunde nicht, weil sie in halbflüssigem Zustande genossen wird; aber diese Erwägungen beziehen sich alle nur auf die reine Somatose; die Sache wird wesentlich komplizierter durch Hinzutreten des Tannins; dabei ist nun nach meiner Ansicht der Fall einer verlangsamten Resorption sehr gut denkbar, und ich möchte diese Annahme nicht ohne weiteres von der Hand weisen; umgekehrt sprechen aber auch keine Gründe gegen eine verzögerte Ausscheidung durch Retention von N; es würde also die Resorption und Zersetzung des eingeführten N-haltigen Materials zwar in der richtigen Zeit und sonst ganz normal verlaufen, aber aus irgend einem Grunde würde der Körper befähigt, infolge Einführung dieses Tannins einen Teil des N zu retinieren.

Versuch 5 vom 19./20. Nov.

Versuchsbedingungen genau gleich wie bei 4, nur wurde die Somatose weggelassen und an ihrer Stelle einfach der gewöhnlichen Versuchskost so viel Tannin beigelegt, wie in 25 g Lacto-Somatose der Fabrik enthalten ist, nämlich 1,25 g.

Ein Teil dieser verhältnismäßig sehr großen Minderausscheidung ist nun sicher zurückzuführen auf das verabreichte Tannin, aber es hieße doch den Tatsachen Gewalt antun, wenn man nun ohne weiteres diese Minderausscheidung von 2,4 g (vergl. mit 3) lediglich dadurch das eingeführte Tannin erklären wollte; ich glaube, man muß auch an eine Reihe komplizierter physiologischer Faktoren teilnehmend denken, die durch einfache Bilanzstoffwechselversuche sich gar nicht recht ermitteln lassen. Gerade dieser 5. Versuch scheint mir ein Beispiel zu sein von einer plötz-

lichen Minderausscheidung, von der sich sicher nicht alles durch die Tanninwirkung erklären läßt; Spiro schreibt darüber: „Zunächst ist auffallend, daß in der Tannigenperiode der N des Harns vermindert ist, und wir sehen gleichzeitig eine Vermehrung des N im Kote derart, daß die Gesamtausfuhr des N nur um einen kleinen Betrag gegen den Normalwert erhöht ist, gewissermaßen nur eine Verschiebung stattgefunden hat.“

Harnmenge in com:

- I. 545
- II. 275
- III. 325
- IV. 193
- V. 700
- VI. 150

2188

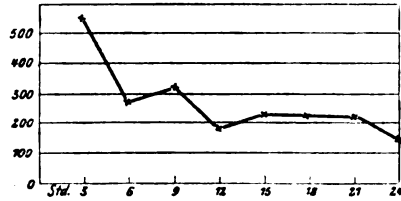


Fig. 13.

N-Gehalt in g:

- I. 2,610
- II. 2,905
- III. 2,679
- IV. 2,692
- V. 5,056
- VI. 1,855

17,797

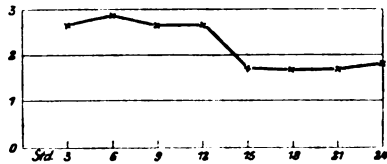


Fig. 14.

Harnsäure in mg:

- I. 175,4
- II. 215,8
- III. 101,8
- IV. 89,6
- V. 190,6
- VI. 98,3

871,5



Fig. 15.

Ausgehend von dieser Beobachtung Spiros habe ich den Kotstickstoff dieses Tages auch bestimmt und 2,164 g gefunden, also eine verhältnismäßig hohe Zahl.

Im Harn 17,797

Im Kote 2,164

19,961

Eingenommener N 19,530

Bilanz — 0,431

um einen zweiten vermehrte.

Durch diesen 5. Versuch waren nun einigermaßen die Vorbedingungen geschaffen zum Verständnis des Somatoseversuches 4, den ich der Sicherheit halber durch Nr. 6

Versuch 6 vom 26./27. Nov.



Fig. 16.

Harnmenge in ccm:

- I. 293
- II. 285
- III. 270
- IV. 217
- V. 808
- VI. 150

2023

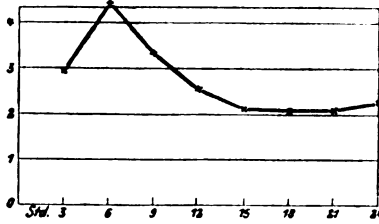


Fig. 17.

N-Gehalt in g:

- I. 2,961
- II. 4,461
- III. 3,326
- IV. 2,576
- V. 6,346
- VI. 2,233

23,903

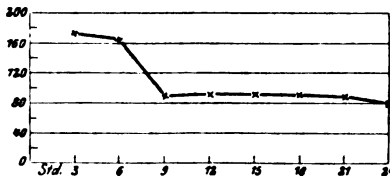


Fig. 18.

Harnsäure in mg:

- I. 167,9
- II. 162,4
- III. 92,1
- IV. 89,4
- V. 268,3
- VI. 80,9

861,0

Entsprechend der hohen Harnmenge ist hier auch die Zahl des Harnstickstoffs hoch herausgekommen. Sie zeigt eine kolossale Erhebung nach der 6. Stunde und fällt dann langsam ab; der Nachtharn ist sehr reichlich und relativ konzentriert. Die Harnsäurekurve hat ihre Erhebung nach der 6. Stunde verloren und verläuft ziemlich gleichmäßig gleichfalls auch mit sehr hohen Werten für den Nachtharn.

Versuch 7 vom 19./20. Febr. 09.

Zum Schlusse folgt noch ein Zeitversuch mit einer sehr großen Dosis (50 g) Lacto-Somatose.

Harnmenge in ccm:

I.	490
II.	400
III.	350
IV.	420
V.	400
VI.	200
<hr/>	
	2260

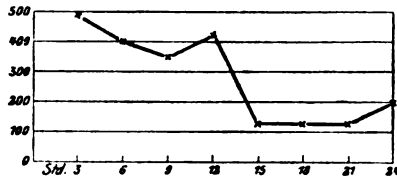


Fig. 19.

N-Gehalt in g:

I.	3,445
II.	4,241
III.	3,094
IV.	3,276
V.	5,124
VI.	4,151
<hr/>	
	23,331

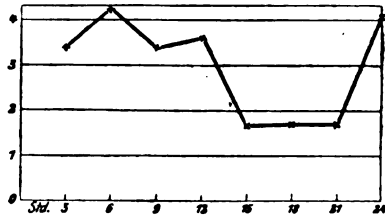


Fig. 20.

Harnsäure in mg:

I.	207,85
II.	155,28
III.	93,54
IV.	140,66
V.	97,75
VI.	210,92
<hr/>	
	906,00

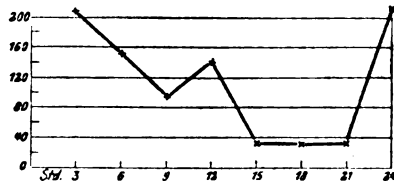


Fig. 21.

N-Einnahme in g

19. Febr.	8 ^h 15'	430 ccm Milch, Brot usw.	2,48
	11 ^h 15'	gründliche Harnentleerung	0,62
	11 ^h 15'	Standardnahrung:	
		404 g Fleisch	13,73
		100 g Reis	1,25
		200 g Apfelkompott, 20g Zucker	0,12
		+ 50 g Lacto-Somatose	5,96
	2 ^h 15'	Harnportion I 490 ccm	
	5 ^h 15'	„ II 400 ccm	
	8 ^h 15'	„ III 350 ccm	
	8 ^h 15'	250 g Kartoffeln, Tee usw.	0,71
	11 ^h 15'	Harnportion IV 420 ccm	
20. Febr.	8 ^h 15'	„ V 400 ccm	
	8 ^h 15'	Frühstück 430 ccm Milch usw.	
	11 ^h 15'	Harnportion VI 200 ccm	

24,87

Zusammenfassung der 7 Versuche des Teiles I.

Zusammengefaßt ergeben die 7 Versuche, daß eine charakteristische Beeinflussung des zeitlichen Verlaufes der Ausscheidung von Gesamtstickstoff und Harnsäure innerhalb 24 Stunden durch Superposition von Albumosen auf eine eiweißreiche Kost nicht stattfindet.

Ob tatsächlich keine Beeinflussung der Leber dabei stattfindet oder ob diese, weil nur eine Teilerscheinung, verdeckt wird, kann hieraus nicht erschlossen werden.

II. Teil.

Es konnte nun daran gedacht werden, daß in längeren Perioden als solche von einzelnen Stunden innerhalb eines Tages die vermutete und durch ganz andere Methoden nahegelegte Beeinflussung der Lebertätigkeit zum Ausdruck kommen würde; deshalb habe ich im zweiten Teile dieser Arbeit Versuche von je 3tägiger Dauer angestellt. Am 1. und 3. Tage genoß ich die Standardkost, am 2. Tag die Standardkost + die superponierte Albumose. Durch diese Art der Versuchsanordnung war auch der Vergleich ein leichter, weil die zu vergleichenden Verhältnisse zeitlich nebeneinander lagen. Bestimmt wurden nun nur die ganzen während 24 Stunden ausgeschiedenen Stickstoff- und Harnsäuremengen. In den 3 ersten Versuchen wurde lediglich die Wirkung des Tannins untersucht, um eine Basis zur Beurteilung des Tanninzusatzes der Somatose zu haben.

Ich bespreche die Versuche des Teiles II im einzelnen:

Die folgenden Versuche erstrecken sich je über 3mal 24 Stunden; es wurde jeden Tag stets dasselbe Frühstück gegessen, bestehend in:

	N-Gehalt in g
60 g Brot . .	0,60
430 ccm Milch	2,48
16 g Butter .	0,02
Etwas Konfitüre	<hr style="width: 50%; margin-left: auto; margin-right: 0;"/>
	3,10

Ich will dasselbe der Kürze halber in Zukunft nur noch als „Normalfrühstück“ bezeichnen.

Das Mittagessen bestand aus:

	Eiweiß in %	Eiweiß	N-Gehalt in g
404 g Fleisch .	21,25	85,85	13,73
100 g Reis . .	7,81	7,81	1,25
200 g Apfel .	0,39	0,78	0,12
20 g Zucker	—	—	—
			15,10

Dieses Mittagessen mit einem zu 15,10 g N berechneten Stickstoffgehalt soll jetzt die „Standardnahrung“ darstellen.

Am Abend wurden genossen: 250 g Kartoffeln, 2 Tassen Tee, 20 g Zucker mit einem N-Gehalt von 0,71 g.

Totale Einnahme des Normaltages also 18,91 g N.

Von den meisten dieser Tage habe ich auch, soweit es mir gelang, den Kotstickstoff bestimmt; die Abtrennung der einzelnen Tage führte ich mit Heidelbeerkonfitüre durch, doch sind die Resultate des Kotstickstoffs nicht alle einwandfrei, so daß diejenigen, die mir anfechtbar schienen, weggelassen oder mit einem Fragezeichen versehen sind.

Versuche 8, 9, 10

vom 1./2. 2./3. 3./4. Dzbr. 08.

	8	9	10
Frühstück	normal	normal	normal
Mittagessen	250 g Kartoff., Tee	250 g Kartoff., Tee	normal (ohne Tannin)
Abendessen	normal (ohne Tannin)	normal + 1,25 g Tannin	250 g Kartoff., Tee
Frühstück	normal	normal	normal
N-Ausscheidung im Harn	20,068 g	19,384 g	20,844 g
„ im Kot .	1,64 g	1,628 g	1,088 g
Harnsäure	907,17 mg	961,51 mg	951,13 mg
N-Ausscheidung, total . .	21,708 g	21,012 g	21,932 g
N-Einnahme	18,91 g	18,91 g	18,91 g
Bilanz, total	— 2,798 g N	— 2,102 g N	— 3,022 g N
Bilanz aus dem Harn . .	— 1,158 g N	— 0,474 g N	— 1,934 g N

Versuche 11, 12, 13
vom 14./15. 15./16. 16./17. Dzbr. 08.

	11	12	13
Frühstück	normal	normal	normal
Mittagessen	normal (ohne Tannin)	normal + 25 g Lacto-Somatose	normal (ohne Tannin)
Abendessen	250 g Kartoff., Tee	250 g Kartoff., Tee	250 g Kartoff., Tee
Frühstück	normal	normal	normal
N im Harn	21,448 g	20,861 g	20,918 g
N im Kot	5,16:3 g	5,16:3 g	5,16:3 g
Harnsäure	907 mg	964,37 mg	1003,25 mg
N-Ausscheidung, total . .	23,168 g	22,581 g	22,638 g
N-Einnahme	18,91 g	21,89 g	18,91 g
N-Bilanz, total	- 4,258 g N	- 0,691 g N	- 3,728 g N
N-Bilanz im Harn	- 2,538 g N	+ 1,029 g N	- 2,008 g N

Versuche 14, 15, 16
vom 7./8. 8./9. 9./10. Jan. 09.

	14	15	16
Frühstück	normal	normal	normal
Mittagessen	normal (ohne Tannin)	normal (+ 25 g Lacto-Somatose)	normal (ohne Tannin)
Abendessen	250 g Kartoff., Tee	Kartoffeln, Tee	Kartoffeln, Tee
Frühstück	normal	normal	normal
N im Harn	22,40 g	23,094 g	21,686 g
N im Kot	3,25 g (?)	4,424 g	1,512 g
Harnsäure	1022,87 mg	1189,8 mg	1032,6 mg
N-Ausscheidung, total . .	25,65 g	27,518 (?)	23,198 g
N-Einnahme	18,91 g	24,87 g	18,91 g
N-Bilanz, total	- 6,74 g N (?)	- 2,648 g N	- 4,288 g N
N-Bilanz im Harn	- 3,49 g N	+ 1,776 g N	- 2,776 g N

Ohne } Tanninwirkung { 11,6% (Erklärung siehe später).
Mit } { 28,4%

Versuche 17, 18, 19
vom 17./18. 18./19. 19./20. Jan. 09.

	17	18	19
Frühstück	normal	normal	normal
Mittagessen	2,5 g Tannin + normal	normal + 25 g Lacto-Somatose	normal + 2,5 g Tannin
Abendessen	250 g Kartoffel., Tee	Kartoffeln, Tee	Kartoffeln, Tee
Frühstück	normal	normal	normal
N im Harn	19,003 g	20,387 g	20,685 g
N im Kot	fehlt	fehlt	fehlt
Harnsäure	1021,2 mg	1154,3 mg	1159,1 mg
N-Ausscheidung, total . .	—	—	—
N-Einnahme	18,91 g	24,87 g	18,91 g
Bilanz, total	—	—	—
Bilanz im Harn	- 0,093 g N	+ 4,483 g N	- 1,775 g N

Ohne } Tanninwirkung { 23,2%
Mit } Tanninwirkung { 51,4%

Versuche 20, 21, 22
vom 1./2. 2./3. 3./4. Febr. 09.

	20	21	22
Frühstück	normal	normal	normal
Mittagessen	normal + 2,5 g Tannin	normal + 50 g Lacto-Somatose	normal + 2,5 g Tannin
Abendessen	250 g Kartoffel., Tee	Kartoffeln, Tee	Kartoffeln, Tee
Frühstück	normal	normal	normal
N im Harn	19,993 g	21,056 g	20,605 g
N im Kot	$\frac{6,69}{3} = 2,23$ g	2,23 g	2,23 g
Harnsäure	1022,8 mg	1138,75 mg	961,65 mg
N-Ausscheidung, total . .	22,223 g	23,286 g	22,835 g
N-Einnahme	18,91 g	24,87 g	18,91 g N
Bilanz des N, total . . .	- 3,313 g N	+ 1,584 g N	- 3,925 g N
Bilanz im Harn	- 1,083 g N	+ 3,814 g N	- 1,695 g N

Ohne } Tanninwirkung { 17,8%
Mit } Tanninwirkung { 28,1%

Zwei Umstände sind es nun, die das Studium der reinen Albumoswirkung störend beeinflussen: einmal die Tatsache, daß das Somatosepräparat mit 5% Tannin versetzt war; die Spirosche Arbeit war für mich, was ev. Zahlen für die Be-

rechnung anbetrifft, nicht direkt verwertbar (Andere Versuchsbedingungen, andere Versuchstiere); sie war aber wichtig wegen der bemerkenswerten Tatsachen, welche Spiro gefunden hat. Für meine eigene Versuchsanordnung mußte ich durch eigene Versuche mir das Material für eine exakte Berechnung schaffen; ich glaube in der Tat auch über zwei Versuche zu verfügen, wo die reine Tanninwirkung zur Geltung kommt:

Für geringere Tanninwirkung (1,25 g) kommt zunächst die Differenz von Versuch 10 und 9 in Betracht:

$$20,844 \text{ g} - 19,384 \text{ g} = 1,46 \text{ g N.}$$

1,46 g ist also die Minderausscheidung von N im Harn, hervorgerufen durch eine Dosis von 1,25 g Tannin. Diese 1,46 g können also als Norm angenommen werden für eine einmalige Verabreichung; wenn aber, und dies geschah in den Versuchen 17 bis 22, jeden Tag Tannin gegeben wird, so gewöhnt sich der Organismus gleichsam daran, und wir können deshalb, wie dies durch Subtraktion der Resultate 19 und 21 leicht ersichtlich ist, selbst bei den doppelten Tanninmengen geringere Minderausscheidung haben, nur 1,049 g. Diese Zahl ist nun wahrscheinlich doch etwas zu niedrig, denn die „Gewöhnung“ des Organismus, von der wir reden, war sicher am 2. Tage noch nicht so stark wie am 3. Diese Zahlen 1,46 g N resp. 1,049 g N müssen also an den entsprechenden Orten berücksichtigt werden, und bevor wir zur Berechnung der Somatosewirkung übergehen, muß ich noch auf einen zweiten Umstand aufmerksam machen, der die exakte Berechnung der Versuche etwas stört: es ist dies nämlich die konstant wieder erscheinende Unterbilanz des N an den Versuchstagen 8, 11, 14, 17, 20.

Es sieht auf den ersten Blick gerade so aus, wie wenn an den vorhergehenden Tagen vor Beginn des Versuches mehr N-haltige Nahrung genossen worden wäre als in den eigentlichen Versuchen; das ist nun aber unrichtig, und die konstant wiederkehrende Unterbilanz hat ihren Grund einfach im Wegfall von sparenden Nahrungsstoffen, wie Fett und Kohlenhydraten, die allerdings, wie schon erwähnt, in den Tagen vor dem Versuch reichlich genossen wurden. Diese Erscheinung trübt die ganze Berechnung ein wenig, und weil sie sich nicht wie die Tanninwirkung als Versuchskonstante eliminieren läßt, muß immerhin darauf Rücksicht genommen werden bei den Schlußfolgerungen.

Wieviel Prozent der superponierten Somatose ist im Harn erschienen?

Beginnen wir mit den letzten Versuchen:

I. 20, 21, 22.

a) In Betracht gezogen werden nur die mittleren Versuchstage, d. h. die prozentische Berechnung erstreckt sich zunächst nur auf die Mehrausscheidung am Versuchstage selbst.

Mehreinfuhr 5,96 g, davon erschienen im Harn 20 gegenüber 19

$$\begin{array}{r} 21,056 \\ 19,993 \\ \hline 1,063 \text{ g} \end{array}$$

bezogen auf 5,96 = 17,8%.

b) Es wird angenommen, ein Teil der in Nr. 21 eingeführten Somatose sei verspätet im Harn erschienen, erst im Versuchstag 21, und zwar würde das machen 20,605 g — 19,993 g = 0,612 addiert zu den 1,063 g des Haupttages = 1,675 g, bezogen auf die Mehreinfuhr von 5,96 g = 28,1%.

II. Versuche 17, 18, 19. Analog gefundene Resultate:

a) 23,2% b) 51,4% (!)

Die Resultate dieses Versuches, besonders II b, scheinen mir etwas zu hoch zu sein, ohne daß ich einen Grund hierfür anzugeben wüßte, die Resultate 20, 21 und 22 scheinen mir aber zuverlässiger.

III. Versuche 14, 15, 16.

$$\begin{array}{r} 23,094 \\ 22,400 \\ \hline 0,694 \text{ g} \end{array}$$

bezogen auf die Mehreinfuhr von 5,96 g = 11,6%, aber ohne Berücksichtigung der Tanninwirkung, was natürlich geschehen muß; diese zu 1,049 g (Differenz zwischen 15 und $\frac{18+21}{2}$) angenommen, ergibt sich:

$$\begin{array}{r} 1,049 \\ 0,694 \\ \hline 1,743 \text{ g} \end{array}$$

bezogen auf 5,96 g = 29,2%.

IV. Versuche 11, 12, 13. Sichere Tanninwirkung

$$\begin{array}{r} 20,844 \\ 19,384 \\ \hline 1,460 \text{ g} \end{array}$$

eher etwas mehr.

Dies addiert zu 11	20,861
	1,460
	22,321
Davon subtrahiert 19	21,448
	0,873 g

bezogen auf 2,98 g = 29,3%.

Besonders die letzten Resultate: 29,2% für eine größere und 29,3% für eine kleinere Dosis Albumosen stimmen recht gut überein.

Für die Entscheidung der Frage, ob sich Albumosen in dieser Weise superponiert einer Standardnahrung gleich verhielten wie andere, genuine Eiweißkörper, fand ich Anhaltspunkte in der Literatur bei Falta und Vogt; die Versuchsanordnung Falta's weicht aber von der meinigen ab, indem er die superponierte Nahrung in vier Portionen einfuhrte, während ich ja alles auf einmal genoß; ich kann deshalb auch die interessanten Falta'schen Resultate meiner Vergleichung nicht zu-

Datum	N im Harn
25. Jan.	9,52
26. „	11,18
27. „	10,28
28. „	12,22 *
29. „	11,29
30. „	11,40
31. „	9,55
1. Febr.	11,23
2. „	11,63
3. „	9,74
ferner:	
3. April	12,55
4. „	11,96
5. „	11,71
6. „	12,97 **
7. „	10,44
8. „	10,87
9. „	10,90
10. „	11,78
11. „	11,54

* Zulage von 80 g uncoagul. Eiereiweiß (10,62 g N).

** Zulage von 70 g Eiereiweiß (9,3 g N).

grundelegen. Besser für meine Zwecke waren schon die Voigt'schen Resultate zu verwerten, und aus seiner Tabelle lassen sich durch analoge Berechnung, wie ich sie bei meinen Tabellen angestellt habe, folgende prozentischen Verhältnisse finden: 17,8% resp. 26,8% für 80 g koaguliertes Eiereiweiß oder 18,3% für den 1. Tag berechnet bei Zulage von 70 g Eiereiweiß. Also eine sehr schöne Übereinstimmung mit den Versuchen 20, 21, 22: 17,8% resp. 28,1%. Warum die Übereinstimmung bei 17, 18, 19 sich nicht findet, läßt sich nicht sicher erklären.

Wir kommen also durch das Übereinstimmen der Resultate 20, 21, 22 mit denen von Vogt zum Schlusse, daß sich bei Albumosen-Nahrung die N-Ausscheidung im

Harn ähnlich verhalte, wie nach Einnahme von genuinen Eiweißkörpern, speziell das von Vogt benutzte Eiereiweiß, wenn sie einer N-reichen Nahrung superponiert werden.

Nun zum Schlusse noch ein Wort zu der Tatsache, daß nur so wenig von dem eingeführten Stickstoffe der Albumosen im Harn erschien; es scheinen mir zur Erklärung drei Möglichkeiten vorzuliegen:

a) Von der eingeführten Somatose ist einfach ein Teil wieder unzersetzt, vom Körper gar nicht aufgenommen, im Kote ausgeschieden worden.

b) Es erfolgte eine Aufnahme, und der Körper hat das Aufgenommene zum Ersatz für verlorenes Material, überhaupt für den Ansatz gebraucht.

c) Die Aufnahme ist ebenso prompt erfolgt wie z. B. bei der Standardnahrung, aber der N der Somatose ist aus irgend einem Grunde retiniert worden.

ad a) Hierzu ist zu bemerken, daß eine verminderte Ausscheidung von N im Harn noch lange nicht für eine solche schlechte Ausnützung der Nahrung spricht. Bei der leichten Löslichkeit der Albumosen liegen, zusammengenommen mit der positiven Beobachtung Falta's, daß die Denaturierung die Resorption begünstigt, wirklich keine Gründe zu dieser Annahme vor; hier ist auch anzuführen, daß keine der gelungenen Kotanalysen direkt dagegen spricht, und es ist klar, daß es sich im Kote vor allem doch zeigen müßte, wenn viel Albumosenstickstoff nicht aufgenommen wäre.

ad b) Wirken vielleicht die aufgenommenen Albumosen in dem Sinne sparend wie Nahrungseiweiß, Fette und Kohlenhydrate? Der Körper hat ja am Vortage des Versuches stets mit einer Unterbilanz, und zwar einer beträchtlichen, gearbeitet; ergreift er nun gleichsam die Gelegenheit, um das verloren gegangene Material des Versuchstages durch die Aufnahme dieser Albumosen zu decken und aus dem Grunde den Albumosenstickstoff nicht im Harn erscheinen zu lassen? Es wäre denkbar, anzunehmen, der Körper habe die Albumosen sehr gut resorbiert, weil sie ihm in leichter verdaulicher Form geboten wurden, und habe dafür weniger Fleisch, sei es aus der Standardkost oder von seinem eigenen Fleischbestand zersetzt; gegen diesen wohl berechtigt erscheinenden Einwand scheint mir nun aber folgender Grund zu sprechen:

Es müßte sich eine Verminderung der Fleischzersetzung sofort in einem merklichen Sinken der Harnsäurewerte bemerkbar machen, denn wir wissen ja, daß überall, wo Fleisch zerfällt, sei es nun bei reichlicher Fleischzufuhr aus der Nahrung oder im Hunger (und Fieber z. B.) das des eigenen Körpers, stets ein beträchtliches Steigen der Harnsäurewerte stattfindet. Bei allen Versuchen zeigt sich aber nur eine leichte Steige-

rung bei Zufuhr des Milchsomatosepräparates; auf alle Fälle nie ein Sinken; wir können ungefähr aus den Kontrollversuchen mit dem Tannin annehmen, daß die Milchsomatose ohne Einfluß ist, wie es ja eigentlich auch zu erwarten war, und die stattfindende leichte Steigerung können wir dem Tannin zuschreiben.

ad c) Retention bei nachweislicher Verarbeitung des N-haltigen Materiales haben in einer sehr bemerkenswerten Arbeit Borchardt und Lange gezeigt. Sie verfütterten in Versuchen am Menschen Leucin, um den Einfluß desselben auf die Acetonkörperbildung zu studieren, und bei gleichzeitiger Stickstoffbestimmung im Harn machten sie, obschon ein N-haltiger Körper verfüttert worden war, folgende Beobachtung:

„Von den anderen Resultaten ist nicht ohne weiteres verständlich die N-Ausscheidung. Es zeigt sich nämlich, daß an den Leucintagen die N-Ausfuhr nicht ansteigt; gegen die Annahme, daß das Leucin überhaupt nicht assimiliert worden sei, spricht der Umstand, daß die Acetonkörperausscheidung gestiegen ist, und wir glauben — wie gesagt — daß sich das mehr ausgeschiedene Aceton aus dem zugeführten Leucin gebildet hat; um 2,296 g β -Oxybuttersäure vermehrt auszuschcheiden, müßten rund 3 g Leucin zersetzt worden sein mit 0,32 g N. Da aber die Stickstoffausscheidung sogar noch niedriger ist als an den anderen Versuchstagen, so ist der N des zersetzten Leucins offenbar retiniert worden. — Diese Überlegung spricht deutlich für die Unrichtigkeit der Anschauung, daß die N-Ausscheidung ein zuverlässiger Indicator für den Abbau N-haltiger Substanzen im Organismus sei. Nachdem der Beweis erbracht war, daß das Leucin zu den Muttersubstanzen der Acetonkörper zu zählen sei, mußte es also auch in den Stoffwechsel eingetreten und zersetzt worden sein, ohne daß die N-Ausscheidung anstieg.“

Die beiden Autoren haben also nach Verfütterung eines N-haltigen Körpers eine typische Retention beobachtet, und es muß daher auch daran gedacht werden, daß nach Albumosenaufnahme eine analoge Retention stattfindet.

Welcher Faktor nun von diesen drei in der Diskussion angeführten der wichtigste ist, ob vielleicht nur einer wichtig ist, ob sie alle drei in Betracht kommen, oder ob gar noch andere hier in der Diskussion nicht erwähnte Dinge eine Rolle spielen, ist an diesen Versuchen nicht bestimmt zu entscheiden. Es wird anders gearteter Versuche bedürfen, um hierüber eine sichere Aufklärung zu erhalten.

Auf eine Tatsache muß ich noch eingehen, deren Untersuchung nicht im Plane der Arbeit lag, die aber konstant wiederkehrt, so daß sie berücksichtigt werden muß; es ist dies der Einfluß des Tannins sowohl auf die Stickstoffausscheidung im Harn als auch ganz besonders auf die Harnsäureausscheidung. Es scheint auf den ersten Blick sehr eigentümlich, daß in den

Organismus eingeführtes Tannin die Harnsäureausscheidung beeinflussen könne, und doch spricht die konstant wiederkehrende leichte Steigerung der Harnsäurewerte des mittleren Versuchstages, sowohl an den reinen Tannintagen als auch an den Tagen mit Milchsomatose entschieden dafür. Da, wie schon früher erwähnt, die Milchsomatose keine Purinkörper enthält, ist die Zufuhr von exogenen Harnsäurebildnern ausgeschlossen.

Für diese leicht gesteigerte Ausscheidung können nur zwei Faktoren verantwortlich gemacht werden: Einmal kann unter dem Einflusse des Tannins der Körper zu vermehrter Bildung von Harnsäure gereizt werden oder vielleicht auch hindert das eingeführte Tannin in geringem Grade den normalerweise vor sich gehenden Abbau eines Teiles der Harnsäure. Da meine Versuche keine Anhaltspunkte tatsächlicher Natur geben, verzichte ich auf eine theoretische Diskussion dieser Faktoren.

Nun noch ein Wort über die Wirkung des verwendeten Lacto-Somatosepräparates. Nach meinen Untersuchungen in den von mir benutzten, teilweise sehr hohen Dosen kann ich mich über dasselbe nur in gutem Sinne aussprechen. Die Reizwirkung auf den Darm, wie sie anderen Albumosepräparaten eigen ist, wurde durch das beigefügte Tannin (5%) gut aufgehoben. Es kann also das Präparat, soweit aus meinen Versuchen Schlüsse erlaubt sind, in jeder Beziehung empfohlen werden. Das soll heißen, daß die Zugabe dieses Präparates zur Nahrung bewirkt, daß nicht aller Stickstoff, der aufgenommen wird, ausgeschieden wird. Es kann daher eine negative N-Bilanz durch das Präparat in eine positive verwandelt werden. Die Bedeutung dieser Tatsache, die bis vor kurzem sehr einfach aufgefaßt wurde, bedarf noch der Aufklärung.

Resultate der Arbeit.

1. Die Untersuchung der zeitlichen Verhältnisse der Ausscheidung von Gesamt-Stickstoff und Harnsäure innerhalb eines Tages für superponierte Albumose in der Kost gibt auf dem hier vorgenommenen Wege keine Anhaltspunkte wie die histologische Untersuchung für einen merklichen Einfluß der Albumosenahrung auf die Lebertätigkeit.

2. Die Harnsäureausscheidung wird durch Milchsomatose nicht, oder doch nur sehr wenig vermehrt.

3. Tannin macht schon in geringen Dosen eine leichte Steigerung der Harnsäureausscheidung im Harn; diese kann beruhen:

- a) auf vermehrter Bildung,
- b) auf verminderter Zersetzung.

4. Wird einer N-reichen Kost auf einmal eine große Dosis (bis 50 g) Milchsomatose superponiert, so verhält sich diese im Prinzip gleich wie genuine Eiweißkörper, das heißt: die Art der Ausscheidung von Gesamt-Stickstoff und Harnsäure ist dieselbe wie bei Superposition von Eiweiß auf eine stickstoffreiche Kost.

5. Ob die Milchsomatose im Körper zum Eiweißansatz verwertet wird oder ob sie ganz abgebaut und ihre Abbauprodukte nur zeitweise retiniert und dann ausgeschieden werden, läßt sich vorläufig noch nicht entscheiden. Gegen Ansatz sprechen immerhin die normalen Harnsäurewerte; für Retention die analoge Beobachtung bei Verfütterung von Leucin.

Literatur.

Abderhalden, Lehrbuch d. physiologischen Chemie, 2. Aufl, 1909.
Boehm, Über den feineren Bau der Leberzellen bei versch. Ernährungszuständen. Zeitschr. f. Biol. 51.

Borchardt und Lange, Über den Einfluß der Aminosäuren auf die Acetonkörperausscheidung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 1907.

Crohnheim, Beiträge zur Beurteilung der Frage nach dem Nährwert der Spaltungsprod. des Eiweißes. Arch. f. d. ges. Physiol. 106, 1905.

Ellinger, Ernährungsversuche mit Drüsenpepton. Zeitschr. f. Biol. 15, 1896.

Falta, Der Eiweißstoffwechsel bei der Alkaptonurie. Archiv f. klin. Med. 81, 1904.

Falta, Studien über den Eiweißstoffwechsel. Ebenda 86, 1905.

E. Haas, Über die Beziehungen zwischen der stündl. N-Ausscheidung und der Darmresorption in ihrer Abhängigkeit von Ruhe, Arbeit und Diurese. Diese Zeitschr. 12, 1908.

Kusmine, Über den Einfluß der Lymphagoga auf d. Leber. Zeitschr. f. Biol. 46.

Spiro, Die Wirkung der Darmadstringenzen auf den Stoffwechsel, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. „Schmiedeberg-Festschrift“ 1908.

Tigerstedt, Lehrbuch d. Physiol. 1, 90, 1897.

Tschlenoff, Korr.-Blatt f. Schweizer Ärzte 1896.

Veraguth, Journ. of Physiol. 21, 112, 1897.

Vogt, Der zeitliche Ablauf der Eiweißzersetzung bei verschiedener Nahrung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 1906.

Zur Kenntnis des Einflusses der Salze auf die Dialyse der Peroxydase.

I. Mitteilung.

Von

Jan Bielecki.

(Aus dem chem. Laboratorium der Universität u. dem Privatlaboratorium von A. Bach in Genf.)

(Eingegangen am 27. Juli 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Eine der charakteristischen Eigenschaften der Enzyme ist, daß sie sich wie Kolloide verhalten, u. a. daß sie sehr schwer dialysieren. Da aber in den pflanzlichen wie tierischen Organismen die Enzyme überall verbreitet sind, so müssen wohl gewisse Vorkehrungen getroffen sein, die die Dialyse begünstigen oder verursachen können.

Es waren bis jetzt, meines Wissens, keine Untersuchungen vorgenommen worden, um die Bedingungen der Dialyse der Enzyme zu ergründen. Bezugnehmend auf die mir gütigst gemachte Privatmitteilung von Herrn A. Bach, daß Peroxydase-lösungen unter dem Einfluß der Alkalicarbonate dialysieren, und auf seine Veranlassung habe ich Versuche angestellt, um zu erforschen, ob eventuell auch verschiedene im pflanzlichen Organismus vorkommende Salze einen Einfluß auf die Dialyse der Peroxydase ausüben können.

Seit Grahams klassischen Untersuchungen über die Dialyse sind vielerlei Dialysatoren, verschieden sowohl nach der Art der benutzten Membran als auch nach der Form, zur Anwendung gekommen.

Graham¹⁾ benutzte Dialysatoren mit einem Pergamentboden. Wittich und Kühne bedienten sich eines ähnlichen Dialysators zur Dialyse des Hühnereiweißes und zur Trennung von Globulin: Hoppe-

¹⁾ Liebigs Annal. 121, 1862.

Seyler gebrauchte als Dialysationsmembran eine Schweineblase. Botkin¹⁾ benutzte, nachdem er die Eierschale mittels verdünnter Salzsäure aufgelöst hatte, als Dialysationsmembran die Membran des Hühnereies. Metschnikoff²⁾ gebrauchte sehr zarte und kleine Flächen bietende Markhäutchen von Schilfrohr (*Phragmites communis*). — Chassin und Moussu³⁾ verwandten bei ihren Untersuchungen über die Durchlässigkeit der Darmwand in bezug auf Bakteriengifte verschiedene Darmteile als dialysierende Haut und besonders das Gewebe des Dünndarmes. — Von verschiedenen Forschern, wie Metschnikoff, Roux und Taurelli-Salimbeni⁴⁾, Nocard, Rodet und Guéchoff⁵⁾, Borrel, Malfitano u. a., wurden als Dialysationsmembran auch Kollodiumsäckchen benutzt. Pasoucci⁶⁾ bereitete dialysierende Häute dadurch, daß er einen feinen Seidenstoff mit Cholesterin oder Lecithin oder Gemengen davon sorgfältig imprägnierte. R. P. van Calcar⁷⁾ hat Amnionhaut des Menschen und der größeren Tiere als Dialysationsmembran angewandt. Wiechowski⁸⁾ gebrauchte schnell dialysierende Membranen aus dem Blinddarm von Schafen.

Die von mir benutzten Dialysatoren waren kleine, zylinderförmige, tierische Pergamentsäckchen von ungefähr 4 bis 5 cm Durchmesser und von etwa 100 ccm Inhalt, dessen gefaltete Ränder an einen gläsernen Ring angenäht waren. Am Ringe waren zwei Ösen zum Aufhängen an einem Faden angebracht.

Die zur Untersuchung gelangte Peroxydaselösung wurde auf folgende Weise dargestellt: 5 bis 6 kg gereinigte, weiße Rüben wurden abends in der Hackmaschine fein zerkleinert, während der Nacht der Autolyse überlassen, und am folgenden Tage wird der Brei abgepreßt. Der erhaltene Saft wurde filtriert, mit vierfachem Volumen absoluten Alkohols versetzt, der Niederschlag nach dem Absitzenlassen abfiltriert, im Vakuum über Chlorcalcium getrocknet und dann in demselben Volumen destillierten Wassers, wie das des ursprünglichen Saftes war, gelöst und mit 1% Toluol gemischt.

Das Aktivierungsvermögen der auf diese Weise erhaltenen Peroxydaselösung wurde nach der Bachschen⁹⁾ Methode be-

1) Virchows Archiv 20, 39 bis 42, 1861.

2) Annales de l'Inst. Pasteur 1, 1887.

3) Compt. rend. Soc. biol. 52, 694, 1900.

4) Annales de l'Inst. Pasteur 1896.

5) Compt. rend. Soc. biol. 52, 962, 1900.

6) Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 552, 1905.

7) Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 93.

8) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 232, 1907.

9) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 3787, 1904.

stimmt, indem einerseits 1 g Pyrogallol mit 10 ccm 1%iger Hydroperoxydlösung und 40 ccm der Peroxydaselösung und andererseits 1 g Pyrogallol mit 40 ccm 1%iger Hydroperoxydlösung und 10 ccm der Peroxydaselösung zu Purpurogallin (0,1664 g und 0,0420 g) oxydiert wurden. Es betrug 0,25.

Das Verfahren der Dialyse war immer folgendes:

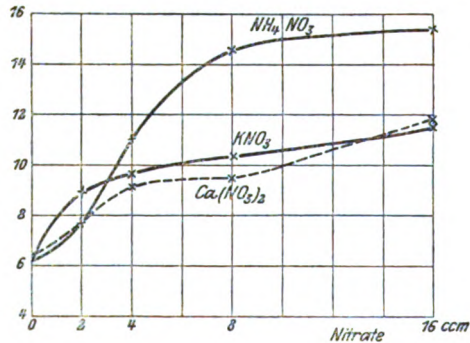
Man füllte den Dialysator zunächst mit 10 ccm Peroxydaselösung und mit 16 ccm destillierten Wassers und dialysierte das Ganze in einem Becherglase während 24 Stunden gegen 100 ccm destillierten Wassers. Um die Temperatur bei der Dialyse konstant zu halten, wurden die Bechergläser mit einem Bleiring versehen und in eine große Zinkblechwanne, durch die ein kontinuierlicher Strom Wasser floß, gestellt. Auf diese Weise hielt sich die Temperatur der Dialyse trotz des veränderlichen Sommerwetters in den Grenzen von 14 bis 16° C. Nach Ablauf von je 24 Stunden wurden 25 ccm des Dialysats aus dem Becherglase abpipettiert, mit 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Kaliumjodidlösung, 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Essigsäurelösung und mit 10 ccm $\frac{1}{10}$ -Hydroperoxydlösung zusammengebracht und nach 10 Minuten mit einer $\frac{1}{100}$ -Natriumthiosulfatlösung titriert. Alle Reagenzien wurden in derselben Wanne auf dieselbe Temperatur, bei der die Dialyse stattfand, gebracht. Nach der Ausführung der Titration wurde aufs neue, nach sorgfältigem Auswaschen des Dialysators, der neue Ansatz gemacht, aber mit Zusatz von immer wachsenden Mengen von verschiedenen Salzen. Alle Lösungen der Salze wurden $\frac{1}{10}$ normal angewandt, und die zur Wirkung gelangende Mengen dieser Salzlösungen betragen 2, 4, 8 und 16 ccm. Auf je 10 ccm der Peroxydaselösung kamen folglich im ersten Versuch: 16 ccm destillierten Wassers; im zweiten — 2 ccm $\frac{1}{10}$ -Salzlösung + 14 ccm Wasser; im dritten — 4 ccm $\frac{1}{10}$ -Salzlösung + 12 ccm Wasser, im vierten — 8 ccm $\frac{1}{10}$ -Salzlösung + 8 ccm Wasser und im fünften — nur 16 ccm $\frac{1}{10}$ -Salzlösung. Somit betrug immer das Volumen der zu dialysierenden Flüssigkeit 26 ccm (bestehend aus Peroxydase + Salzlösung + Wasser), die gegen 100 ccm destillierten Wassers dialysiert worden war.

Die bis jetzt zur Untersuchung gelangten Salze waren: Kalium-, Ammonium- und Calciumnitrat, Kaliumphosphat ein-, zwei- und dreibasisch, Kaliumsulfat, Kalium- und Natriumchlorid, Kaliumacetat und Calciumlactat. Von den sehr zahl-

reichen ausgeführten Versuchen will ich hier nur diejenigen mit Nitraten angeben. In der folgenden Tabelle sind die zur Titration des durch Oxydation der Jodwasserstoffsäure aus- geschiedenen Jods verbrauchten Mengen $\frac{n}{100}$ -Natriumthiosulfat- lösung zusammengestellt. Die steigenden Zahlen zeigen, wie unter Einfluß der immer größeren Mengen zugesetzten Nitrate (2, 4, 8 und 16 ccm) die Menge der dialysierten Peroxydase auch größer wurde.

Angewandte Salzlösungen	0	2	4	8	16 ccm
KNO_3	6,1	8,9	9,7	10,3	11,6
NH_4NO_3	6,1	7,6	11,1	14,5	15,4
$Ca(NO_3)_2$	6,3	7,6	9,2	9,7	11,9

In nachstehender Figur sind die erhaltenen Ergebnisse auch $\frac{m}{g}$ graphisch dargestellt:



Daß Nitrate an und für sich auf die Oxydation der HJ-Säure durch Wasserstoffsperoxyd keinen Einfluß ausüben, wurde durch besondere Kontrollversuche festgestellt. Die Salze sind absichtlich in so kleinen Mengen zugesetzt, um sich so weit wie möglich den in der Natur vorkommenden Konzentrationsverhältnissen zu nähern. Die Versuche mit einer noch größeren Menge der Salze zeigen, daß man bald eine Konzentration erreicht, oberhalb welcher ein weiterer Zusatz der Salze ohne Einfluß auf die Dialyse der Peroxydase ist.

Die bis jetzt ausgeführten Versuche gestatten schon gewisse Schlußfolgerungen zu ziehen. Trotz der Einhaltung so weit wie möglich gleicher Bedingungen der Dialyse können die Resultate nur dann untereinander verglichen werden, wenn sie immer in demselben Dialysator ausgeführt werden. Denn die

Erscheinung der Dialyse ist sehr kompliziert und abhängig nicht nur von der Temperatur, dem Druck, unter welchem die zu dialysierende Flüssigkeit steht, der Versuchsdauer, sondern auch in erheblichem Maße von der Natur des Dialysators und der Natur der zu dialysierenden Flüssigkeit. Ob wir bei der Dialyse der Peroxydase unter dem Einfluß der Nitrate es mit einer Art speziellen anorganischen Koenzyms zu tun haben oder ob hier noch kompliziertere Verhältnisse vorliegen, das können nur weitere Versuche entscheiden, die fortgesetzt und auch auf andere Enzyme ausgedehnt werden sollen.

Über Vorkommen verschiedener Harnzucker und die Beteiligung bestimmter Organe an deren Auftreten.

Von

F. Landolf.

(Aus dem Zentrallaboratorium der Nationalklinik und dem chemischen Universitätsinstitut von La Plata, Buenos Aires.)

(Eingegangen am 1. August 1909.)

Meine nun seit zehn Jahren fortgesetzten Harnstudien bei Glukosurie und Diabetes haben mich zu bemerkenswerten Resultaten geführt, von denen ich im folgenden einige typische Fälle mitteilen möchte. Diese sprechen dafür, daß jede Klasse von Kohlenhydraten in Beziehung zu gewissen Organen steht, deren Degeneration und Atrophie den Grund des Auftretens bestimmter Zuckerarten zu bilden scheint.

Einige Beispiele werden dies erläutern.

I. Pankreasdiabetes.

Erster Fall. Polarimetrische Ablenkung: + 5,4%; Reduktion: Glukose 7,2 g in 100; Gärung: Glukose 6,1 g in 100; aus dem Osazon berechnete sich: Glukose 4,0 g in 100. Schmelzpunkt dieses Osazons 189 bis 190°. Hier lag nur ein Osazon vor. — Hydrolyse. Ablenkung: jetzt + 4,2%; Reduktion: 6,47 g in 100; Gärung: 4,8 g in 100; Osazon 1,8 g in 100. Schmelzpunkt dieses Osazons 184 bis 185°.

Zweiter Fall. Ablenkung: + 4,29%; Reduktion: 6,23 g in 100; Gärung: 5,5 g in 100; Osazon: 4,8 g in 100; das hauptsächlich erhaltene Osazon schmolz bei 187 bis 188° und entsprach 4,26 g Glukose in 100, während ein zweites Osazon, von 172 bis 173° schmelzend, nur 0,55 g Glukose in 100 entsprach. — Hydrolyse. Ablenkung: + 3,7%; Reduktion: 6,22 g in 100; Gärung 4,13 g in 100; Osazon 3,52 g in 100. Das Hauptosazon, 2,91 g Glukose in 100 entsprechend, schmolz bei 187 bis 188°, während ein zweites Osazon mit dem Schmelzpunkte 173 bis 174° bloß 0,61 g Glukose in 100 entsprach.

Dritter Fall. Ablenkung: + 4,97%; Reduktion: 7,2 g in 100; Gärung: 6,4 g in 100; Osazon: 5,66 g in 100; das wichtigste Osazon, bei 181

bis 182° schmelzend, entsprach 3,7 g Glukose in 100; ein zweites Osazon vom Schmelzpunkt 172 bis 173° entsprach 0,92 Glukose in 100 g, und ein drittes Osazon, vom Schmelzpunkte 165 bis 167°, entsprach 0,5 g Glukose in 100; das Auftreten dieses letzten Osazons stand mit gewissen Alterationen der Leber im Zusammenhange. — Hydrolyse. Ablenkung: + 4,1%; Reduktion: 6,4 g in 100; Gärung: 6,9 g in 100; Osazon: 4,83 g in 100. Das Hauptosazon, bei 187 bis 188° schmelzend, entsprach 3,9 g Glukose in 100, während ein zweites Osazon, bei 179 bis 186° schmelzend, bloß 0,59 g Glukose in 100 entsprach, und ein drittes Osazon vom Schmelzpunkt 167 bis 168° bloß 0,34 g Glukose in 100 entsprach. Es fehlten hier jene quaternären, stickstoffhaltigen Substanzen, die ebenfalls fähig sind; Osazone oder Hydrazone zu liefern, deren Schmelzpunkt gewöhnlich unter 100° liegt.

II. Diabetes infolge von Gehirntuberkulose.

Ablenkung: + 3,22%; Reduktion: 4,6 g in 100; Gärung: nativer Harn 4,44 g in 100; gekochter Harn: 4,8 g in 100. — Hydrolyse. Ablenkung: + 2,1%; Reduktion: 4,24 g in 100; Gärung: 4,3 g in 100.

III. Traumatischer Diabetes, verursacht durch einen Hufschlag auf das Bein eines jungen Mannes.

Ablenkung: + 2,04%; Reduktion: 3,7 g in 100; Gärung 3,44 g in 100. — Hydrolyse. Ablenkung: + 1,12%; Reduktion: 3,04 g in 100; Gärung: 2,4 g in 100.

IV. Psychischer, durch Gemüts- erregung hervorgerufener Diabetes.

Ablenkung: + 0,58%; Reduktion: 0,37 g in 100; Gärung: nativer Harn 0,48 g in 100, gekochter Harn 0,36 g in 100.

Versuche über den Einfluß der Temperatur bei der photodynamischen Wirkung und der einfachen Lichtwirkung auf Invertase.

Von

B. Hannes und A. Jodlbauer.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 30. Juli 1909.)

Bekanntlich verändern die fluoreszierenden Stoffe im Lichte sowohl biologische Objekte, wie Zellen, Enzyme und Toxine, als auch einfache chemische Körper mit bekannter Konstitution dadurch, daß das absorbierte Licht zum Teil in chemische Energie umgewandelt wird (photodynamische Erscheinung).

Zugleich mit dieser Entdeckung wurde die Frage aufgeworfen, ob es sich hierbei um eine besondere Art von Lichtwirkung handle, oder ob nur eine Beschleunigung der einfachen Lichtwirkung vorliegt, ähnlich wie man die Empfindlichkeit einer photographischen Platte gegenüber den sichtbaren Strahlen durch Zusatz verschiedener Stoffe (Sensibilisatoren) lichtempfindlicher machen kann.

Ohne weiteres ist diese Frage nicht zu entscheiden. Denn wenn auch die sichtbaren Strahlen allein auf biologische Objekte (auch Fermente) einwirken können, so ist doch darauf hinzuweisen, „daß zwei Vorgänge, die zu dem gleichen Endeffekte führen, nicht ohne weiteres als identisch betrachtet werden dürfen“. (v. Tappeiner.)

Nun ergaben Versuche, welche die Bedeutung des Sauerstoffes bei der photodynamischen Erscheinung feststellten, daß die letztere an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden ist. Ferner wurde festgestellt, daß bei Invertase für die Wirkung der langwelligen Strahlen ebenfalls die Sauerstoffanwesenheit notwendig ist.

Somit ist also die Wirkung der sichtbaren Strahlen wie

auch die photodynamische Erscheinung an die gleiche Bedingung, nämlich die Sauerstoffgegenwart, geknüpft.

Diese Übereinstimmung spricht sehr für die Wesensgleichheit beider Vorgänge, so daß also die Wirkung der fluoreszierenden Stoffe als ein Sensibilisierungsvorgang im allgemeinen Sinne anzusehen ist.

Diese Auffassung soll nun in folgendem noch eine weitere Stütze erhalten.

Es ist bekannt, daß bei der Intensität der Lichtreaktionen die Temperatur eine Rolle spielt, wobei aber gleich hervorgehoben werden soll, daß die Beschleunigung durch die Temperatur bei Lichtreaktionen eine geringere zu sein scheint, wie bei Dunkelreaktionen. So ist die Oxydation des Chinins im Licht¹⁾ für ein Temperaturintervall von 10° C um das 1,06-fache gesteigert oder, wie der Prozeß gewöhnlich ausgedrückt wird,

$$\frac{K_{T+10}}{K_T} = 1,06.$$

Bei der Reaktion zwischen Oxalsäure und Quecksilberchlorid²⁾

$$\frac{K_{T+10}}{K_T} = 1,12.$$

Bei der Reaktion zwischen Oxalsäure und Eisenchlorid³⁾

$$\frac{K_{T+10}}{K_T} = 1,01.$$

Bedeutend größer sind die Werte für angesäuerte Jodkaliumlösung, nämlich 1,4⁴⁾, sowie für die Reaktion zwischen Chlor und Benzol = 1,5⁵⁾.

In folgendem soll der Temperatureinfluß bei der einfachen Lichtwirkung, sowie bei der photodynamischen Wirkung auf die Invertase festgestellt werden.

Versuchsordnung.

Als Lichtquelle diente Sonnenlicht, dessen Wärmestrahlen dadurch ausgeschaltet wurden, daß die das Ferment ent-

1) Goldberg, Zeitschr. f. physikal. Chem. 41, 1.

2) Eder, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 2, 8.

3) Lemoine, Chem. Chir. u. Phys. 7, 433.

4) J. Plotnikow, Zeitschr. f. physikal. Chem. 58, 214, 1907.

5) Slator, Zeitschr. f. physikal. Chem. 45. 513.

haltenden Reagensgläser in einem ca. 60 cm hohem Raum unter einer Wasserschicht von 50 cm lagen. Die Reagensgläser waren aus Jenaer Glas, da die gewöhnlichen Glasarten leicht Spuren von Alkali abgeben. Ihr Durchmesser war genau gleich. Mittels eines einfachen Quecksilbertoluolthermoregulators wurde die Temperatur der einen Wanne konstant auf 30° C gehalten, während zur Erreichung einer konstanten Temperatur von 10° C in der anderen Wanne ein Thermoregulator nach Foote diente. Rührwerke, die eine Wasserturbine in Bewegung setzte, bewerkstelligten eine gleichmäßige Durchmischung. In jede Wanne kamen einige Gläser, die mit Stanniol lichtdicht verschlossen waren, als Dunkelproben. Als fluorescierender Stoff kam Eosin in Verwendung in der optimalen Konzentration von $\frac{1}{2000}$ -mol. im Gemenge. Die Belichtungsdauer betrug 15 Stunden. Den 0,4%igen Invertinlösungen (Präparat von E. Merck) war Toluol zur Konservierung zugesetzt worden.

Nach der Belichtung wurde zu je 15 ccm der Fermentlösung ein Zusatz von 15 ccm 15%iger Rohrzuckerlösung gemacht und nach 15stündigem Stehen im Dunkeln die Invertierungsgröße mittels Polarisationsapparat bestimmt.

Versuch.

(Die Drehung vor der Invertierung war + 10,40°.)

Zu- satz	Tempe- ratur		Ab- gelesene Drehung	Abnahme der Drehung in %	Invertierung in % Dunkel- versuch ohne Eosin bei 10°C = 100 gesetzt	Schädi- gung in %
mit Eosin	10° C	belichtet	+ 5,08	5,32	63,9	36,1
		dunkel	+ 2,08	8,32	99,9	0,1
	30° C	belichtet	+ 5,45	4,95	59,4	40,6
		dunkel	+ 2,10	8,30	99,6	0,4
ohne Eosin	10° C	belichtet	+ 3,00	7,40	88,8	11,2
		dunkel	+ 2,07	8,33	100	0
	30° C	belichtet	+ 3,12	7,28	87,4	12,6
		dunkel	+ 2,10	8,30	99,6	0,4

Somit ist bei der einfachen Lichtwirkung durch die Temperaturerhöhung von 20° C eine Steigerung der Schädigung von 11,2% auf 12,6% eingetreten, oder wenn ersterer Wert = 1 gesetzt ist, eine solche von 1:1,125.

Bei der photodynamischen Wirkung stieg die Schädigung von 36,1% auf 40,6%. Es ergibt sich dasselbe Verhältnis, 1:1,125.

Wollte man die gefundenen Werte auf ein Temperaturintervall von 10° C umrechnen, so wäre zu berücksichtigen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit in geometrischer Reihe anwächst, wenn die Temperatur in der arithmetischen steigt. Man muß aus den obigen Werten die Wurzel ziehen und erhält den Wert 1,118.

Es ist somit sowohl bei der einfachen Lichtwirkung, wie bei der Eosinlichtwirkung

$$\frac{K_{T+10}}{K_T} = 1,12,$$

was ein neuer Beweis für die Wesensgleichheit beider Prozesse ist.

Anschließend an diese vergleichenden Versuche wollen wir noch einige Angaben anfügen über den Temperatureinfluß bei der photodynamischen Reaktion allein und zwar auf rote Blutkörperchen und Jodkaliumlösung.

Die Totalhämolyse einer 0,2%igen Aufschwemmung sorgfältigst gewaschener roter Blutkörperchen, der Eosin in optimaler Konzentration ($\frac{1}{2000}$ -mol.) zugesetzt war, erfolgte unter Verwendung einer künstlichen Lichtquelle (Kohlenbogenlampe von 25 Ampère und 225 Volt) bei 7° C in 215 Minuten, bei 37° C in 53 Minuten.

Somit ergab sich für das Temperaturintervall von 30° C eine Steigerung um das 4,06fache; es ist also der Temperaturkoeffizient pro 10° C gleich 1,59.

Aus Jodkalium in 5%iger Lösung — ebenfalls mit $\frac{1}{2000}$ -mol. Eosin sensibilisiert — war bei 7stündiger Belichtung (unter Verwendung derselben Lichtquelle) die Jodabspaltung

bei 10° C 0,00012 g Jod

bei 30° C 0,0002 g Jod.

Es war also hier für den Temperaturintervall von 20° C eine Steigerung der Wirkung um das 1,66fache zu beobachten, oder der Temperaturkoeffizient pro 10° C war gleich 1,29. Ausführlicheres hierüber hat der eine von uns (B. Hannes) in seiner Inauguraldissertation berichtet.

Über den Zustand des Calciums in der Milch. I.

Von

Peter Rona und Leonor Michaelis.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 1. August 1909.)

Obgleich wir zahlreiche Untersuchungen über die Menge und Zusammensetzung der Milchasche besitzen,¹⁾ sind unsere Kenntnisse über die Art, wie die einzelnen Aschenbestandteile in der Milch enthalten sind, wie auch über die damit zusammenhängenden physikalisch-chemischen Eigenschaften der Milch noch ziemlich lückenhaft. Ein besonderes Interesse beansprucht in dieser Richtung das Calcium. Daß das Calcium in zweierlei Form, einer gelösten und einer ungelösten, wobei über die Natur dieser „ungelösten“ Calciumverbindung zunächst nichts ausgesagt werden soll, sich in der Milch befindet, zeigt bereits die Filtration durch eine Tonzelle, die von Zahn eingeführt und dann von Söldner, Duclaux, Ott de Vries, Bockhout und Droop-Richmond angewandt worden ist.²⁾ Nach Söldner gehen etwa 40% vom Kalk der Kuhmilch ins Tonzellenfiltrat, nach Duclaux 29%, nach Ott de Vries und Bockhout 26%. Dieser prozentualische Anteil entspräche nur dem wirklich ge-

¹⁾ Vgl. namentlich G. Bunge, *Zeitschr. f. Biol.* 10, 295, 1874. — E. Abderhalden, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 26, 487, 1898; 27, 408 u. 594, 1899. — Söldner, *Zeitschr. f. Biol.* 83, 66, 1896.

²⁾ F. W. Zahn, *Unters. über d. Eiweißkörper der Milch*. Pfügers Archiv 2, 598, 1869. — Söldner, *Die Salze der Milch u. ihre Beziehungen zu dem Verhalten des Caseins*. *Landw. Versuchsstat.* 35, 354, 1888. — E. Duclaux, *Compt. rend.* 98, 438, 1884. — J. J. Ott de Vries und F. W. J. Bockhout, *Beitr. z. Kenntnis der Labgerinnung*. *Landw. Versuchsstat.* 55, 221, 1901. — H. Droop-Richmond, *The composition of milk*. *The Analyst.* 26, 310, 1901.

lösten Kalk, der suspendierte oder kolloidal gelöste Anteil bliebe im Filtrerrückstande zurück. Dem wäre entgegenzuhalten, worauf bereits Raudnitz¹⁾ hingewiesen hat, daß der Schluß, die durch die Tonzelle unfiltrierbaren Teile wären auch in der Milch in suspendierter oder kolloidal gelöster Form vorhanden, keineswegs zwingend ist, da die Filtration die in der Milch bestehenden Verhältnisse möglicherweise verschiebt. Einmal ist die Tonzelle durchaus keine Trennungswand für alle Kolloide, dann könnten vorher gelöst gewesene Salze durch das ausscheidende Casein mitgerissen werden, oder sie könnten, indem Stoffe, die sie in Lösung halten, die Tonzelle passieren, zur Ausscheidung kommen. Will man sich daher Klarheit darüber verschaffen, welcher Anteil des Kalkes in wirklich gelöster Form in der Milch vorhanden ist, so muß man sich einer Versuchsanordnung bedienen, die eine Verschiebung der vorhandenen Gleichgewichte nach Möglichkeit ausschließt. Dies erreichten wir durch die Anwendung einer Art der Dialyse, bei welcher die zu untersuchende Flüssigkeit gegen eine andere von im wesentlichen gleicher Zusammensetzung dialysiert; nur enthält die Außenflüssigkeit den auf ihre Dialysierbarkeit zu prüfenden Stoff in größerer bzw. kleinerer Konzentration in echt gelöstem Zustande. Stellt man nun eine Reihe von Dialysenversuchen an, so wird in dem Falle, in dem die Konzentration des osmotisch wirksamen Stoffes in der Außenflüssigkeit größer ist, diese Konzentration nach einer gewissen Zeit abnehmen, hingegen in dem Falle, in welchem die betreffende Konzentration in der Außenflüssigkeit geringer ist, zunehmen müssen. Ändert sich die Konzentration des betreffenden Stoffes im Laufe der Dialyse in der Außenflüssigkeit nicht, so sind die Konzentrationen des Stoffes in osmotisch wirksamer Form in der Innen- wie in der Außenflüssigkeit gleich, und wir haben somit die osmotisch wirksame Konzentration eines Körpers durch die Gegenkraft eines gleichen osmotischen Druckes gemessen. Wir hatten diese „osmotische Kompensationsmethode“ bereits bei der Untersuchung der freien Natur des Blutzuckers mit Vorteil anwenden können;²⁾ sie erlaubt, ohne Verschiebung des Gleichgewichtes, die osmotisch wirksame Menge einer Substanz zu bestimmen,

¹⁾ R. W. Raudnitz, *Ergebn. d. Physiol.* 2, 193, 1903.

²⁾ *Diese Zeitschr.* 14, 476, 1908.

oder zumindest diese Menge als eine zwischen zwei nahen Werten liegende festzustellen. In unseren Versuchen benutzten wir als Außenflüssigkeit einmal die Labmolke der betreffenden Milch, deren Kalkgehalt vorher bestimmt und in Übereinstimmung mit den bisherigen Angaben sehr niedrig gefunden worden war, dann, im Parallelversuch eine Molke, die durch Fällung des Caseins mit kolloidalem Eisenhydroxyd gewonnen worden war. Diese Eisenmolke, auf deren Darstellung wir unten näher zurückkommen werden, enthält einen großen Teil des Kalkes der Milch in löslichem Zustande¹⁾ und war demnach sehr geeignet, bei der Anstellung des oben skizzierten Dialysenversuches als Außenflüssigkeit zu dienen. — Eine zweite von uns benutzte Form des Dialysierens, die eine Verschiebung des in der Milch vorhandenen Gleichgewichtes ausschließt, bestand darin, daß wir eine geringe Menge (25 ccm) destilliertes Wasser bzw. Eisenmolke gegen sehr große Mengen (1 bis 1 $\frac{1}{2}$ l) Milch dialysiert haben. Die bis zur Gleichheit der Konzentration des diffusiblen Calciums erforderlichen Mengen Kalk, die dabei der Milch entzogen werden bzw. zur Milch hinzukommen, sind in diesem Falle so gering, daß sie keinen Einfluß auf die bestehende Zusammensetzung der Milch haben konnten. Gleichzeitig mußten die auf beide Arten gewonnenen Dialysenergebnisse miteinander übereinstimmen.²⁾

Die einzelnen Versuche sind im folgenden wiedergegeben:

1. Vollmilch (mit 0,1520 % CaO), wurde gegen Eisenmolke (mit 0,1258 % CaO) dialysiert. Nach 24 Stunden enthielt die Eisenmolke 0,0706 % CaO.

2. Vollmilch (mit 0,1477 % CaO), wurde gegen Eisenmolke (mit 0,1250 % CaO) dialysiert. Nach 24 Stunden enthielt die Eisenmolke 0,0765 % CaO.

3. Vollmilch (mit 0,1511 % CaO), wurde gegen Eisenmolke (mit 0,1202 % CaO) dialysiert. Nach 24 Stunden enthielt die Eisenmolke 0,0735 % CaO.

Dieselbe Milch wurde gegen Labmolke (von derselben Milch; mit 0,0417 % CaO) dialysiert. Nach 24 Stunden enthielt die Labmolke 0,0604 % CaO.

¹⁾ Vgl. auch P. Grosser, Münch. med. Wochenschr. 1908.

²⁾ Die Bestimmung des Calciums erfolgte nach der Methode von Hans Aron (diese Zeitschr. 4, 268, 1907) als CaSO₄. Die Werte wurden auf CaO umgerechnet.

4. Vollmilch (mit 0,1540% CaO), wurde in zwei Parallelversuchen gegen Labmolke von derselben Milch (mit 0,0589% CaO) dialysiert. Nach 24 Stunden enthielt die Labmolke 0,0700% bzw. 0,0650% CaO.

5. 25 ccm destilliertes Wasser wurden 1 $\frac{1}{2}$ Tage gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Nach dieser Zeit enthielt das Wasser: 0,0556% CaO.

25 ccm Eisenmolke (mit 0,1100% CaO) wurden 1 $\frac{1}{2}$ Tage gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Gefunden nach der Dialyse: 0,0576% CaO.

6. 25 ccm destilliertes Wasser wurden 2 Tage gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Nach der Dialyse enthielt das Wasser: 0,0521% CaO.

25 ccm Eisenmolke (mit 0,1160% CaO) wurden 2 Tage gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Nach der Dialyse gefunden: 0,0606% CaO.

7. 25 ccm destilliertes Wasser wurden 2 Tage gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Nach der Dialyse enthielt das Wasser 0,0583% CaO.

25 ccm Eisenmolke (mit 0,1202% CaO) wurden 2 Tage lang gegen ca. 1 l Milch dialysiert. Nach der Dialyse wurde gefunden: 0,0610% CaO.

Als Desinfektionsmittel wurde überall Toluol zugegeben.

Die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der einzelnen Versuche ist befriedigend. Es ergibt sich aus ihnen eindeutig, daß während der Dialyse der Kalkgehalt der Eisenmolke ab-, der der Labmolke zugenommen hat. Es wird demnach der Wert des diffusiblen Kalkes zwischen beiden Werten liegen müssen, und zwar aus der bedeutenderen Abnahme des Kalkgehaltes der Eisenmolke und der kaum nennenswerten Zunahme des Kalkgehaltes der Labmolke zu schließen, nur wenig über dem Kalkwert der Labmolke. Auch die Diffusionsversuche gegen große Milchmengen führen zu entsprechenden Werten. Die gute Übereinstimmung der Kalkwerte im destillierten Wasser und in der Eisenmolke nach der Dialyse zeugen für die Brauchbarkeit der Methode. Im allgemeinen bewegen sich die Werte für den diffusiblen Kalk in den von uns untersuchten Milcharten zwischen 0,06 und 0,07% und betragen etwa 40 bis 50% des Gesamtkalkes der Milch.

II.

Eine naheliegende Frage, die nach mancher Hinsicht Interesse besitzt, ist die, wie weit der so gefundene Zustand des bestehenden Gleichgewichtes ein verschiebbarer ist. Schon bei der Erwähnung der Filtration durch die Tonzelle mußten wir diese Frage berühren. Klarer treten diesbezügliche Verhältnisse bei der Eisenmolke uns entgegen. Die Bereitung der Eisenmolke erfolgte in der Weise, daß 100 ccm Milch mit 130 ccm Wasser und dann tropfenweise mit 70 ccm kolloidalem Eisenhydroxyd versetzt wurden. Es entstand eine Fällung. Nach dem Filtrieren der wasserklaren, eiweißfreien, neutral reagierenden Flüssigkeit wird das Volumen des Filtrates notiert und auf $\frac{1}{3}$ des Volumens (entsprechend dem ursprünglichen Volumen der Milch) eingeeengt. Diese wie bei der Labung ohne Änderung der Reaktion gewonnene Molke enthält nun, wie bereits erwähnt, einen großen Teil des in der natürlichen Milch vorhandenen Kalkes, wie dies folgende Analysen zeigen:

1. Gekochte Milch mit 0,1520^o/_o, Eisenmolke mit 0,1258^o/_o CaO,
2. „ „ „ 0,1477^o/_o, „ „ 0,1250^o/_o „
3. Rohe „ „ 0,1511^o/_o, „ „ 0,1202^o/_o „
4. Gekochte „ „ 0,1717^o/_o, „ „ 0,1100^o/_o „
5. „ „ „ 0,1740^o/_o, „ „ 0,1150^o/_o „
6. Eisenmolke (von einer $\frac{1}{2}$ Stunde sterilisierten Milch):
0,1226^o/_o CaO,
7. Eisenmolke (von roher Milch) mit 0,1180^o/_o CaO,
8. „ (von einer 1 Stunde lang sterilisierten Milch) mit
0,1150^o/_o CaO.

Bei der Enteiweißung mit Eisenhydroxyd, bei welcher beiläufig gesagt nicht nur das Casein, sondern die Gesamtmenge der Eiweißkörper entfernt werden, findet sich demnach ein viel größerer Teil des Kalks in der Molke wieder, als nach den obigen Befunden als in der Milch wirklich gelöst angenommen werden kann, und als wir es in der Labmolke tatsächlich finden. Dieser Kalk ist diffusibel; das zeigen schon die erwähnten Diffusionsversuche: es muß also bei der Behandlung der Milch mit dem Eisenhydroxyd ein Teil des indiffusiblen Kalks diffusibel geworden sein. Dem entspricht auch, daß die Gefrierpunktserniedrigung sowohl als auch die elektrische Leit-

fähigkeit der Eisenmolke gegenüber der der ursprünglichen Milch deutlich erhöht ist,¹⁾ während die Labmolke dieselbe Gefrierpunktsdepression²⁾ und nur eine unbedeutende Erhöhung der Leitfähigkeit zeigt. Letztere Tatsache spricht wohl dafür, daß bei der Labung im wesentlichen nur Stoffe ausfallen, die vorher nicht gelöst waren, hingegen stützen die Befunde in der Eisenmolke die Ansicht, daß die Zahl osmotisch wirksamer Teile in ihr gegenüber der ursprünglichen Milch und der Labmolke erhöht ist.

	Leitfähigkeit bei 25°	Δ
1. Gekochte Milch . .	0,00587	
Eisenmolke	0,0103 ³⁾	
2. Rohe Milch	0,005488	— 0,542°
Abgerahmte Milch .	0,005786	— 0,547°
Labmolke	0,006164	— 0,548°
Eisenmolke	0,007490	— 0,608°
3. Rohe Milch	0,005634	— 0,565°
Abgerahmte Milch .	0,005940	— 0,550°
Labmolke	0,006296	— 0,555°
Eisenmolke	0,007425	— 0,565°
4. Rohe Milch	0,006048	— 0,542°
Sterilisierte Milch	0,005893	
Labmolke	0,006710	— 0,530°
Eisenmolke	0,008217	— 0,590°
5. Eisenmolke (vonsteri- lisierter Milch) . . .	0,00721	— 0,590°
6. Eisenmolke	0,00814	— 0,622°
7. Eisenmolke (von roh. Milch)	0,007853	— 0,605°

Wie es aus Versuch 4 ersichtlich ist, war die elektrische Leitfähigkeit von im Autoclaven sterilisierter Milch nicht merklich geringer als bei der entsprechenden Vollmilch.⁴⁾ Dies zeigen auch die folgenden Bestimmungen:

¹⁾ Nur im Falle 3 ist die Gefrierpunktserniedrigung der ursprünglichen Milch und der Eisenmolke gleich gefunden worden.

²⁾ Vgl. hierzu auch H. Hotz, Züricher Diss. 1902. Zit. nach Raudnitz, Ergebn. d. Physiol. 2, 307, 1903.

³⁾ Die Leitfähigkeit des angewandten (noch mehrere Tage dialysierten) Eisenhydroxyds betrug 0,000762, die Gefrierpunktsdepression — 0,01°. Dieser Wert wurde von dem gefundenen abgezogen.

⁴⁾ Das Gegenteil wird behauptet von van der Laan und Hotz zitiert nach Raudnitz, l. c. S. 333.

8. Rohe Milch	0,005407
Sterilisierte Milch	0,005381
9. Rohe Milch	0,005733
Sterilisierte Milch	0,005622

III.

Verwickelter liegen die Verhältnisse, wenn wir auf Grund der dargelegten Beobachtungen Anhaltspunkte über die Bindungsweise des Kalks in der Milch gewinnen wollen. In dieser Hinsicht ist es sehr bemerkenswert, daß die Eisenmolke mit ihrem hohen Kalkgehalt nur äußerst geringe Mengen von P_2O_5 ¹⁾ enthält:

1. Eisenmolke: 0,0134% P_2O_5 ²⁾.
2. Eisenmolke: 0,00969% P_2O_5 . (Die entsprechende Labmolke enthielt 0,1064% P_2O_5 .)
3. Eisenmolke: 0,0124% P_2O_5 . (Die entsprechende Labmolke enthielt 0,0998% P_2O_5 .)
4. Eisenmolke: 0,0129% P_2O_5 . (Die entsprechende Labmolke enthielt 0,1026% P_2O_5 .)

Das Wesentliche dieses Befundes liegt in dem Auseinandergehen der Werte für Calcium und Phosphorsäure. Da die Eisenmolke viel mehr Kalk, aber viel weniger Phosphorsäure als die Milch enthält, müssen wir annehmen, daß einerseits die Phosphorsäure von dem Eisenhydroxyd gefällt wird, daß aber andererseits während der Fällung aus undiffusiblem Kalk diffusibler Kalk wird. Dieser Befund beweist zunächst, daß eine nennenswerte Menge von „kolloidal gelöstem“ phosphorsaurem Kalk in der Milch nicht sein kann, denn ein solcher müßte von der Eisenlösung als Ganzes niedergeschlagen werden.

Viel näher liegt die Annahme, daß der Kalk überwiegend als Caseinsalz ³⁾ in Lösung ist. Eine Verbindung von Casein

¹⁾ Vgl. P. Grosser, l. c.

²⁾ Die Phosphorbestimmung geschah nach der Methode von A. Neumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 129, 1902/3; 43, 35, 1904/5.

³⁾ Oder in Form eines Doppelsalzes von Caseincalcium und Calciumphosphat. Vgl. zu dieser Frage namentlich die grundlegenden Arbeiten von O. Hammarsten, Malys Jahresberichte 4, 135, 1874. — Ferner Söldner, l. c. — Georg Courant, Über d. Reaktion der Kuh- und Frauenmilch; Pflügers Archiv 50, 109, 1891. — W. Hempel, Die Milchuntersuchung von Jul. Lehmann, Pflügers Archiv 56, 558, 1894. — A. W. Sikes. On the phosphorus and calcium of human milk. J. of Physiology 34, 464, 1907.

mit Kalk müßte alle diejenigen Eigenschaften haben, die wir hier wirklich antreffen: sie ist, wenn das Gleichgewicht nicht verschoben wird, osmotisch unwirksam, wenn aber das Gleichgewicht verschoben wird, wird sie osmotisch wirksam und diffusionsfähig. Im natürlichen Gleichgewichtszustand darf sie keinen meßbaren Einfluß auf den Gefrierpunkt der Lösung haben, wenn sie aber durch Eisenfällung in Casein und Calcium-Ionen zerlegt wird, erniedrigt sie den Gefrierpunkt und erhöht die Leitfähigkeit.

Bei einer Dialyse gegen strömendes, oft gewechseltes Wasser muß durch stetige Verschiebung des Gleichgewichtes das Calcium allmählich verschwinden. In der Tat fanden wir nach 5tägiger Dialyse nur sehr kleine Mengen Calcium in der Milch.

1. Rohe Milch 5 Tage lang gegen oft gewechseltes dest. Wasser dialysiert.

Leitfähigkeit der ursprünglichen Milch (25°) 0,005733,

„ nach 5tägiger Dialyse (25°) 0,000160.

Gefunden wurde in der dialysierten Milch: 0,0046% CaO.

2. Rohe Milch 5 Tage lang gegen oft gewechseltes dest. Wasser dialysiert.

Leitfähigkeit der ursprünglichen Milch (25°) 0,005407,

„ nach 5tägiger Dialyse (25°) 0,0002038.

Gefunden wurde in der dialysierten Milch: 0,0055% CaO.

Versuche in dieser Richtung werden fortgesetzt.

Nach alledem müssen wir in Übereinstimmung mit den Befunden früherer Forscher dem Casein die Fähigkeit zuschreiben, ein lösliches, wenig dissoziiertes Calciumsalz zu bilden. Die Bindung oder Entionisierung des Calciums durch Casein zeigt auch folgender Versuch, der von der von Hammarsten u. a. festgestellten Tatsache ausgeht, daß die Labung nur in Gegenwart frei gelöster Calciumsalze erfolgt:

Wenn man in roher Milch reines Casein auflöst und Lab zugeht, so tritt keine Labung ein. Hier wirkt Casein ähnlich wie citronensaures Natrium, das auch Calcium entionisiert, ohne es zu fällen; das künstlich zugefügte Casein entionisiert den in der Milch noch frei gewesenen Anteil des Calciums.

Versuch.

- a) 50 ccm rohe Milch + 5 ccm Lablösung.
- b) 50 ccm rohe Milch, in der noch 0,5 g Casein ohne weiteren Zusatz durch Schütteln gelöst sind, + 5 ccm Lablösung.
- c) 50 ccm rohe Milch, in der 0,2 g Natriumcitrat gelöst sind, + 5 ccm Lablösung.

Sämtliche Proben werden unter Zusatz von ganz wenig Toluol zu gleicher Zeit in den Brutschrank gestellt. In der Probe a) tritt je nach der Konzentration der Lablösung in 2 bis 15 Minuten Labung ein, die Proben b) und c) sind am nächsten Tag noch unverändert und laben erst nach Zusatz von CaCl_2 .

Wir sehen, daß bei der Fällung der Milch mit Eisenhydroxyd die Casein-Calciumverbindung gespalten wird, indem die Base frei, die Säure adsorbiert wurde. Wenn wir uns nach analogen Vorgängen umsehen, so liegt etwas Ähnliches in der Adsorption basischer Farbstoffe durch Kohle vor. Wird z. B. das Chlorid der Krystallviolettbase mit Kohle geschüttelt, so wird die Farbbase adsorbiert, und die äquivalente Menge Salzsäure bleibt in Lösung. Hierbei wird also von dem Salz die Base adsorbiert, da sie besser adsorbierbar ist als die Säure. Beim Caseinkalk wird umgekehrt die Säure — das Casein — adsorbiert, und der Kalk bleibt in Lösung.

Weitere Beiträge zur Jodverteilung.

Von

R. von den Velden.

(Aus der medicin. Klinik der Akademie Düsseldorf.)

(Eingegangen am 5. August 1909.)

Wenn uns auch der nähere Einblick in den Wirkungsmechanismus mancher Pharmaka vorerst noch verschlossen ist, so können wir uns doch mittels verschiedener Untersuchungen im Tierexperiment wie am Krankenbett das Verständnis der Pharmakodynamik dieser Stoffe erleichtern; zu einer der wichtigsten Untersuchungen in dieser Richtung gehört das Studium der Verteilung der Arzneistoffe im tierischen Organismus [P. Ehrlich (5)]. Es bestehen nun im großen und ganzen zwei Möglichkeiten, die normale Verteilung eines Arzneikörpers im tierischen Organismus zu beeinflussen; einmal durch endogene Momente, die in dem Verhalten bestimmter Zellkomplexe des Lebewesens selber begründet sind, dann durch exogene Ursachen, in dem wir durch Verbindung des betreffenden Körpers mit bestimmten chemischen Gruppen schon im normalen Organismus eine veränderte Verteilung veranlassen können.

Die von Jacoby (2) stammenden Beobachtungen, daß unter pathologischen Verhältnissen eine Verteilungsänderung eintritt, ist von zwiefachem Interesse; zunächst aus rein biologischen Gesichtspunkten, wegen des dadurch nachgewiesenen veränderten Verhaltens organisch oder funktionell alterierter Zellpartien, die, wie man hierdurch exakt nachweisen kann, eine veränderte Affinität in dem Sinne einer Avidität bestimmten Substanzen gegenüber erhalten. Es dürfte diese Feststellung von prinzipieller Bedeutung sein für unsere Ansicht über die Bedeutung solcher pathologischer Zellkomplexe

im tierischen Organismus, die gewissermaßen wie ein fremdes Lebewesen anderen Zellterritorien nicht nur, wie in diesen Versuchen, körperfremde Substanzen entziehen, indem sie sie zu sich ablenken, sondern, wie Ehrlich es für die neoplastischen Zellkomplexe annimmt, auch chemische Gruppen, die zu Ernährungszwecken dienen, dem anderen Organismus rauben. Weiter interessieren diese Befunde aber auch von praktischen Gesichtspunkten. Es wird sich die pharmakologische Wirkung bei den meisten in Betracht kommenden Substanzen dort stärker dokumentieren, wo der betreffende Körper in vermehrter Menge vorhanden ist; insofern kann eine Ablenkung in erkrankte Partien von heilsamer ev. auch von unerwünschter Wirkung sein, wobei noch in Betracht zu ziehen ist, daß erkrankte Zellen dieser pharmakologischen Einwirkung gegenüber ganz andere Angriffsflächen bieten als normale. Seitdem Jacoby (1) dieses „pharmakologische Grundgesetz“ aufgestellt hat, indem er die veränderte Verteilung der Salicylsäure bei Änderung des „chemischen Milieus“, d. h. beim infizierten Tier, nachwies, hat Loeb (3) die Ablenkung in Eiter für Jod, Loeb-Michaud (4) die Ablenkung von Jod in tuberkulös erkrankten Organen, v. d. Velden in carcimatösem Gewebe (7) und in erkrankten Drüsen (8) nachgewiesen. Wir sehen also, daß diese veränderte Verteilung von Jod im tierischen Organismus keine spezifische Ursache hat, sondern daß wohl jede unter der verschiedensten Aetiologie erkrankte Zellpartie diesen ablenkenden Einfluß ausübt. Es scheinen mir (8) auch die Arterienwandveränderungen bei Arteriosklerose nach zwei bisher gelungenen Versuchen am Menschen in ähnlicher Weise auf die Jodverteilung zu wirken.

Gegenüber dieser endogenen Ursache, bei der der Organismus selber die Verteilung regelt, was unseren therapeutischen Intentionen ja nicht immer zu entsprechen braucht, haben wir es bei der exogenen Veränderung der Verteilung mehr oder weniger in der Hand, den Arzneikörper in bestimmter Weise zu dirigieren. Wie man früher in naiv-wissenschaftlicher Anschauung den verschiedenen Arzneien ein Dirigens zusetzte, so sucht man heute, auch wieder nach dem Vorgehen P. Ehrlichs, die Verteilung eines Körpers dadurch zu ändern, daß man ihn mit einer anderen chemischen Gruppe verkuppelt, die

man dann als Lastwagen (P. Ehrlich) benutzt, um mit Hilfe ihrer Affinität zu bestimmten Organen die mitverketteten Arzneikörper dorthin zu steuern. So gelang es Loeb (3), das nicht neurotrope Jod durch Kuppelung mit lipoidlöslichen Gruppen in das Nervensystem und Fettgewebe beim Kaninchen zu steuern.

Die praktische Bedeutung dieser exogenen Möglichkeit einer veränderten Verteilung erhellt ohne weiteres, und da es gerade bei der Jodtherapie für den Kliniker unter Umständen nicht unwesentlich ist, eine bevorzugte Verteilung von Jod in das Zentralnervensystem zu besitzen, d. h. ohne eine sonst bei reiner Jodalkaliverabreichung nötige starke Überladung des Organismus durch Jodionen, größere Mengen Jod nach Gehirn und Rückenmark zu dirigieren, habe ich zunächst ein Jodpräparat untersucht, das als Monojodisovalerianylharnstoff mir seiner Konstitution nach möglicherweise neurotrop zu sein schien.

Dieses Jodprodukt wurde mir von Knoll-Ludwigshafen freundlicherweise in größerer Quantität zur Verfügung gestellt, und war bereits im Gottliebsehen Laboratorium durch v. d. Eeckhout (6) mit anderen Derivaten der Valeriansäure auf seine hypnotische Wirkung untersucht worden. Es handelt sich bei diesem „Jodival“ um einen krystallisierten Körper mit 47% Jodgehalt. Freies Jod enthält er nicht; man kann es erst in kleinen Mengen nachweisen, wenn der Körper längere Zeit hindurch Licht und Luft ausgesetzt war. In leicht alkalischer Lösung spaltet sich bei kurzem Kochen schnell Jod ab. In Wasser ist er kaum, in Alkalien, Alkohol und Öl gut löslich. Weder durch Salzsäure noch durch Alkali findet bei Körpertemperatur eine nennenswerte Abspaltung von Jod statt. Wir konnten auch in den einschlägigen Versuchen weder im Magen- noch im Darminhalt bei stomachaler Zufuhr dieses Körpers nennenswerte Mengen freies Jod nachweisen. Bei der Untersuchung des Teilungskoeffizienten fand sich ein Wert, der dem des Monobromisovalerianhylharnstoff („Bromural“) sehr nahe steht.

T. $\frac{\text{Öl}}{\text{Wasser}}$: für Mono bromisovalerianylharnstoff 1,33,

T. $\frac{\text{Öl}}{\text{Wasser}}$: für Monojodisovalerianylharnstoff 1,05.

Diese Fettlöslichkeit der Körper der Valeriansäuregruppe war es, die es mir wahrscheinlich machte, daß das in dieser höheren Fettsäure organisch gebundene Jod ein neurotropes Verhalten zeigen konnte. v. d. Eeckhout (6) fand jedoch trotz dieser Fettlöslichkeit des Jodproduktes, die der des Bromproduktes sehr nahe steht, beim Warmblüter (Kaninchen) keine narkotische Wirkung, was wir auch bestätigen können,

und er bezieht dies darauf, daß nach seinen Beobachtungen das Jod im Organismus ziemlich schnell wieder abgespalten wird. Dem Isovalerianylharnstoff allein kommt aber entsprechend seinem Teilungskoeffizienten von 0,689 nur eine geringe narkotische Wirkung zu. Diese Tatsache der schnellen Abspaltung des Jodes ließ es allerdings fraglich erscheinen, ob unter diesen Umständen das Jod überhaupt zum Zentralnervensystem mitgeschleppt werden würde.

Die folgenden Untersuchungen wurden an 24 erwachsenen Kaninchen vorgenommen, denen der Jodkörper teils subcutan, teils intraperitoneal teils stomachal als 2%ige Lösung (in 1%iger Sodalösung) einverleibt wurde, und zwar in Mengen von 1 bis 2 g auf 2 kg Tier. Eine ausgesprochene hypnotische Wirkung konnten wir nie konstatieren, sonstige Nebenwirkungen, wie Blutungen usw.; fanden sich nicht; selbst nicht in zwei chronischen Versuchen, bei denen die Tiere während 8 Tagen täglich 1 g „Jodival“ subcutan erhielten. Sämtliche Versuche waren bis auf diese zwei vorgenannten akute. Die Tiere wurden $3\frac{1}{2}$ bis $5\frac{1}{2}$ Stunden nach der Verabreichung aus der Carotis möglichst vollständig verblutet, die Organe mit Wasser mehrmals abgespült und von allen makroskopisch sichtbaren Blutgefäßen, besonders am Gehirn und Fett möglichst befreit. Zur Verarbeitung kamen Gehirn, Fettgewebe, Lungen, Nieren, Leber, Herz, Aorta, Blut, Muskel und unter Umständen Magen- und Darminhalt. Sämtliche Bestimmungen, die nach Möglichkeit doppelt ausgeführt sind, wurden frisch angesetzt. Zur Jodbestimmung benutzten wir die im Heffterschen Laboratorium modifizierte colorimetrische Methode von Roubardin-Baumann (3), die uns schon bei zahlreichen Jodbestimmungen sehr gute Resultate geliefert hatte. Es wurden bei jedem Tier 15 bis 20 Bestimmungen ausgeführt. Fr. L. Beyer bin ich für ihre tatkräftige Unterstützung bei den Untersuchungen zu Dank verpflichtet.

Orientierende Vorversuche über die Jodausscheidung beim Menschen nach stomachaler Verabreichung von 1,0 Jodival zeigten, daß das Jod im wesentlichen mit derselben Geschwindigkeit ausgeschieden wird wie bei der Verabreichung der entsprechenden Menge Jodkali, daß also die Hauptausscheidung innerhalb 48 Stunden beendet ist. Nähere Angaben darüber wird demnächst Bröking a. O. machen. Auch beim Kaninchen konnte ich mich davon überzeugen, daß die Ausscheidung analog derjenigen bei Jodkali-Zufuhr verlief, und es gelang mir nicht, 48 Stunden nach der letzten Jodival-Zufuhr bei 2 Tieren, die innerhalb 8 Tagen täglich $\frac{1}{2}$ resp. 1 g Jodival subcutan erhalten hatten, nennenswerte Mengen Jod bei der Veraschung der oben erwähnten Organe nachzuweisen. Nach diesen Erfahrungen habe ich mich dazu entschlossen, schon wenige Stunden nach der Einverleibung die Verblutung der Tiere vorzunehmen.

Ich hatte mich früher schon unter anderen Gesichtspunkten durch eine Serie von 6 Verteilungsversuchen an Kaninchen nach subcutaner Zufuhr von 0,5 g JNa pro 1 kg Tier von der

Richtigkeit der Loeb'schen Angabe überzeugt, daß sich nämlich im Gehirn- und Fettgewebe dabei kein Jod vorfindet. Um unter gleichen Versuchsbedingungen zu arbeiten, habe ich mich hier nochmals in drei Versuchen über die Jodverteilung orientiert bei der Zufuhr von Jodalkali in 1%iger Sodalösung, die für das Jodival als Lösungsmittel verwandt wurde. Das Jodnatrium wurde hierbei in einer der zu vergleichenden Jodivalmenge entsprechenden Menge verabreicht. Auch in diesen Versuchen konnte ich die von Loeb beschriebene Verteilung konstatieren. Es fand sich im Gehirn und Fett kein Jod vor.

Die mit „Jodival“ vorgenommenen Verteilungsversuche lassen sich kurz folgendermaßen registrieren:

A. Versuche mit subcutaner Zufuhr.

In sechs Versuchen wurden ausgewachsenen Kaninchen von ca. 2 kg 50 com einer 2%igen J-Lösung unter die Haut gespritzt. Die Stelle wurde stets gründlich massiert. Die Tiere vertrugen die Injektion alle ohne Beschwerden. In diesen sechs Versuchen wurde nach 3¹/₂ Stunden die Verblutung vorgenommen. In vier Versuchen zeigte sich im Gehirn und Fettsubstanz ein deutlicher Jodgehalt. Ein Versuch ergab nur Jod im Fett, ein Versuch war absolut negativ. Die hierbei nachgewiesenen Mengen Jod, umgerechnet auf Milligramm Jodkali, waren sehr gering und betragen im Durchschnitt pro 1 g frische Gehirnsubstanz (berechnet) 0,005 bis 0,015 mg J.-K.

Als Beispiel möge folgender Versuch angeführt sein:

Protokoll VI. 13. V. 08. Kaninchen, 2100 g.

3³⁰ 2%ige J-Lösung 80 com = 1,6 g subcutan unter Rückenhaut.

8³⁰ (nach 5 Stunden) verblutet. Urin sehr stark jodhaltig.

Organ	Gewicht (frisch)	Gesamt-Jodgehalt in mg J.-K.	Jodgehalt pro 1 g Substanz in mg J.-K.
Gehirn	8,5	0,12	0,014
Fett	2,6	0,24	0,092
Lunge r.	5,9	1,02	0,172
„ l.	5,7	1,02	0,178
Niere r.	6,5	1,78	0,273
„ l.	6,5	1,82	0,28
Leber I (84,5) . . .	5,0	0,42	0,084
„ II (aus Mittel-			
lappen)	5,0	0,52	0,104
Herz	7,0	0,76	0,108
Cruor	5,0	1,24	0,248

Im Unterhautzellgewebe an der Injektionsstelle liegen noch größere Mengen der Jodival-Sodalösung unresorbiert.

In vier Versuchen wurde die Verblutung erst nach 5 resp. $5\frac{1}{2}$ Stunden vorgenommen; dementsprechend betrug die subcutane Zufuhr 80 bis 100 ccm der 2%igen Jodivallösung. Als Resultat zeigten sich hier zwei positive und zwei negative Befunde für Gehirn und Fettgewebe.

In zwei Versuchen wurde den Kaninchen je 50 ccm der Jodivallösung intraperitoneal verabreicht. Die Verblutung erfolgte nach $3\frac{1}{2}$ Stunden. Hier ergab sich einmal ein positiver Befund, einmal ein negativer. Bei den beiden letzten Versuchsreihen betrug die im Gehirn gefundene Jodmenge berechnet pro 1 g frische Substanz ebenfalls wie vorher 0,005 bis 0,014 mg J.-K., während im Fett größere Mengen sich nachweisen ließen, und zwar von 0,02 bis 0,09 mg J.-K. desgl. auf 1 g frische Substanz berechnet, was natürlich keinen genauen Anhaltspunkt gibt, da wir das Fettgewebe nicht so quantitativ dem Körper entnehmen können wie das Gehirn.

Es resultiert also aus diesen Untersuchungen, daß zweifellos eine geringe Neurotropie und Lipotropie dieses Jodproduktes besteht, die sich jedoch nicht in allen Fällen nachweisen ließ. Nun ist jedoch das subcutane Vorgehen deswegen nicht ganz einwandfrei, weil erstens, wie wir uns fast stets überzeugen konnten, trotz prophylaktischer Massage größere Mengen der Jodival-Sodalösung liegen blieben; ferner bestand aber die Gefahr, daß erstens mal schon hier eine Abspaltung des Jods aus der Fettsäure erfolgte, dann aber, daß bei fetteren Tieren schon in dem Fett des Unterhautzellgewebes unter Umständen eine störende Ablenkung stattfinden könnte. Ob die höheren Zahlen für den Jodgehalt im Fettgewebe, wie wir sie bisher fanden, in diesem Sinne zu verstehen sind, möchten wir dahingestellt bleiben lassen. Wir gingen deshalb zur stomachalen Einverleibung bei Kaninchen über, ein Weg, der ja auch unter klinischen Gesichtspunkten der wichtigere ist.

B. Versuche mit stomachaler Zufuhr.

Es wurden hier acht Versuche vorgenommen, von denen sechs verwertbar sind, und zwar wurden in drei Versuchen den Tieren 50 ccm der 2%igen Jodivallösung mit der Schlundsonde verabreicht, während in den drei anderen Versuchen ein Vorgehen eingeschlagen wurde, das der in der Klinik gebräuchlichen Verabreichung des Produktes entspricht. Es wurde eine Aufschwemmung von 1 bis $1\frac{1}{2}$ g Jodival in Wasser durch die Schlundsonde in den Magen hineingespült. Die Verblutung wurde nach 3 bis 5 Stunden vorgenommen. Niemals fand sich im Magen- oder Darminhalt der 12 Stunden vorher hungrig gehaltenen Tiere Jodalkali resp. freies Jod in nennenswerter Menge, während sich bei der Veraschung, vorwiegend im Magen, noch große Mengen Jod nachweisen ließen, so daß wir also auch hier nicht die optimalsten Bedingungen zum Verteilungsstudium hatten. Nach diesen übereinstimmenden Befunden im Magen-Darmkanal bei Kaninchen müssen wir annehmen, daß eine Abspaltung des Jods aus der Valeriansäure hier nicht in nennenswerter Weise stattfindet, daß also das Jodprodukt als ganzes die Darmwand passiert. Nach der Verab-

reichung der Jodivallösung fand sich zweimal eine deutliche Neuro- und Lipotropie nach 3 resp. 4 Stunden. Einmal war der Befund nach 5½ Stunden ein negativer. Bei den drei Versuchen mit Verabreichung des Jodivals in Substanz war desgleichen zweimal ein positiver und einmal ein negativer Befund, jedesmal nach 4 Stunden, zu erheben. Ein Protokoll dieser letzten Serie möge hier als Beispiel dienen.

Protokoll XIII. 13. VI. 08. Kaninchen, 2100 g.

Um 1³⁰ mit Schlundsonde 1,5 g Jodival in etwas Wasser aufgeschwemmt.

Um 5³⁰ (nach 4 Stunden) aus den Carotiden verblutet.

Organ	Gewicht (frisch) g	Gesamt-Jod- gehalt in mg J.-K.	Jodgehalt auf 1 g Substanz	Bemerkungen
Gehirn I . . .	4,75	0,12	0,025	Magen- und Dünndarminhalt mit Wasser aufgenommen: Spur freies Jod.
" II . . .	4,75	0,12	0,025	
Nierenfett . . .	2,6	0,18	0,07	
Brieschen (sehr fettreich) . . .	2,4	0,16	0,066	Nach Veraschung von je 4 g frischer Substanz sehr starke Jodreaktion.
Lunge l. . .	4,1	0,34	0,082	
" r.	5,8	0,1	0,017	
Niere l.	5,2	0,38	0,073	Dickdarminhalt ohne jede Spur Jod.
" r.	5,4	0,34	0,062	
Leber l.	5,0	0,16	0,032	
" r.	5,0	0,3	0,06	
Aorta	0,8	∅	∅	
Muskel (Ober- schenkel) . . .	5,0	0,16	0,032	
Herz	5,0	0,1	0,02	
Cruor	5,0	0,88	0,17	

Es geht aus diesen Untersuchungen am Kaninchen hervor, daß unsere Annahme prinzipiell richtig war. Das Jod erhält durch seine Verkettung mit der Valeriansäure beim Kaninchen eine, wenn auch geringe, Neuro- und Lipotropie. Bei der schnellen Abspaltung des Jods aus dieser Gruppe wird es nicht wundernehmen, daß bei einer Anzahl von Versuchen der Befund ein negativer war. Außerdem waren bei diesen Versuchen durch Lagerung größerer Mengen der Substanz im Unterhautzellgewebe wie im Magen die Verteilungsbedingungen nicht die günstigsten. Die Versuche sagen nichts darüber aus, in welcher Form das Jod sich im Nervensystem und Fettgewebe bei Verabreichung des Jodivals vorfindet. Therapeutische Schlußfolgerungen für die Klinik lassen sich aus diesen Tierversuchen, die zunächst rein theoretisches Interesse

besitzen, vorerst nicht ziehen; jedenfalls ist die rasche Abspaltung und Ausscheidung des Jodes beim Menschen einer Neurotropie nicht förderlich.

Literatur.

1. M. Jacoby, Zeitschr. f. Chirurgie. Sonnenburg-Festschr. 1908.
2. M. Jacoby und Bondi, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 10/11.
3. O. Loeb, Schmiedebergs Archiv 56.
4. O. Loeb und Michaud, diese Zeitschr. 3.
5. P. Ehrlich, Sauerstoffbedürfnis, 1885. Ges. Arbeiten, 1904.
6. v. d. Eeckhout, Schmiedebergs Archiv 57.
7. v. d. Velden, diese Zeitschr. 9.
8. v. d. Velden, Ber. d. Kölner Naturf.-Versamml. 1908.

Enzymstudien.

II. Mitteilung.

Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionen- konzentration bei enzymatischen Prozessen.¹⁾

Von

S. P. L. Sørensen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. Mai 1909.)

Mit 8 Figuren im Text und 1 Tafel.

Inhalt. Einleitung. 1. Säuregrad—Wasserstoffionenkonzentration, S. 131. — 2. Die Größe der Wasserstoffionenkonzentration. Der Wasserstoffionenexponent, S. 133. — 3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration verglichen mit dem der Temperatur. Wasserstoffionenkonzentrationskurven, S. 134. — 4. Meßmethoden zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration, S. 139. — A. Elektrometrische Messungen. a) Die Meßmethode, S. 150; b) Bestimmung von π_0 , S. 153; c) Bestimmung der Dissoziationskonstante des Wassers, S. 161; d) Die Standardlösungen und ihre Messung auf elektrolytischem Wege; die Hauptkurventafel, S. 167; e) Besondere Fälle, wo die elektrometrische Messung mit Schwierigkeiten verbunden ist, S. 190. — B. Colorimetrische Messungen. a) Das angewandte Verfahren, S. 201; b) Fehlerquellen der Methode, S. 206; c) Die untersuchten Indicatoren, S. 221. — C. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen. a) Invertin, S. 256; b) Katalase, S. 284; c) Pepsin, S. 288; Kurze Übersicht, S. 300.

Einleitung.

1. Säuregrad — Wasserstoffionenkonzentration.

Es ist eine wohlbekannte Tatsache, daß die Geschwindigkeit, mit welcher eine enzymatische Spaltung verläuft, unter anderem

¹⁾ Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den *Compt. rend. du Lab. de Carlsberg* 8, 1, 1909 veröffentlicht.

von dem Aciditäts- oder Alkalitätsgrade der vorliegenden Lösung abhängig ist. Gewöhnlich — ja sozusagen immer — wird bei enzymatischen Prozessen der Aciditäts- oder Alkalitätsgrad nach der ganzen zugegebenen Säure- oder Basenmenge berechnet und angegeben, und es ist keineswegs üblich, auf den Dissoziationsgrad der angewandten Säure oder Base Rücksicht zu nehmen; noch seltener wird das Vermögen der betreffenden Lösung, Säure oder Base zu binden, mit in Betracht gezogen.

Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß die Ansichten über die Natur der Lösungen, welche auf der Theorie Arrhenius' über die elektrolytische Dissoziation fußen, auch in solchen Fällen wie die hier erwähnten zur Anwendung zu bringen sind. Wenn zum Beispiel eine Pepsinverdauung sich in einer salzsauren Lösung abspielt, welche in bezug auf ihren Gesamtgehalt an Salzsäure 0,1 normal ist, dann darf man nicht außer acht lassen, daß eine 0,1 normale Salzsäure nicht vollständig dissoziiert ist, und daß der „wirkliche Säuregrad“, welcher rationell als die Wasserstoffionenkonzentration zu bezeichnen ist, infolge dessen etwas kleiner als 0,1 n ist. Zugleich muß man in Betracht ziehen, inwieweit die Lösung Salze — z. B. Phosphate —, mit welchen die Salzsäure sich umsetzen kann, oder andere Stoffe, welche die Wasserstoffionenkonzentration beeinflussen können, enthält, und namentlich darf man nicht vergessen, daß das Substrat, in diesem speziellen Falle ein passender Proteinstoff, Säure bindet. Da die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nur von der anwesenden Menge freier dissoziierter Säure abhängig ist, und da selbstverständlich die an den Proteinstoff gebundene Säuremenge von der Natur und Menge dieses Stoffes abhängt, so ist unmittelbar einleuchtend, daß zwei Lösungen, deren die eine z. B. 1 g, die andere 5 g Proteinstoff in 100 ccm 0,1 n-Salzsäure enthält, und die folglich nach der allgemein üblichen Ausdrucksweise von demselben Säuregrad sind, einen weit verschiedenen „wirklichen Säuregrad“, eine weit verschiedene Wasserstoffionenkonzentration haben.

Das hier über den Säuregrad und die Wasserstoffionenkonzentration einer Pepsinverdauung Gesagte hat für alle enzymatischen Prozesse Gültigkeit. Ich habe die Pepsinspaltung als Beispiel gewählt, weil dieser Prozeß am besten bei einer

größeren Wasserstoffionenkonzentration vor sich geht, weshalb die Verhältnisse hier übersichtlicher und wohl auch einigermaßen bekannt sind. Aber auch bei solchen enzymatischen Vorgängen, welche sich am besten bei schwach saurer, neutraler oder alkalischer Reaktion abspielen, muß eine ganz gleiche Betrachtungsweise geltend gemacht werden. Es wird aus den im letzten Abschnitte (s. S. 255) dieser Abhandlung angeführten Beispielen hervorgehen, daß die Größe der Wasserstoffionenkonzentration für die anderen Enzymspaltungen von ebenso wesentlicher Bedeutung ist wie für die Pepsinverdauung; der Unterschied liegt nur in der Größenordnung der Wasserstoffionenkonzentrationen, mit welchen man in den verschiedenen Fällen zu rechnen hat.

2. Die Größe der Wasserstoffionenkonzentrationen. Der Wasserstoffionenexponent.

Wenn man die Konzentrationen der Wasserstoffionen, der Hydroxylionen und des Wassers in einer wässrigen Lösung mit beziehungsweise C_{H^+} , C_{OH^-} und C_{H_2O} bezeichnet, dann wird, wie bekannt, kraft des Gesetzes der chemischen Massenwirkung die folgende Gleichung gelten:

$$\frac{C_{H^+} \times C_{OH^-}}{C_{H_2O}} = \text{konstant.}$$

Da C_{H_2O} für eine wenn auch nur einigermaßen verdünnte Lösung als konstant anzusehen ist, wird auch das Produkt

$$C_{H^+} \times C_{OH^-} = \text{konstant.}$$

Dieses Produkt, welches gewöhnlich, auch in dieser Abhandlung, die Dissoziationskonstante des Wassers genannt wird, wird bei 18° gleich $0,64 \times 10^{-14}$ gesetzt; in einer Reihe Messungen, welche hier im Laboratorium ausgeführt wurden und in einem späteren Abschnitte (s. S. 163) beschrieben werden, haben wir den Mittelwert $0,72 \times 10^{-14}$, oder, anders geschrieben, $10^{-14,14}$, gefunden. Die Größe ermöglicht, wie leicht zu ersehen ist, die Wasserstoffionenkonzentration einer wässrigen Lösung zu berechnen, wenn die Konzentration der Hydroxylionen bekannt ist und umgekehrt. Weil natürlich der Wert der Dissoziationskonstante des Wassers mit Fehlern behaftet ist, und weil weiter die Konzentration der Wasserstoffionen gewöhnlich genauer und bequemer als die der Hydroxyl-

ionen sich bestimmen läßt, ist es rationeller, wie H. Friedenthal¹⁾ vorgeschlagen hat, soweit als möglich immer die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung zu bestimmen und in Rechnung zu bringen, auch dann, wenn die Lösung alkalisch reagiert. Dieses Verfahren wird deshalb auch im folgenden gebraucht, indem z. B. eine Lösung, deren Normalität, auf Wasserstoffionen bezogen, gleich 0,01 gefunden ist, mit 0,01 n oder, unter Weglassung der Normalitätsbezeichnung, kurzweg mit 10^{-2} bezeichnet wird. In derselben Weise wird die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung, welche auf Hydroxyionen bezogen, z. B. 0,01 normal ist, durch $10^{-12,14}$ angegeben, indem $10^{-12,14} \times 10^{-2} = 10^{-14,14}$ ist. Vollständig reines Wasser und wirklich neutrale Lösungen werden beim Gebrauch derselben Ausdrucksweise eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-7,07}$ haben, da $10^{-7,07} \times 10^{-7,07} = 10^{-14,14}$.

Die Größe der Wasserstoffionenkonzentration wird demgemäß durch den auf die Wasserstoffionen bezogenen Normalitätsfaktor der betreffenden Lösung ausgedrückt, und dieser Faktor wird in der Form einer negativen Potenz von 10 geschrieben. Indem ich übrigens auf einen folgenden Abschnitt verweise (s. S. 159), will ich hier nur anführen, daß ich den Namen „Wasserstoffionenexponent“ und die Bezeichnung p_H für den numerischen Wert des Exponenten dieser Potenz benütze. In den drei oben angeführten Beispielen wird p_H demgemäß bzw. 2, 12,14 und 7,07.

3. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration verglichen mit dem der Temperatur. Wasserstoffionenkonzentrationskurven.

Die Konzentration der Wasserstoffionen spielt bei enzymatischen Prozessen eine ganz ähnliche Rolle wie die Temperatur. Unter der Temperaturkurve eines Enzyms versteht man gewöhnlich die Kurve, welche die in der Zeiteinheit unter gegebenen Umständen gespaltete Substratmenge als Ordinaten hat, während die Versuchstemperaturen als Abszissen dienen. Eine solche Temperaturkurve gibt folglich Auskünfte über die Geschwindigkeit, mit welcher das Substrat bei verschiedenen Tempe-

¹⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 114, 1904.

raturen, aber bei sonst gleichen Verhältnissen gespalten wird, und zeigt des weiteren, wie bekannt, daß es für jedes einzelne Enzym eine bestimmte Temperatur, die Optimaltemperatur, gibt, bei welcher die Spaltung ihre größte Geschwindigkeit erreicht. In der Nähe der Optimaltemperatur — in der Optimalzone — verläuft die Spaltung mit ungefähr ebenso großer Schnelligkeit wie bei der Optimaltemperatur selbst, in größerer Entfernung aber nimmt die Geschwindigkeit zu beiden Seiten ab, gewöhnlich am stärksten bei steigender Temperatur, so daß das Substrat so gut wie nicht gespalten wird, wenn die Temperatur hinreichend niedrig, bzw. hoch ist. Daß die Geschwindigkeit der Spaltung mit sinkender Temperatur abnimmt, hat gewiß nicht in einer Destruktion des Enzyms seinen Grund; dagegen kann man kaum bezweifeln, daß das starke Absteigen der Temperaturkurve bei Temperaturen über denen der Optimalzone von einer unter diesen Umständen stattfindenden Zerstörung des Enzyms herrührt. Die Temperaturkurve ist somit als die Differenz zweier Kurven aufzufassen, die wirkliche Temperaturkurve, welche nicht nur unter, sondern wahrscheinlich auch über der Optimalzone mit der Temperatur gleichförmig steigend verlaufen wird, und andererseits die Zerstörungskurve des Enzyms, die bei niedrigen Temperaturen, unter der Optimaltemperatur, kleinere Ordinaten¹⁾ hat, während sie bei höheren Temperaturen stark ansteigt, um bald einen Verlauf beinahe parallel der Ordinatenachse²⁾ zu nehmen.

Es ist leicht zu ersehen, daß eine Kurve, welche mit diesen zwei Kurven, der „wirklichen Temperaturkurve“ und der Destruktionskurve des Enzyms, gemeinsame Abszissen hat, während ihre Ordinaten der Differenz der Ordinaten dieser Kurven gleich

¹⁾ Selbstverständlich ist ein solcher Vergleich nur dann möglich, wenn die Ordinaten der zwei Kurven in denselben Maßeinheiten ausgedrückt werden. Die Ordinaten der Zerstörungskurve des Enzyms müssen deshalb den Unterschied zwischen der im Versuch gespaltenen Menge Substrat und der Menge, welche gespalten worden wäre, wenn das Enzym nichts von seinem Wirkungsvermögen eingebüßt hätte, angeben.

²⁾ Siehe z. B. Th. Madsen et L. Walbum, *Recherches sur l'affaiblissement de la présure*. Festschrift tillegnad Olof Hammarsten 1906, Abh. Nr. 10; und L. W. Famulener und Thorvald Madsen, *Die Abschwächung der Antigene durch Erwärmung*. Diese Zeitschr. 11, 186, 1908.

sind, ganz wie die gewöhnliche Temperaturkurve eines Enzyms verlaufen wird. Ganz ähnliche Verhältnisse gelten auch für die Wasserstoffionenkonzentrationskurve eines Enzyms; damit wird die Kurve gemeint, welche man bekommt, wenn man die unter den gegebenen Versuchsbedingungen in der Zeiteinheit gespaltene Substratmenge als Ordinaten benutzt, während der Wasserstoffionenexponent der Versuchsflüssigkeit als Abszisse fungiert. Eine solche Wasserstoffionenkonzentrationskurve, welche somit über die Spaltungsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen, wenn alles übrige gleich bleibt, Aufklärung gibt, hat (siehe den letzten Abschnitt dieser Abhandlung, S. 255), ganz wie die Temperaturkurve, ihren Optimalpunkt, ihre Optimalzone und ihr Absteigen sowohl bei zunehmender als auch bei abnehmender Wasserstoffionenkonzentration. Ob die Analogie zwischen dem Einflusse der Temperatur und dem der Wasserstoffionenkonzentration noch weiter geht, so daß z. B. das Absteigen des einen Kurvenzweiges von einer langsameren Wirkung des Enzyms bei den diesem Zweig entsprechenden Ionenkonzentrationen herrührt, während das Absteigen des anderen Zweiges in einer zunehmenden Destruktion des Enzyms bei den entsprechenden Ionenkonzentrationen seine Ursache hat, oder ob etwa die beiden Kurvenzweige den Grund ihres Sinkens in dem letztgenannten Umstande haben, ist von uns noch nicht experimentell durchgearbeitet worden, aber diesbezügliche Arbeiten sind hier im Laboratorium in Angriff genommen.

Durch diesen Vergleich zwischen dem Einflusse der Temperatur und dem der Wasserstoffionenkonzentration — ein Vergleich, welcher bei der Betrachtung der Wasserstoffionenkonzentrationskurven sich ganz von selbst aufdrängt — habe ich nur so stark wie möglich hervorheben wollen, daß die Kenntnis der Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeit, in welcher ein enzymatischer Prozeß stattfindet, von ebenso ausschlaggebender Bedeutung ist, als die Kenntnis irgendeines anderen Faktors, z. B. der Temperatur, welcher die Geschwindigkeit des Prozesses beeinflußt.

Bevor ich zur Besprechung der Methoden übergehe, welche bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration solcher Lösungen, wie die hier in Rede stehenden, anwendbar sind, mag es zweckmäßig sein, hier vorerst kurz zu begründen, warum

bei der Konstruktion der Wasserstoffionenkonzentrationskurven mit dem Wasserstoffionenexponenten, und nicht mit dem eigentlichen, den Gehalt an Wasserstoffionen direkt angehenden Normalitätsfaktor gerechnet wird.

Erstens muß man sich dann erinnern, wie klein der wirkliche Gehalt an Wasserstoffionen ist bei allen Enzymspaltungen, die Pepsinverdauung allein ausgenommen. Handelt es sich z. B. um die Spaltung des Rohrzuckers mittels Invertins, welche in schwach saurer Flüssigkeit am besten vor sich geht, und nehmen wir an, daß die Lösung die für diesen Prozeß optimale Ionenkonzentration besitzt, dann zeigt eine einfache Rechnung, daß der Gesamtbetrag an Wasserstoffionen in 100 ccm einer solchen Lösung kleiner ist als der Gehalt an Wasserstoffionen in 1 Tropfen 0,1 n-Salzsäure. Das heißt, anders gesagt, daß ein Zusatz von nur 1 Tropfen 0,1 n-Natriumhydroxydlösung zu 100 ccm einer solchen Lösung, welche mit reinem Zucker und unter Benutzung einer durch Dialyse oder sonst irgendwie tunlichst von säure- oder basebindenden Stoffen befreiten Invertinlösung zubereitet ist, ihren Charakter ganz verändern wird, derart, daß sie von schwach sauer schwach alkalisch werden wird, wodurch jede Wirkung des Enzyms aufhört.¹⁾ Da es sich folglich bei Enzymspaltungen gewöhnlich um außerordentlich kleine absolute Mengen von Wasserstoffionen handelt, wird man leicht zu der Annahme geführt, daß erst solche Änderungen ihrer Konzentration, die eine deutliche Änderung des Wasserstoffionenexponenten herbeiführen, eine nachweisbare Veränderung der Geschwindigkeit der Enzymspaltung bewirken werden.

Eine einfache Rechnung zeigt, daß eine Verdoppelung oder eine Halbierung der Ionenkonzentration eine Verminderung, bzw. eine Vergrößerung des Ionenexponenten mit ca. 0,3 herbeiführt, so daß z. B. eine Lösung mit dem Wasserstoffionenexponenten 4,6 eine 2 mal so große Wasserstoffionenkonzentration hat als eine Lösung mit dem Exponenten 4,9, diese letztere wieder eine doppelt so große Konzentration der Wasserstoffionen als eine mit dem Wasserstoffionenexponenten 5,2 und so fort-

¹⁾ Eine für säure- und basebindende Stoffe ganz freie Invertinlösung läßt sich natürlich nicht darstellen; es macht aber keine Schwierigkeiten, eine Enzymlösung darzustellen, welche so rein ist, daß die Wirkung kleiner Mengen alkalischer Stoffe, z. B. von alkalisch reagierenden Gläsern herrührend, deutlich zu spüren ist. Siehe z. B. die schöne Arbeit G. Bertrands, *Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la laccase*. Bull. de la Soc. chim. de France [4], 1, 1120, 1907.

Das hier Angeführte scheint indessen nicht nur für diejenigen Enzymspaltungen zu gelten, welche bei kleinen Wasserstoffionenkonzentrationen stattfinden, sondern insofern als die bisher ausgeführten Versuche ein Urteil darüber erlauben, auch für die Pepsinverdauung. Auch hier bedingt eine Verdoppelung der Wasserstoffionenkonzentration keine durchgreifende Änderung der Geschwindigkeit des Prozesses, obschon hier von stark sauren Flüssigkeiten die Rede ist, indem die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Pepsinverdauung bei 10^{-1} bis 10^{-2} liegt.

Kurz, es hat sich, was die bisher untersuchten enzymatischen Prozesse betrifft, gezeigt, daß die Änderung der Geschwindigkeit des Prozesses von der relativen Größe der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration und nicht von dem absoluten Wert derselben Änderung abhängt. Infolgedessen ist es bei Studien dieser Art zweckmäßig, nicht mit den absoluten Werten der Wasserstoffionenkonzentrationen, sondern mit ihren Logarithmen, das heißt, mit dem Wasserstoffionenexponenten zu rechnen. In dieser Weise ausgedrückt, wird eine Änderung der Ionenkonzentration z. B. von 10^{-5} auf 10^{-4} dieselbe Bedeutung haben wie eine Änderung von 10^{-2} auf 10^{-1} .

So ist es auch möglich, den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration in übersichtlicher Weise graphisch darzustellen, mittels der Ionenkonzentrationskurven, wie oben erwähnt. Das würde kaum tunlich sein, falls man die eine oder die andere absolute Menge Wasserstoffionen, z. B. die der Konzentration 10^{-7} entsprechenden, als Einheit der Abszissen benutzen würde. Lösungen mit der Wasserstoffionenkonzentration 10^{-6} und 10^{-5} einerseits und 10^{-8} und 10^{-9} andererseits würden in diesem Falle durch die Abszissen 10 und 100 bzw. 0,1 und 0,01 repräsentiert werden, und noch ungünstiger wäre die Sachlage, wenn die graphische Darstellung einen noch größeren Bereich von Ionenkonzentrationen umfassen sollte.

Ob diese Zweckmäßigkeitsgründe, welche mich die hiererwähnte Bezeichnungsweise der Wasserstoffionenkonzentration zu benutzen bewogen haben, eine wirkliche Ursache decken, ob, mit anderen Worten, die Wasserstoffionenkonzentration nicht mit ihrem absoluten Betrag, sondern mit ihrem Logarithmus in den mathematischen Ausdruck des Zusammenhanges

zwischen dem Geschwindigkeitsverlauf des Prozesses und der Ionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit eintritt, das wird sich erst entscheiden lassen, wenn wir über ein weit ausgehenderes Versuchsmaterial verfügen als das zurzeit vorliegende.

4. Meßmethoden zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration.

Solche Lösungen, wie diejenigen, von welchen bei enzymatischen Spaltungen die Rede ist, enthalten so gut wie immer größere oder kleinere Mengen von unvollständig dissoziierten Verbindungen (z. B. schwachen Säuren oder schwachen Basen) oder von hydrolysierbaren Stoffen (z. B. Phosphaten oder Verbindungen der Proteinstoffe oder deren Spaltungsprodukten mit Säuren oder Basen). Der Gesamtbetrag dieser sämtlichen Stoffe bestimmt den Inhalt der Lösung an Wasserstoff- und an Hydroxylionen, deren Produkt nach dem früher entwickelten konstant sein soll. Wird das Gleichgewicht einer Lösung gestört, etwa durch Zusatz von ein wenig Base, d. h. durch Zufuhr von Hydroxylionen, müssen eben solche verbraucht werden, um das Gleichgewicht wiederherzustellen.

Ein solcher Verbrauch kann z. B. dadurch entstehen, daß die Hydrolyse anwesender Salze schwacher Säuren zurückgedrängt wird, oder dadurch, daß Hydroxylionen sich mit Wasserstoffionen zu Wasser vereinigen, was wiederum eine Neubildung von Wasserstoffionen (z. B. durch weitere Dissoziation schwacher Säuren oder weitere Hydrolyse etwaiger Salze schwacher Basen) mit sich bringt. Ein Zusatz von Basen oder Säuren zu solchen Lösungen bewirkt somit nicht nur die Neutralisation einer äquivalenten Menge Säure oder Base, sondern es werden auch Dissoziations- und Hydrolyseprozesse hervorgerufen, deren Umfang natürlich von der Art und Menge der anwesenden Stoffe abhängt, deren quantitativer Verlauf aber sich gewöhnlich jeder Berechnung entzieht.

Hat man es z. B. mit einer Lösung eines Proteins in Pepsin-Salzsäure zu tun, dann kann man durch Titrierung mittels eines passend gewählten Indicators feststellen, wieviel Säure die Lösung enthält über die Menge hinaus, welche erforderlich ist, um die Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher der Indicator umschlägt, zu geben. Daraus kann aber nichts gefolgert werden bezüglich der Ionenkonzentration der Lösung

vor der Titrierung; denn die titrierte Säuremenge war gewiß nur teilweise frei, teilweise war sie an Proteinstoffe gebunden, von denen sie erst während der Titrierung nach und nach abgespalten worden ist.

Es ist demnach einleuchtend, daß eine Methode bei welcher die Konzentration der Wasserstoffionen während der Messung abgeändert wird — und das gilt ja von der ganzen großen Gruppe von Methoden, welche auf titrimetrischen Bestimmungen der Acidität oder der Alkalinität basiert sind — für die Bestimmung dieser Konzentration unbrauchbar ist.

Auch eine von H. Dreser¹⁾ seit ein paar Jahren publizierte Methode zur Bestimmung der freien Salzsäure im Magensaft entgeht den oben erwähnten Fehlerquellen nicht ganz. Dreser behandelte den Magensaft mit festem Bariumoxalat oder Bariumchromat und bestimmte die dadurch in Lösung gegangene Bariummenge. Zu gleicher Zeit verdünnte er eine Salzsäure so weit, daß sie gegen Lauge durch Tüpfeln mit Kongo titriert denselben Inhalt an „freier“ Salzsäure wie der Magensaft zeigte, und ermittelte, wieviel Barium durch Behandlung der genannten Bariumsalze mit dieser Säure unter den gleichen Bedingungen wie mit dem Magensaft in Lösung übergeführt wurde. Aus den in solcher Weise gefundenen Barytmengen berechnet Dreser die „Avidität“ des Magensaftes. Dreser bemerkt selbst, daß eine gewöhnliche Titriermethode für die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration unbrauchbar ist; er sieht aber nicht, daß die von ihm vorgeschlagene Methode Fehlerquellen von gleicher Art in sich birgt, indem der Magensaft nicht ohne weiteres mit der reinen verdünnten Salzsäure zu vergleichen ist. Der erstere enthält einen Teil gebundener Salzsäure, die Menge dieser letzteren ist unter anderem von der Art und Menge der anwesenden stickstoffhaltigen Körper abhängig — und diese gebundene Salzsäure kann zum Teil durch das Schütteln mit dem unlöslichen Bariumsalze abgespalten werden. Die Bestimmungen der „Avidität“ derselben Flüssigkeit geben ihm dann auch verschiedene Resultate, je nachdem er das Chromat oder das Oxalat anwendet.

Eine andere große Gruppe von Meßmethoden bilden diejenigen, welche zur Messung der Wasserstoff- oder Hydroxylionenkonzentration einer Lösung ihr Vermögen, solche Prozesse katalytisch zu beschleunigen, deren Geschwindigkeit proportional der Ionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit ist, heranziehen.

Die älteste dieser Bestimmungsmethoden ist die Rohrzuckerinversionsmethode, welche auf W. Ostwalds An-

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8. 285, 1906.

regung und auf den Untersuchungen W. Ostwalds¹⁾ fußend, von F. Albin Hoffmann²⁾ ausgearbeitet wurde.

Wie bekannt, wird der Rohrzucker durch Behandlung mit Säuren invertiert, und die Geschwindigkeit der Inversion ist der Wasserstoffionenkonzentration proportional, wenn die Säure hinreichend verdünnt ist, wie es von W. Palmaer³⁾ später dargetan wurde. Vergleicht man nun die Geschwindigkeiten der Inversion einer Rohrzuckerlösung, wenn alles übrige gleich bleibt, bei Behandlung einerseits mit der zu untersuchenden Lösung, andererseits mit einer passenden verdünnten Salzsäure, deren Wasserstoffionenkonzentration sich leicht berechnen läßt, dann werden diese Geschwindigkeiten sich direkt wie die Ionenkonzentrationen verhalten. Da die zu untersuchende Lösung (z. B. eine Probe Magensaft) bisweilen optisch aktive Stoffe, deren Drehung durch Erwärmung verändert wird, oder invertierende Enzyme enthalten kann, so muß man natürlich durch passende Kontrollversuche eventuelle Nebenprozesse eliminieren.

Kurze Zeit nachher veröffentlichte F. A. Hoffmann eine Methode gleicher Art und ebenfalls auf den Untersuchungen Ostwalds fußend.⁴⁾ Eine wässrige Lösung von Methylacetat wird durch Stehenlassen in Essigsäure und Methylalkohol gespalten. Der Geschwindigkeitsverlauf dieses Prozesses wird katalytisch beschleunigt durch Zusatz einer Säure, und auch hier ist die Geschwindigkeit der Verseifung proportional der Wasserstoffionenkonzentration. Auch Hydroxylionen besitzen bekanntlich die Fähigkeit, die Spaltungsgeschwindigkeit der Alkylsalze zu beschleunigen. J. Shields⁵⁾ hat damit den Gehalt an Hydroxylionen in Lösungen von Salzen schwacher Säuren ermittelt, indem er die verseifende Wirkung der betreffenden Lösungen Äthylacetat gegenüber maß.

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. N. F. 29, 385, 1884.

²⁾ Centralbl. f. klin. Med. 10, 793, 1889.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 492, 1897.

⁴⁾ W. Ostwald. Journ. f. prakt. Chem. N. F. 28, 449, 1883. — J. Walker, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 322, 1889. — F. A. Hoffmann, Verhandlungen des X. internationalen medizinischen Kongresses, Berlin 1890; Abteilung V, S. 201.

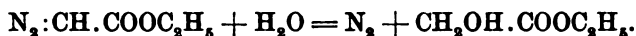
⁵⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 167, 1893.

Von derselben Art ist auch eine von K. Koelichen¹⁾ vorgeschlagene Methode zur Messung der Konzentration von Hydroxylionen. Koelichen hat gefunden, daß die Umwandlung von Diacetonalkohol in Aceton



freiwillig und unter bedeutender Ausdehnung des Volumens verläuft, so daß der Prozeß sich dilatometrisch messen läßt. Die Hydroxylionen beschleunigen den Vorgang, dessen Geschwindigkeit mit ihrer Konzentration proportional ist.

Endlich haben G. Bredig und W. Fraenkel²⁾ in der neuesten Zeit eine schöne Methode der Bestimmung von Wasserstoffionenkonzentrationen ausgearbeitet, indem sie als Grundlage die von Th. Curtius³⁾ beschriebene Spaltung des Diazoesigesters durch verdünnte Säure unter Entwicklung von freiem Stickstoff benutzen:



Da der entwickelte Stickstoff sich leicht messen läßt, da ferner die Reaktion genau nach erster Ordnung verläuft und die Reaktionsgeschwindigkeit proportional der Wasserstoffionenkonzentration ist, und da endlich die katalytische Wirkung sehr groß ist, so daß selbst ziemlich schwache Konzentrationen von Wasserstoffionen (bis zu $\frac{1}{1000}$ herunter) gemessen werden können, so ist diese Methode offenbar in vielen Fällen vor den sonst am meisten benutzten Messungsmethoden — durch Inversion von Rohrzucker und durch Verseifung von Methylacetat — vorzuziehen.

Abgesehen von der Methylacetatmethode und der damit analogen Shieldschen Methode, erfüllen alle diese Methoden den obenerwähnten Hauptanspruch: daß die Konzentration der Wasserstoffionen nicht während der Messung geändert wird, und selbst bei der Methylacetatmethode ist die von der bei der Spaltung gebildeten Essigsäure herrührende Vermehrung der Wasserstoffionen nur ganz geringfügig, indem die Essigsäure, wie bekannt, nur wenig dissoziiert ist.

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 33, 129, 1900. — Vgl. auch W. Will und G. Bredig, Umwandlung von Hyoscyamin in Atropin durch Basen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2777, 1888.

²⁾ Zeitschr. f. Elektrochemie 11, 525, 1905; Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 202, 1907. — Vgl. auch Bror Holmberg, *ibid.* 62, 726, 1908.

³⁾ Journ. f. prakt. Chem. N. F. 38, 396, 1888.

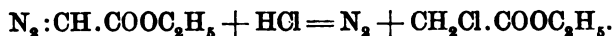
Wenn diese Methoden trotz des hier angeführten nur eine sehr kleine Anwendbarkeit für den hier in Rede stehenden Zweck besitzen, hat es vornehmlich seinen Grund darin, daß sie nur bei verhältnismäßig großen Konzentrationen der Wasserstoff- oder Hydroxylionen benutzt werden können, so daß schon deshalb ihre Anwendbarkeit sich auf eine einzige enzymatische Spaltung, die Pepsinverdauung, beschränkt. Würde man z. B. den Versuch machen, die Rohrzuckerinversionsmethode zur Bestimmung niedrigerer Wasserstoffionenkonzentrationen, beispielsweise solcher in der Nähe des Optimalpunktes des Enzyms Invertin (siehe S. 266) heranzuziehen, dann müßte man, um eine von der Wirkung der Wasserstoffionen allein herrührende Inversion zu bekommen, eine sehr hohe Temperatur benutzen. Welche Fehler man dadurch zu begehen ausgesetzt wäre, läßt sich nicht leicht überschauen; mit den oben erwähnten Dissoziations- und Hydrolysenverhältnissen vor Augen ist es aber selbstverständlich, daß die Temperatur, bei welcher man die Wasserstoffionenkonzentration mißt, so nahe wie möglich an derjenigen liegen muß, die man bei dem enzymatischen Prozesse bedacht ist anzuwenden, dessen Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration man zu messen bezweckt.

Hierzu kommt aber noch, daß bei der Anwendung mehrerer von diesen Methoden — z. B. der der Rohrzuckerinversion, der Methylacetatverseifung und der Diacetonalkoholspaltung — die sogenannte „Neutralsalzwirkung“¹⁾ sich geltend macht, und endlich, was nicht am wenigsten ins Gewicht fällt, daß, während das Verfahren wenig zusammengesetzten Lösungen gegenüber einfach und leicht ist, es sich oft überhaupt nicht anwenden läßt, wenn man es mit solchen sehr komplizierten Gemischen zu tun hat, wie diejenigen, von welchen bei enzymatischen Spaltungen die Rede ist. So haben G. Bredig und P. F. Ripley²⁾ gezeigt, daß die schönste der oben erwähnten Methoden, die Diazoessigestermethode, ganz unbrauchbar wird, sobald selbst nur kleine Mengen von Chlor- oder Sulfationen zugegen

¹⁾ Sv. Arrhenius, Zeitschr. f. physikal. Chem. 1, 110, 1887; 4, 237, 1889 und 31, 197, 1899.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 4015, 1907. — Siehe auch: W. Fraenkel, Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 202, 1907.

sind, weil dann, unter Änderung der Wasserstoffionen-konzentration, Nebenprozesse eintreten, wie z. B.



Zu bemerken ist ferner, daß Taav. Laitinen¹⁾ den Hydroxylionengehalt des Blutes mittels der oben angeführten Di-acetonalkoholmethode Koelichens zu ermitteln versucht hat, dabei aber zu Werten von einer ganz anderen Größenordnung als der gewöhnlich gefundenen gelangt ist.

Ich bin daher der Ansicht, daß bei enzymatischen Prozessen auch nicht diese zweite Gruppe von Meßmethoden fähig ist allgemeine Anwendung bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration zu finden, und in den seltenen Fällen, wo eine der genannten Methoden benutzt werden kann, dies nur unter Wahrnehmung genügender Kontrolle und Kritik geschehen darf.

Es gibt noch zwei Verfahrensweisen, durch welche die Wasserstoff- oder Hydroxylionenkonzentration einer Lösung bestimmt werden kann, nämlich die Gaskettenmessung und die Bestimmung mittels Indicatoren, auch die elektrometrische, bzw. die colorimetrische Methode genannt.

Diese beiden Verfahren werden hier im Laboratorium bei enzymatischen Untersuchungen benutzt. Sie ergänzen einander, indem die elektrometrische die genaueste, dabei aber auch bei weitem die umständlichere ist, während die colorimetrische Methode wohl etwas weniger genau ist, dafür aber sich durch eine außerordentlich einfache Ausführung auszeichnet. Die letztere eignet sich somit vorzüglich z. B. für die vorläufigen, orientierenden Versuche, welche notwendig sind, ehe man den Plan zu einem genaueren Studium der Abhängigkeit zwischen Enzymwirkung und Wasserstoffionenkonzentration entwerfen kann.

Indessen wird nicht nur in der Enzymologie, sondern auch — und zwar in gleichem Maß — in den damit verwandten Zweigen der Wissenschaft das Bedürfnis einer einfachen Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration sich fühlbar machen. Es ist darum der Hauptzweck dieser Ab-

¹⁾ Festschrift tillegnad Olof Hammarsten 1906, Abh. Nr. 9.

handlung, erstens eine ausführliche Beschreibung der colorimetrischen Methode zu geben, wie sie hier im Laboratorium während einer Reihe von Jahren durchgearbeitet worden und am praktischsten zu gebrauchen ist, und zweitens die Brauchbarkeit sowohl der colorimetrischen als auch der elektrometrischen Methode unter verschiedenen Umständen auf einer breiten kritisch-experimentellen Grundlage zu beurteilen.

Die elektrometrische Methode. Wird eine mit Platinschwarz bedeckte Platinplatte in eine wäßrige — saure, neutrale oder alkalische — Lösung getaucht und die Lösung mit Wasserstoff gesättigt, so findet man zwischen der Platinplatte und der Lösung eine Potentialdifferenz, deren Größe gesetzmäßig von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung abhängt.¹⁾ Es wird deshalb möglich sein, die Wasserstoffionenkonzentration der betreffenden Lösung durch Messung dieser Potentialdifferenz zu ermitteln. Das praktische Verfahren einer solchen Spannungsmessung, welche in jüngster Zeit vielfach Anwendung gefunden hat, wird hier den Hauptzügen nach als bekannt angesehen. Übrigens ist auf einen folgenden Abschnitt zu verweisen (Hauptabschnitt A, Elektrometrische Messungen S. 150), wo eine Reihe Einzelheiten des Verfahrens beschrieben werden, wie wir es bei unseren elektrometrischen Messungen anwenden (S. 156), wo ferner die bei elektrometrischen Messungen in Lösungen verschiedener Natur erreichbare Genauigkeit ausführlich besprochen wird (S. 156, S. 175 und S. 200) und wo schließlich mehrere Fälle beschrieben werden, in welchen die Anwendung dieses Verfahrens besondere Schwierigkeiten bietet (S. 190).

Die colorimetrische Methode. Der Umschlag des Indicators bei einer gewöhnlichen Titrierung bedeutet ja, wie bekannt, daß die Konzentration der Wasserstoffionen der vorliegenden Lösung eine gewisse Größe von der einen oder der anderen Seite her erreicht oder überschritten hat. Diese Größe, welche für die verschiedenen Indicatoren verschieden ist, gibt die Ionenkonzentration beim Umschlagspunkte des betreffenden Indicators an. Es ist daher einleuchtend, daß man von der

¹⁾ W. Nernst, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 129, 1889.
Biochemische Zeitschrift Band 21.

Farbennuance, welche eine Lösung beim Zusatz eines Indikators annimmt, imstande ist zu schließen, wie weit diese Lösung eine größere oder eine kleinere Wasserstoffionenkonzentration besitzt als diejenige, welche dem Umschlagspunkt des benutzten Indicators entspricht.

Dieses ganz einfache Prinzip bildet die Grundlage der Indicatormethode oder der colorimetrischen Methode. Die Grundlage ist seit langer Zeit bekannt, aber erst durch die schönen Untersuchungen von Friedenthal und Salm¹⁾ ist das zerstreute Material durchgearbeitet und an gewissen Stellen vervollständigt worden, so daß es ihnen möglich geworden ist, eine vollständige Reihe Indikatoren mit Umschlagspunkten bei den verschiedensten Ionenkonzentrationen zusammenzustellen. Friedenthal und Salm gebührt somit die Ehre, die erste colorimetrische Methode zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration ausgearbeitet zu haben; sie haben aber während ihrer Arbeit offenbar ganz andere Zwecke verfolgt, als diejenigen, welche für meine Untersuchungen maßgebend gewesen sind. Würde jemand das Verfahren von Friedenthal und Salm, besonders die von ihnen empfohlenen Indicatoren, direkt und ohne Kritik, auf solche Lösungen wie die der enzymatischen Spaltungen anwenden, so würde er, was mehrere Beispiele im folgenden lehren werden (siehe S. 217 und S. 218) in die größten Irrtümer verfallen können. Ein Indicator, der zufriedenstellende Resultate gibt, wenn die Lösung einfach zusammengesetzt ist, kann gegenüber Lösungen von Proteinstoffen oder deren Spaltungsprodukten ganz unbrauchbar sein. Es ist deshalb notwendig gewesen, die Brauchbarkeit jedes einzelnen Indicators solchen Lösungen gegenüber durchzuprüfen, und zwar sowohl, um die unbrauchbaren zu verwerfen, als auch um die Genauigkeit zu ermitteln, welche die brauchbaren zu erreichen gestatten.

Diese sehr umfassende und langwierige Arbeit — wir haben etwa 100 Indicatoren untersucht, von denen eine ganze Reihe

¹⁾ H. Friedenthal, Zeitschr. f. Elektrochemie 10, 113, 1904. — Ed. Salm, *ibid.* 10, 341, 1904; 12, 99, 1906. — Ed. Salm und H. Friedenthal, *ibid.* 13, 125, 1907. — Ed. Salm, Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 471 1906; 63, 83, 1908; vgl. auch W. Salessky, Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 204, 1904, und Bruno Fels, *ibid.* 10, 208, 1904.

hier im Laboratorium dargestellt worden sind — welche, abgesehen von einigen Unterbrechungen, uns mehrere Jahre hindurch beschäftigt hat, ist jetzt zu einem wenigstens vorläufigen Abschluß gebracht. Es sei hiermit nicht gesagt, daß nicht noch etwas zu wünschen übrig bleibt mit Rücksicht auf eine Vervollkommnung des Verfahrens z. B. durch Einfügung neuer Indicatoren an Stellen, wo solche erwünscht erscheinen, oder durch Vertausch der benutzten gegen neue von größerer Anwendbarkeit oder mit schärferem Umschlag (siehe z. B. S. 248). Daß unsere hier erwähnten Untersuchungen — ein paar vereinzelte Noten in einer früheren Abhandlung¹⁾ ausgenommen — nicht früher veröffentlicht worden sind, liegt darin, daß ich es im Interesse der Sache besser gefunden habe, die Methode nicht früher zu publizieren, als ihre Brauchbarkeit durch praktische Anwendung während längerer Zeit festgestellt wäre, und als hinlängliche Versuchsdaten ein Urteil über die damit zu erreichende Genauigkeit möglich machen würden.

Die Einzelheiten der Methode wird man in einem späteren Abschnitt (Hauptabschnitt B, Colorimetrische Messungen S. 201) ausführlich beschrieben finden, hier muß ich mich damit begnügen, das Verfahren in seinen Hauptzügen zu skizzieren.

Sobald es sich um mehr als eine rein qualitative Schätzung handelt, wird es unmöglich sein, die Stärke oder die Nuance einer Farbe zu beurteilen, wenn man nicht über Farben ähnlicher Stärke oder ähnlicher Nuance zum Vergleiche verfügt. Deshalb ist es unsere erste Aufgabe gewesen, Standardlösungen darzustellen, durch deren Vermischung in passenden Verhältnissen man sich nach Bedürfnis Vergleichsflüssigkeiten von jeder gewünschten, im voraus genau definierten Wasserstoffionenkonzentration verschaffen könnte. Diese Standardlösungen sollten leicht darzustellen und ferner von solcher Beschaffenheit sein, daß die dadurch bereiteten Vergleichsflüssigkeiten immer, praktisch genommen, dieselbe Wasserstoffionenkonzentration haben würden, selbst wenn die Standardlösungen Monate hindurch, z. B. in alkalisch reagierenden Glasflaschen, aufbewahrt gewesen wären. Wie ein folgender Abschnitt (siehe S. 167) dartut, ist es uns gelungen, diesen Teil der Aufgabe

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 52 und 97 bis 98, 1907.

völlig zu lösen. Eine Reihe einfacher Stoffe, deren Reinheit durch später beschriebene Proben nachzuweisen ist, und welche bei der Firma C. A. F. Kahlbaum, Berlin, in garantiert reinem Zustande zu haben sind, werden in ausgekochtem Wasser gelöst. Die Lösungen werden in Woulffschen Flaschen aufbewahrt, welche mit einer Bürette und den gewöhnlichen Einrichtungen versehen sind, um das Abziehen ohne Zutritt der Kohlensäure der Luft zu gestatten. Durch Abmessen und Vermischen dieser Lösungen in passenden Verhältnissen ist man imstande, Vergleichsflüssigkeiten irgendeiner gewünschten Wasserstoffionenkonzentration von etwa 10^{-1} bis etwa 10^{-13} darzustellen. Auf der Hauptkurventafel, welche in verkleinertem Maßstabe (siehe S. 176) dieser Abhandlung beigegeben ist, ist die Wasserstoffionenkonzentration irgendeiner dieser Mischungen bequem graphisch abzulesen.

Die nächste Frage, die Wahl passender Indicatoren, ist mit ungleich größeren Schwierigkeiten verknüpft gewesen. Die allermeisten Indicatoren verbinden sich mit den genuinen Proteinen, ja einige verbinden sich sogar mit den Spaltungsprodukten mehr oder weniger abgebauter Proteine, und wenn auch nicht immer ein sichtbarer Niederschlag dadurch entsteht, wird doch der Indicator gewöhnlich eine andere Farbe annehmen, und der Indicator ist somit unter solchen Umständen unbrauchbar. Es ist deshalb, wie schon früher erwähnt, notwendig gewesen, die Brauchbarkeit jedes einzelnen Indicators zu prüfen und die durch denselben erreichbare Genauigkeit gegenüber vielen verschiedenen Gemischen, besonders von Proteinen und deren Spaltungsprodukten in der Weise zu ermitteln, daß man die wirkliche Wasserstoffionenkonzentration des Gemisches durch eine elektrometrische Messung, die somit als Fundamentalmethode diente, feststellte. Es würde zu weit führen, hier den Einzelheiten der gewonnenen Resultate näher zu treten; ich muß mich damit begnügen, auf den Hauptabschnitt B zu verweisen, wo eine passende Auswahl von experimentellem Material zusammengestellt ist; hier mag ich nur bemerken, daß, während einzelne Indicatoren, wie p-Nitrophenol und Phenolphthalein, eine sehr ausgedehnte Anwendbarkeit besitzen, andere, z. B. das von den Physiologen so sehr beliebte Kongorot, dagegen ganz außer

stande sind, Dienste zu leisten, sobald selbst verhältnismäßig stark abgebaute Proteinstoffe anwesend sind.

Der letzte Abschnitt dieser Abhandlung (Hauptabschnitt C, die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen S. 255) enthält die Beschreibung einiger Versuchsergebnisse, welche mit verschiedenen Enzymen ausgeführt wurden und bei welchen die Wasserstoffionenkonzentration mittels der oben skizzierten colorimetrischen Methode gemessen wurde. Damit habe ich erstens bezweckt, die Einzelheiten der Methode bei ihrer Anwendung bei enzymatischen Studien darzulegen. Zweitens aber, und nicht am wenigsten, ist es meine Absicht gewesen, durch diese Beispiele, welche Teile größerer Reihen von Untersuchungen bilden, die große, bisher aber zu wenig beachtete Rolle, welche die Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen spielt, ans Licht zu ziehen. Endlich habe ich die Benutzung von „Puffern“ bei enzymatischen Studien befürworten wollen. Ich habe schon im vorausgehenden erwähnt, daß es schwierig sein kann, die Konzentration der Wasserstoffionen konstant zu halten bei solchen Enzymspaltungen, wo weder das Substrat noch seine Spaltungsprodukte säuren- oder basenbindend sind, was u. a. bei der Inversion des Rohrzuckers durch Invertin der Fall ist, und zwar, weil z. B. alkalische Bestandteile des Glases oder in anderen Fällen die Kohlensäure der Luft einen wesentlichen Einfluß auf die Ionenkonzentration ausüben können. In solchen Fällen ist es zweckentsprechend, die Konzentration der Wasserstoffionen festzulegen durch Zusatz eines Puffers, das heißt eines passenden Salzgemisches, welches übrigens die Geschwindigkeit der Enzymreaktion nicht wesentlich beeinflußt, dessen Bedeutung aber die ist, daß es die Wasserstoffionenkonzentration während des Versuches konstant hält, indem der Puffer von solcher Natur ist, daß die Zufuhr kleiner Mengen Säure oder Base nur unwesentliche Änderungen der Ionenkonzentration hervorrufen können. Die Natur selbst arbeitet mit solchen Puffern, gewöhnlich passenden Gemischen von Phosphaten, bisweilen auch von Carbonaten oder von Proteinen oder deren Abbauprodukten (siehe S. 187). Es ist leicht verständlich und wird übrigens aus den im letzten Abschnitte dieser Abhandlung auf-

geführten Beispielen deutlich hervorgehen, daß passende Gemische der früher erwähnten, bei der colorimetrischen Methode benutzten Standardlösungen, vorzügliche Puffer abgeben.

Es kann, wie schon früher angedeutet, wohl keinem Zweifel unterliegen, daß die Frage, welche den Gegenstand dieser Abhandlung bildet, die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen weit mehr als die eigentliche Enzymologie umfaßt; die Größe der Wasserstoffionenkonzentration ist zweifellos ein Faktor, mit dem bei allen biologischen Prozessen zu rechnen ist. Da es beim Studium eines solchen Prozesses oft von großer Bedeutung sein kann, die Versuchsbedingungen, und darunter auch die Ionenkonzentration, soweit als irgend möglich während der ganzen Versuchsdauer konstant zu halten, ist es nicht schwer, Fälle zu nennen, wo ein solcher Zusatz eines passenden Puffers von großem Nutzen sein kann. Ein naheliegendes Beispiel gibt die Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten für Mikroorganismen ab, welche oft durch ihr Wachstum die Ionenkonzentration des Substrates ändern, insofern letzteres nicht passende Mengen von säuren- oder basenbindenden Stoffen, d. h. von einem passenden Puffer, enthält.

Bei der Ausarbeitung der experimentellen Grundlage, auf welcher die vorliegende Abhandlung fußt, hat Herr S. Palitzsch mir vorzügliche Hilfe geleistet. Er hat mit großem Geschick und unermüdlichem Interesse den weitaus größten Teil der im folgenden erwähnten elektrometrischen Messungen ausgeführt, so daß es mir eine angenehme Pflicht ist, auch an dieser Stelle ihm meinen besten Dank abzustatten.

A. Elektrometrische Messungen.

a) Die Meßmethode.

Bei allen Messungen dieser Art haben wir immer dieselbe Versuchsanordnung benutzt: Das Element, dessen elektromotorische Kraft wir gemessen haben, bestand aus einer Quecksilber-Kalomelektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode in der zu untersuchenden Lösung als Elektrodenflüssigkeit. Das Diffusionspotential zwischen den

zwei Elektrodenflüssigkeiten wurde in der von N. Bjerrum¹⁾ angegebenen Weise eliminiert, indem zwischen die zwei Elektrodenflüssigkeiten eine 3,5 n- bzw. eine 1,75 n-Kaliumchloridlösung eingeschaltet und der Unterschied der dadurch gefundenen Potentiale als Extrapolationsaddend benutzt wurde.

R. Abegg und A. C. Cumming²⁾ schlagen vor, statt des Kaliumchlorids Ammoniumnitrat zu gebrauchen. Dieses Salz ist viel löslicher in Wasser als Kaliumchlorid, und die Ionen desselben wandern ebenfalls mit beinahe derselben Geschwindigkeit. Es unterliegt keinem Zweifel, daß man bei Untersuchung saurer Flüssigkeiten sich gewöhnlich mit Vorteil starker Ammoniumnitratlösungen bedienen kann, wodurch das Diffusionspotential ganz verschwindet und die jedenfalls etwas unsichere Extrapolation somit vermieden wird; das Ammoniumnitrat ist aber bei Untersuchung alkalischer Flüssigkeiten nicht zu gebrauchen, und da ich es für richtiger halte, immer dieselbe Versuchsanordnung anzuwenden, habe ich das Verfahren Bjerrums vorgezogen, welches sowohl sauren als auch alkalischen Flüssigkeiten gegenüber gute Dienste leistet.

Übrigens ist sowohl die Versuchsmethodik, als auch die theoretische Grundlage elektrometrischer Messungen mittels Wasserstoffelektroden so oft und so ausführlich beschrieben³⁾ worden, daß ich mich hier mit einigen Bemerkungen über die Einzelheiten des angewandten Verfahrens begnügen kann.

Das benutzte Wasserstoffelektrodengefäß war ganz derselben Art wie das in der unten zitierten Abhandlung N. Bjerrums abgebildete. Im großen und ganzen habe ich die Arbeitsweise des Herrn Dr. Bjerrum befolgt, und es ist mir eine

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 423, 1905.

²⁾ Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 17, 1907.

³⁾ Ich verweise hier auf eine Reihe Arbeiten — im wesentlichen physiologische Zwecke verfolgend — von Stefan Bugarszky und Leo Liebermann, R. Höber, Ladislaus v. Rhorer, P. Fraenckel, G. Farkas, Fr. Tangl, Alexander Szili, H. Benedict und mehreren, deren Hauptabhandlungen in Pflügers Archiv der letzten 10 Jahre zu finden sind. Auch die Abhandlung Carlo Foas in Archivio di Fisiologia 3, 369, 1906 verdient Erwähnung. Eine sehr ausführliche Beschreibung sowohl der Methode, als auch ihrer praktischen Ausführung findet man in H. J. Hamburger: Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften 2, 332, 1904. Auch bei R. Höber in seiner Physikalischen Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl. (1906) Kap. V findet man eine ausführliche Beschreibung. Endlich ist die Methode beschrieben von N. Bjerrum: Det Kgl. Danske Videnskabernes Selsk. Skr. [7] Naturv. og mathem. Afd. 4, 13, 1906.

angenehme Pflicht, ihm auch an dieser Stelle für die Liebenswürdigkeit zu danken, mit welcher er uns immer bei der Ausführung dieser Messungen erlaubt hat, von seinen reichen Erfahrungen Nutzen zu ziehen.

Sowohl die platinieren Platinelektroden als auch die Quecksilber-Kalomelektroden wurden dargestellt ganz wie in: Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen (1902) angegeben. Die Messungen wurden nach der Kompensationsmethode Pogendorffs ausgeführt. Als „Nullinstrument“ diente ein Lippmannscher Capillarelektrometer mit ovalem, ziemlich weitem Capillar. Der 1 m lange Meßdraht war in Millimeter geteilt und sorgfältig korrigiert durch eine Reihe von Messungen, welche am physikalischen Laboratorium des hiesigen Polytechnikums dank dem Wohlwollen des Herrn Professor K. Prytz von den Herren Thorkelsson und Hansen ausgeführt wurden. Ich bitte diese Herren, meinen herzlichsten Dank empfangen zu wollen.

Als Normalelement wurde angewandt ein Westonelement, welches bei 18° eine elektromotorische Kraft von 1,0191 Volt besaß.

Der verwendete Wasserstoff wurde dargestellt durch Elektrolyse einer 10%igen Kalilauge mittels Elektroden von Eisen. Er wurde zuerst zweimal mit einer alkalischen Pyrogalllösung gewaschen, nachher mit reinem Wasser und dann durch ein Zylinderglas mit reiner Baumwolle geleitet, ehe er in dem Elektrodengefäß anlangte, woselbst er mit etwas der zu untersuchenden Lösung gewaschen wurde (s. auch S. 158).

Die Messungen wurden ausgeführt in einem Zimmer, wo die Temperatur so nahe wie möglich konstant gleich 18° — Normaltemperatur für alle Versuche — gehalten wurde; nur äußerst selten hat eine Abweichung von $\frac{1}{2}^{\circ}$ stattgefunden. Die Barometerhöhe hat während der langen Zeit, über welche sich die Versuche erstreckt haben, sehr stark variiert (von 722 bis 794 mm) und die Messungen sind deshalb auf einen Druck von 760 mm feuchten Wasserstoffs reduziert worden.¹⁾

¹⁾ W. Ostwald, Lehrbuch der allgemeinen Chemie, 2. Aufl., 2. Teil 1, S. 895, 1893. — F. J. Smale, Zeitschr. f. physik. Chem. 14, 582, 1894.

b) Bestimmung von π_o .

Bezeichnet man mit π_p die elektromotorische Kraft eines Elementes bestehend aus einer Quecksilber-Kalomelelektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode in einer Elektrodenflüssigkeit, deren Wasserstoffionenkonzentration (mit einer 1 n-Lösung von Wasserstoffionen als Einheit) gleich $C_p (= 10^{-p})$ ist, und bezeichnet man mit π_q und $C_q (= 10^{-q})$ die entsprechenden Größen eines anderen, ähnlichen Elementes, dann wird man haben:

$$\pi_p - \pi_q = K \log \frac{C_q}{C_p}, \quad (\text{I})$$

wo K mit ausreichender Annäherung gleich

$$0,0577 + 0,0002 (t^\circ - 18^\circ)^1$$

gesetzt werden kann. Da alle in dieser Abhandlung besprochenen Messungen bei 18° ausgeführt sind, wird K hier gleich 0,0577 sein.

Ermittelt man durch Versuche das π_p einer Elektrodenflüssigkeit, z. B. einer passenden Salzsäure, deren Wasserstoffionenkonzentration C_p aus der Normalität (S_p) und dem Dissoziationsgrade (α) der Säure berechnet werden kann, und setzt man die Werte von π_p und C_p in obenstehende Gleichung (I) ein, so wird diese nur noch die Unbekannten π_q und C_q enthalten; es ist dann möglich, den Wert des π_q mittels irgend eines gegebenen Wertes von C_q zu berechnen und umgekehrt. Ist nun π_o die elektromotorische Kraft eines Elementes der hier behandelten Art, und ist die Elektrodenflüssigkeit der Wasserstoffelektrode desselben 1-normal in bezug auf die Wasserstoffionen ($C_o = 10^0 = 1$), so wird, wie man sogleich sieht:

$$\pi_o = \pi_p - 0,0577 \log \frac{C_o}{C_p} = \pi_p - 0,0577 \log \frac{1}{C_p}. \quad (\text{II})$$

In der folgenden Tabelle 1 ist eine bedeutende Anzahl von Messungen zusammengestellt, welche mit Salzsäure ver-

¹⁾ W. Nernst, Zeitschr. f. physik. Chem. 4, 129, 1889; Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 630, 1904.

schiedener Konzentrationen ausgeführt sind, um den Wert der Größe π_0 zu bestimmen.

Der erste Stab der Tabelle enthält die Zusammensetzung der Lösungen. Man sieht, daß während die Konzentration der Salzsäure stark variiert (von 0,1 n bis 0,005 n), ist die Konzentration der gesamten Chloride, einen einzelnen Versuch ausgenommen, unverändert dieselbe geblieben, und zwar gleich 0,1 n. Ich habe nun mit Arrhenius¹⁾ angenommen, daß die Salzsäure in allen diesen Versuchen den gleichen Dissoziationsgrad (α) besitzt. Unter Benutzung des von Kohlrausch²⁾ gegebenen Wertes des Äquivalent-Leitvermögens von 0,1 n-Salzsäure bei 18° (351), und unter der Voraussetzung, daß das Äquivalent-Leitvermögen bei unendlicher Verdünnung gleich 383 ist, wird α gleich 0,9165. In derselben Weise findet man in dem einzigen Versuche mit 0,01 n-Salzsäure ohne Zugabe von Natriumchlorid α gleich 0,9661.

Im zweiten Stab der Tabelle ist die Wasserstoffionenkonzentration (C) der Lösungen angegeben; man bekommt dieselbe einfacherweise durch Multiplikation des Normalitätsfaktors der Säure mit dem Dissoziationsgrad derselben. Der dritte Stab enthält die Werte des Produktes $0,0577 \log \frac{1}{C}$.

Im vierten und fünften Stab findet man die mit eingeschalteten 1,75 n-, bzw. 3,5 n-Kaliumchloridlösung gemessenen elektromotorischen Kräfte, und im sechsten Stab den mittels dieser beiden Zahlen extrapolierten Wert des π . Der letzte Stab endlich enthält den mittels der obenstehenden Gleichung (II) berechneten Wert des π_0 .

Tabelle 1. Die elektromotorische Kraft π_0

eines Elementes, welches aus einer Quecksilber-Kalomelektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und aus einer Platin-Wasserstoffelektrode in einer 1-normalen Lösung von Wasserstoffionen bei 18° besteht.

1) Zeitschr. f. physik. Chem. 31, 204, 1899.

2) F. Kohlrausch und L. Holborn, Das Leitvermögen der Elektrolyte, 1898, S. 160.

Die Versuchslösungen hatten		die Wasserstoffionen- konzentration C_H ($= S \times \alpha$)	$\frac{1}{0,0577 \times \log C_H}$	π (1,75 n-Kaliumchlorid- lösung)	π (3,5 n-Kaliumchlorid- lösung)	π (extrapoliert)	π_0 ($= \pi_{\text{extrap.}}$ $-\frac{1}{0,0577 \times \log C}$)
Salzsäure	Natrium- chlorid						
0,1 n		0,0916 _s	0,0599	0,4066	0,4020	0,3974	0,3375
0,05 n	+ 0,05 n	0,0458 _s	0,0773	0,4082	0,4029	0,3976	0,3377
0,02 n	+ 0,08 n	0,0183 _s	0,1002	0,4219	0,4184	0,4149	0,3376
0,01 n	+ 0,09 n	0,00916 _s	0,1176	0,4415	0,4401	0,4387	0,3385
0,005 n	+ 0,095 n	0,00458 _s	0,1350	0,4569	0,4560	0,4551	0,3375
0,01 n	(ohne)	0,00966 ₁	0,1163	0,4733	0,4733	0,4733	0,3383
				0,4599	0,4571	0,4543	0,3380
0,02 n	+ 0,08 n	0,0183 _s	0,1002	0,4402	0,4392	0,4382	0,3380
				0,4390	0,4382	0,4374	0,3372
0,01 n	+ 0,09 n	0,00916 _s	0,1176	0,4576	0,4568	0,4560	0,3384
				0,4569	0,4563	0,4557	0,3381
0,005 n	+ 0,095 n	0,00458 _s	0,1350	0,4733	0,4733	0,4733	0,3383
"	"	"	"	0,4726	0,4726	0,4726	0,3376
0,1 n		0,0916 _s	0,0599	0,4070	0,4022	0,3974	0,3375
"		"	"	0,4064	0,4015	0,3966	0,3367
"		"	"	0,4065	0,4017	0,3969	0,3370
"		"	"	0,4063	0,4015	0,3967	0,3368
0,06 n	+ 0,04 n	0,0549 _s	0,0727	0,4167	0,4134	0,4101	0,3374
				0,4170	0,4134	0,4098	0,3371
0,04 n	+ 0,06 n	0,0366 _s	0,0828	0,4252	0,4227	0,4202	0,3374
				0,4251	0,4225	0,4199	0,3371
0,02 n	+ 0,08 n	0,0183 _s	0,1002	0,4405	0,4390	0,4375	0,3373
				0,4404	0,4389	0,4374	0,3372
0,01 n	+ 0,09 n	0,00916 _s	0,1176	0,4566	0,4555	0,4544	0,3368
"	"	"	"	0,4560	0,4553	0,4546	0,3370
0,1 n		0,0916 _s	0,0599	0,4082	0,4032	0,3982	0,3383
0,06 n	+ 0,04 n	0,0549 _s	0,0727	0,4187	0,4148	0,4109	0,3382
				0,4187	0,4146	0,4105	0,3378
0,04 n	+ 0,06 n	0,0366 _s	0,0828	0,4267	0,4241	0,4215	0,3387
				0,4273	0,4243	0,4213	0,3385
0,02 n	+ 0,08 n	0,0183 _s	0,1002	0,4418	0,4402	0,4386	0,3384
"	"	"	"	0,4419	0,4403	0,4387	0,3385
"	"	"	"	0,4420	0,4406	0,4392	0,3390
"	"	"	"	0,4410	0,4393	0,4376	0,3374
						Mittel	0,3377

Die starken Querlinien der Tabelle bezeichnen, daß die zusammengestellten Messungen in vier Versuchsreihen zerfallen, aus denen der erste vor etwa drei Jahren von mir persönlich, die drei anderen zu verschiedenen Zeiten später von Herrn S. Palitzsch ausgeführt wurden.

Der Mittelwert des π_0 , mittels sämtlicher Messungen berechnet, ist 0,3377, und die Abweichung von diesem Mittelwert ist nur in einem Falle größer als 1 Millivolt, gewöhnlich aber viel kleiner. Die Abweichungen der Versuche sind somit von derselben Größe wie in den Messungen Bjerrums¹⁾; die von mir gefundene Durchschnittszahl (0,3377) liegt indessen um ein Millivolt höher als die von Bjerrum erhaltene (0,3367), stimmt aber übrigens mit dem Mittelwert (0,3376), welchen Bjerrum unter Benutzung der Planckschen Formel zur Elimination des Diffusionspotentials aus seinen Versuchen berechnet hat, vorzüglich überein.

Jedermann, der mit Wasserstoffelektroden gearbeitet hat, weiß, daß es, wenn sonst die Elektrode in Ordnung ist, keine Schwierigkeiten macht, bei Messungen solcher Lösungen wie diejenigen, von welchen hier die Rede ist, konstante Resultate zu erhalten, d. h. wiederholte Messungen ein und derselben Lösung weichen gewöhnlich nur um einige Zehntel Millivolt von einander ab. Es könnte demnach sonderbar erscheinen, beim ersten Blick auf die Tabelle hier einer etwas größeren Nichtübereinstimmung zu begegnen. Zur Erläuterung dieses Verhältnisses habe ich alle unsere Meßresultate mitgeteilt und werde nur noch einige Bemerkungen über die Umstände anknüpfen, welche die Genauigkeit des Resultates würden beeinflussen können.

Diese Bemerkungen gelten nicht nur für die eben besprochenen Messungen, sondern im großen und ganzen auch für die im folgenden beschriebenen Messungen einfach zusammengesetzter Lösungen, bei welchen man auf eine ähnliche Übereinstimmung wie bei der Bestimmung von π_0 rechnen kann und in der Tat auch bei wiederholten Messungen während der verflossenen Zeit eine solche erreicht hat (s. z. B. S. 175).

Die untersuchten Lösungen waren alle mit solcher Sorgfalt dargestellt, daß ihre Zusammensetzung gewiß niemals einen elektrometrisch meßbaren Unterschied aufgewiesen hat.

Es kamen gewöhnlich mehr als eine Kalomelektrode zur Anwendung, und jedenfalls wurde eine Elektrode verworfen

¹⁾ Siehe Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 432, 1905; Det Kgl. danske Vidensk. Selskabs Skr. [7] naturv. og math. Afd. 4, 15, 1906; Studier over basiske Kromiforbindelser 1908, S. 38.

wenn sie, was einzelne Male vorgekommen ist, Resultate gab, die mehr als ein paar Zehntel Millivolt von den mit Hilfe von anderen Kalomelektroden unter sonst gleichen Umständen ermittelten Werten abwichen. Auch die Kalomelektroden können demnach nicht Fehler von nennenswerter Bedeutung verursacht haben.

Etwas anders liegt die Sache in betreff der Wasserstoffelektroden. Es ist allgemein bekannt, daß eine Wasserstoffelektrode sich nicht immer wie die andere verhält, und zwar kann es, wenn auch nur selten, vorkommen, daß eine bisher tadellose Elektrode plötzlich falsche Resultate liefert. Man darf es daher nicht unterlassen, den Wasserstoffelektroden eine besondere Aufmerksamkeit zu widmen und in irgendeiner Weise zu kontrollieren, inwiefern sie normal sind oder nicht. Wir haben diese Kontrolle derart ausgeübt, daß wir von Zeit zu Zeit oder auf gegebene Veranlassung einzelne passende Gemische der später beschriebenen Lösungen, z. B. ein Gemisch von 8 Raumteilen Glykokollösung + 2 Raumteilen 0,1 n-Salzsäure maßen. Diese Gemische sind von einer Zusammensetzung gewählt, welche Gewähr dafür leistet, daß eine geringe Verunreinigung, z. B. alkalische Bestandteile des Glases, keinen Einfluß auf das Resultat der Messung ausüben kann, und welche die Extrapolation und somit auch den dadurch bedingten Fehler hinfällig macht. Auf diese Weise bekommt man eine gute Kontrolle, welche das Verwerfen abnorm wirkender Elektroden ermöglicht; es ist aber klar, daß hier immer die Möglichkeit eines nicht kleiner als $\frac{1}{2}$ Millivolt zu schätzenden Fehlers vorliegt.

Auch die angewandte Methode selbst, die Elimination des Diffusionspotentials durch Extrapolation, birgt selbstverständlich eine Fehlerquelle in sich, welche man nicht außer acht lassen darf. Andererseits zeigt die Tabelle nicht die geringste Andeutung einer Abhängigkeit zwischen der Größe der Extrapolation und dem Werte von π_0 . Der Wert der Extrapolation sinkt in solchen Lösungen, in welchen die Konzentration der Chlorionen als konstant betrachtet werden darf, einigermassen in demselben Verhältnis wie die Konzentration der Wasserstoffionen.

Zusammensetzung der Lösungen	0,1 n Salzsäure	0,06 n HCl + 0,04 n NaCl	0,05 n HCl + 0,05 n NaCl	0,04 n HCl + 0,06 n NaCl	0,02 n HCl + 0,08 n NaCl	0,01 n HCl + 0,09 n NaCl	0,005 n HCl + 0,095 n NaCl
Durchschnittliche Größe der Extrapolation in Millivolt	4,9	3,7	3,5	2,7	1,4	0,8	0,0

Man hat somit kaum Grund anzunehmen, daß das durchschnittliche Mittel für π_0 infolge der Extrapolation wesentlich nach der einen oder der anderen Richtung hin verschoben sei.

Zieht man dagegen in Betracht, wie die Extrapolationen der einzelnen Versuche von dem eben angeführten Mittel derselben abweichen, so wird man sehen, daß der Fehler, mit welchem die Einzelbestimmungen behaftet sein können, kaum kleiner als ein halbes Millivolt geschätzt werden kann.

Bei Messungen dieser Art ist eine möglichst vollständige Isolation aller benutzten Apparate von wesentlichem Belang. Wenn auch dies selbstverständlich sein mag, mache ich doch darauf aufmerksam, weil uns während dieser Arbeit eine Reihe von Schwierigkeiten begegnet sind, die offenbar von einer mangelhaften Isolation herrühren. Wir beseitigten dieselben erst, indem wir alle Teile des Meßapparates, dem Rate des Herrn Prof. Prytz folgend, auf Paraffinklötze stellten und den Wasserstoff auf dem Wege vom elektrolytischen Entwicklungsapparat nach dem Elektrodengefäß zwei Chlorcalciumröhren mit einem zwischenliegenden Glasrohre passieren ließen. Durch diese letztere Anordnung erreichten wir jedenfalls, daß kein Häutchen von Feuchtigkeit an der Innenseite des Rohres als Leiter der Elektrizität auftreten konnte. Früher konnten wir bisweilen einen größeren oder kleineren Ausschlag des Capillarelektrometers wahrnehmen, wenn wir den Kurzschluß unterbrachen oder wiederherstellten, selbst wenn das Elektrometer in einen Stromkreis nicht eingeschaltet war. Nachdem aber diese Vorsichtsmaßregeln zur Anwendung gekommen waren, haben wir niemals einen sicher wahrnehmbaren Ausschlag des Elektrometers konstatieren können, wenn der Stromkreis unterbrochen war. Ich

betone dieses Verhältnis deshalb so stark, weil es mir scheinen will, als ob die Ursache der Abweichungen zwischen den Versuchsergebnissen der Tabelle 1 in solchen zum großen Teil unkontrollierbaren Fehlerquellen zu suchen ist. Da die Mittelwerte von π_0 in den vier Versuchsreihen beziehungsweise 0,3379, 0,3379, 0,3371 und 0,3383 betragen, und da die beiden letzteren, voneinander am meisten abweichenden Reihen nach der Einführung der obengenannten Vorsichtsmaßregeln ausgeführt sind, scheint es mir darauf zu deuten, daß es wegen solcher unbekannter Fehlerquellen wie die obenerwähnten wahrscheinlich Zeitperioden geben kann, in welchen die Messungen durchgehends etwas zu klein ausfallen, und andere Zeiten, wo das Gegenteil der Fall ist, auch wenn man übrigens ganz unter denselben Bedingungen arbeitet. Dasselbe sonderbare Verhältnis haben wir nicht nur bei diesen zwei Versuchsreihen konstatiert, sondern wir haben bei unseren vielen und langen Reihen von Messungen des öfteren Gelegenheit gehabt, etwas ähnliches wahrnehmen zu können.

Zieht man dies alles in Erwägung und erinnert man sich, daß die hier erwähnten Messungen durch zwei Personen, zu weit verschiedenen Zeiten und mit ganz verschiedenen Lösungen und Elektroden vorgenommen wurden, so glaube ich kaum, daß man eine größere Übereinstimmung der in den einzelnen Versuchen gefundenen Werte des π_0 als die von uns gefundene erwarten darf. Andererseits meine ich, daß die große Anzahl der Versuche uns berechtigt, den Mittelwert des π_0 : 0,3377 als sehr nahe an dem richtigen zu betrachten, und diesen Wert haben wir deshalb immer im folgenden gebraucht.

Wird diese Zahl in die Gleichung (II) (S. 153) für π_0 eingesetzt, so nimmt dieselbe folgende Form an:

$$\pi_p = 0,3377 + 0,0577 \log \frac{1}{C_p} \quad (\text{III})$$

C_p , das ja den Normalitätsfaktor der Lösung auf Wasserstoffionen bezogen oder, mit anderen Worten, die Zahl der Grammatome Wasserstoffionen pro Liter bedeutet, ist in den gesamten in dieser Abhandlung behandelten Fällen kleiner als 1 und kann gleich 10^{-p} gesetzt werden. Für die Zahl p schlage ich den Namen „Wasserstoffionenexponent“ und die Schreibweise p_{H} vor. Unter dem Wasserstoffionen-

exponenten (p_{H}) einer Lösung wird dann der Brigg-sche Logarithmus des reziproken Wertes des auf Wasserstoffionen bezogenen Normalitätsfaktors der Lösung verstanden.¹⁾

Setzt man in die obenstehende Gleichung (III) statt C_p den Wert $10^{-p_{\text{H}}}$ ein, so hat man:

$$\pi = 0,3377 + 0,0577 \times p_{\text{H}} \quad (\text{IV})$$

und

$$p_{\text{H}} = \frac{\pi - 0,3377}{0,0577} \quad (\text{V})$$

Man ersieht, daß die beiden letzten Gleichungen sowohl die Berechnung von π aus der Wasserstoffionenkonzentration oder dem Wasserstoffionenexponenten als auch die umgekehrte Berechnung ermöglichen.

Man ersieht ebenfalls, daß das Verhältnis zwischen π und p_{H} sich graphisch durch eine Gerade ausdrücken läßt, die, wenn die Werte des π als Ordinaten und die des p_{H} als Abszissen eingetragen werden, die Ordinatenachse im Punkte 0,3377 schneidet und deren Richtung durch den Faktor 0,0577 völlig bestimmt ist. Eine Änderung des Wertes des π_0 (0,3377) wird somit diese Gerade im Koordinatensystem verschieben, nicht aber ihre Richtung verändern. Dagegen wird ihre Richtung verschieden sein für die verschiedenen Temperaturen, indem der Faktor 0,0577 nur bei 18° Gültigkeit hat (siehe S. 153).

Auf der Hauptkurventafel, welche diese Abhandlung in verkleinertem Maßstabe (siehe S. 176) begleitet, findet man diese Gerade leicht, sie ist als die Exponentiallinie bezeichnet. Ihre Bedeutung ist die, daß man mittels ihr ohne jegliche Rechnung, in rein graphischer Weise einen gemessenen Wert von π in den entsprechenden Wert von p_{H} , oder umgekehrt, umsetzen kann.

¹⁾ Weil nur selten von stärkeren Wasserstoffionenlösungen als 1-normalen die Rede sein wird, habe ich die obenstehende Definition des Wasserstoffionenexponenten gewählt. Derselbe wird danach gewöhnlich eine positive Zahl sein, und nur in den seltenen Ausnahmefällen, wo man es mit stärkeren Wasserstoffionenlösungen als der 1-normalen zu tun hat, wird er negativ sein.

c) Bestimmung der Dissoziationskonstante des Wassers.

Wenn es auch, wie schon in der Einleitung (siehe S. 133) erwähnt, am rationellsten ist, mit der Wasserstoffionenkonzentration zu rechnen, weil diese sich genauer als die der Hydroxylionen direkt ermitteln läßt, können doch viele Fälle vorkommen, wo man es der besseren Übersichtlichkeit wegen vorziehen würde, den Hydroxylionengehalt einer alkalischen Flüssigkeit anzugeben, und die genaue Kenntnis der Dissoziationskonstante des Wassers ist deshalb von großem Belang. Diese Größe ist, wie es am Ende dieses Abschnittes hervorgehen wird, bisher auf vielen verschiedenen Wegen mit ziemlich gut übereinstimmenden Resultaten bestimmt worden. Ich habe indes geglaubt, daß eine Neubestimmung auf elektrometrischem Wege und im Zusammenhange mit unseren übrigen elektrometrischen Messungen nicht ohne Interesse sein würde; ich werde daher in diesem Abschnitt einige Versuchsreihen erwähnen, die wir zu diesem Zweck ausgeführt haben.

Das Prinzip des Verfahrens war das ganz einfache, durch elektrometrische Messungen der oben erwähnten Art die Wasserstoffionenkonzentration passender verdünnten Lösungen von Natriumhydroxyd zu ermitteln, in dem der Dissoziationsgrad und demzufolge die Konzentration der Hydroxylionen der Lösungen im voraus bekannt waren. Das Produkt der gemessenen Konzentration der Wasserstoffionen und andererseits der berechneten der Hydroxylionen gab dann die gesuchte Größe.

Außerdem hat diese Arbeit uns Gelegenheit geboten, zu kontrollieren, inwiefern die Extrapolation, welche bei Messungen von Natriumhydroxydlösungen verschiedener Stärke natürlich eine verschiedene Größe besaß, Fehlerquellen von wesentlicher Bedeutung verbarg. Das folgende wird dartun, daß solches nicht der Fall war, und wir sehen darin einen Beweis dafür, daß die Extrapolationsmethode Bjerrums auch bei der Messung selbst recht stark alkalischer Flüssigkeiten zu empfehlen ist.

In der Tabelle II sind die gemachten Versuche zusammengestellt.

Tabelle II.

Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° ($C_{H^+} \times C_{OH^-}$).

Die Versuchslösungen hatten	die Hydroxylionenkonzentration (C_{OH^-}) = 10^{-q}	π (1,75 n-Kaliumchloridlösung)	π (3,5 n-Kaliumchloridlösung)	π (extrapoliert)	Die aus $\pi_{extrap.}$ berechn. Wasserstoffionenkonzentr. (C_{H^+}) = 10^{-p}	Die Dissoziationskonstante des Wassers $(C_{H^+} \times C_{OH^-}) = 10^{-p} \times 10^{-q}$	
						$p + q$	$k \times 10^{-14}$ k
0,1 n-Natriumhydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0849	1,0871	1,0893	13,026	14,101	0,79 ₃
"	"	1,0861	1,0880	1,0899	13,036	14,111	0,77 ₄
"	"	1,0873	1,0892	1,0911	13,057	14,132	0,73 ₈
"	"	1,0876	1,0895	1,0914	13,062	14,137	0,72 ₀
"	"	1,0852	1,0871	1,0890	13,021	14,096	0,80 ₂
"	"	1,0848	1,0867	1,0886	13,014	14,089	0,81 ₅
0,05 n-NaOH-Lsg. + 0,05 n-NaCl-Lsg.	1,376	1,0700	1,0713	1,0726	12,736	14,112	0,77 ₃
"	"	1,0699	1,0708	1,0717	12,721	14,097	0,80 ₀
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0480	1,0488	1,0496	12,338	14,113	0,77 ₁
"	"	1,0478	1,0487	1,0496	12,338	14,113	0,77 ₁
0,01 n-NaOH-Lsg. + 0,09 n-NaCl-Lsg.	2,075	1,0315	1,0315	1,0315	12,024	14,099	0,79 ₆
"	"	1,0316	1,0316	1,0316	12,026	14,101	0,79 ₃
0,1 n-Natriumhydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0890	1,0910	1,0930	13,090	14,165	0,68 ₄
"	"	1,0885	1,0902	1,0919	13,071	14,146	0,71 ₅
"	"	1,0884	1,0900	1,0916	13,066	14,141	0,72 ₃
0,06 n-NaOH-Lsg. + 0,04 n-NaCl-Lsg.	1,297	1,0767	1,0780	1,0793	12,853	14,150	0,70 ₈
"	"	1,0772	1,0786	1,0800	12,865	14,162	0,68 ₉
0,04 n-NaOH-Lsg. + 0,06 n-NaCl-Lsg.	1,474	1,0673	1,0683	1,0693	12,679	14,153	0,70 ₃
"	"	1,0675	1,0685	1,0695	12,683	14,157	0,69 ₇
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0509	1,0514	1,0519	12,378	14,153	0,70 ₃
"	"	1,0508	1,0514	1,0520	12,379	14,154	0,70 ₁
0,01 n-NaOH-Lsg. + 0,09 n-NaCl-Lsg.	2,075	1,0345	1,0345	1,0345	12,076	14,151	0,70 ₆
"	"	1,0343	1,0343	1,0343	12,073	14,148	0,71 ₁

Tabelle II (Fortsetzung).

Die Versuchslösungen hatten		π (1,75 n- Kalium- chlorid- lösung)	π (3,5 n- Kalium- chlorid- lösung)	π (extra- poliert)	Die aus $\pi_{\text{extrap.}}$ berechn. Wasser- stoff- ionen- konzentr. (C_{H^+} $= 10^{-p}$)	Die Dissoziations- konstante des Wassers ($C_{H^+} \times C_{OH^-}$ $= 10^{-p} \times 10^{-q}$)	
die Zusammensetzung	die Hydroxy- ionen- konzentration (C_{OH^-} $= 10^{-q}$)					$p + q$	$k \times 10^{-14}$ k
0,1 n-Natrium- hydroxyd-Lsg. . .	1,075	1,0887	1,0902	1,0917	13,067	14,142	0,72 ₁
"	"	1,0880	1,0901	1,0922	13,076	14,151	0,70 ₆
"	"	1,0873	1,0889	1,0905	13,047	14,122	0,75 ₅
"	"	1,0872	1,0895	1,0918	13,069	14,144	0,71 ₈
"	"	1,0877	1,0902	1,0927	13,085	14,160	0,69 ₂
0,06 n-NaOH-Lsg. + 0,04 n-NaCl-Lsg.	1,297	1,0759	1,0771	1,0783	12,835	14,132	0,73 ₈
"	"	1,0763	1,0778	1,0793	12,853	14,150	0,70 ₈
"	"	1,0762	1,0778	1,0794	12,854	14,151	0,70 ₆
0,04 n-NaOH-Lsg. + 0,06 n-NaCl-Lsg.	1,474	1,0668	1,0679	1,0690	12,674	14,148	0,71 ₁
"	"	1,0673	1,0683	1,0693	12,679	14,153	0,70 ₃
0,02 n-NaOH-Lsg. + 0,08 n-NaCl-Lsg.	1,775	1,0507	1,0512	1,0517	12,374	14,149	0,71 ₀
"	"	1,0507	1,0514	1,0521	12,381	14,156	0,69 ₈

Der Mittelwert (siehe S. 164) der Dissoziationskonstante des Wassers: $0,72 \times 10^{-14} = 10^{-14,14}$.

$$C_{H^+} = C_{OH^-} \text{ (für reines Wasser und neutrale Lösungen)} \\ = 0,85 \times 10^{-7} = 10^{-7,07}.$$

Im ersten Stabe der Tafel ist aufgeführt die Zusammensetzung der untersuchten Lösungen. Man ersieht, daß, während die Konzentration des Natriumhydroxyds stark wechselt (von 0,1 n bis 0,01 n), der Gesamtgehalt an Natrium in allen Versuchen dagegen unverändert derselbe (0,1 n) ist, und deshalb habe ich mit demselben Dissoziationsgrade (α) des Natriumhydroxyds (vgl. S. 154) bei allen Versuchen gerechnet. Wenn die Zahl Kohlrauschs¹⁾ für das Äquivalent-Leitvermögen einer 0,1 n-Natriumhydroxydlösung bei 18° (183) benutzt wird, und das Äquivalent-Leitvermögen bei unendlicher Verdünnung gleich 217,6 (der Summe der Wanderungsgeschwindigkeiten der zwei Ionen $43,6 + 174$)²⁾ gesetzt wird, so wird α gleich 0,841.

¹⁾ F. Kohlrausch und L. Holborn, Das Leitvermögen der Elektrolyte, 1898, S. 160.

²⁾ Kohlrausch, Lehrbuch der praktischen Physik, 1901, S. 596.

Im zweiten Stab ist die aus dem Dissoziationsgrade und dem Natriumhydroxydgehalt berechnete Konzentration der Hydroxylionen angegeben.

Im dritten und vierten Stabe findet man die bei Einschaltung einer 1,75 n- bzw. 3,5 n-Kaliumchloridlösung gemessenen elektromotorischen Kräfte, im fünften Stabe den mittelst dieser beiden Werte extrapolierten Wert des π , und im sechsten den aus dem extrapolierten π nach Gleichung (V) (S. 160) berechneten Wert des Wasserstoffionenexponenten.

In den zwei letzten Stäben endlich ist aufgeführt das Produkt der Konzentrationen der Wasserstoff- und der Hydroxylionen der gemessenen Lösung, ausgedrückt teils als eine negative gebrochene Potenz von 10, teils als ein mit 10^{-14} multiplizierter Faktor.

Die Querlinien der Tabelle bezeichnen, daß die Messungen in drei verschiedene Versuchsreihen fallen, welche zu verschiedenen Zeiten mit verschiedenem Material und mit jedesmal frisch bereiteten Lösungen ausgeführt wurden. Eine Durchsicht des letzten Stabes der Tafel zeigt deutlich, daß der Wert der Dissoziationskonstante des Wassers durchgehend höher in der ersten als in den zwei letzten Versuchsreihen gefunden ist; das Mittel für k in den drei Reihen ist $0,78_0$, $0,70_4$ und $0,71_4$. Die erste Reihe ist vor, die zwei letzten nach der Einführung der oben (siehe S. 158) erwähnten Vorsichtsmaßregeln ausgeführt, weshalb es passend erscheint, den zuletzt gefundenen Werten das größte Vertrauen zu bemessen. Da indes die Messungen der ersten Reihe sonst nichts zu wünschen übrig ließen, habe ich es für das richtigste gehalten, alle drei Versuchsreihen mitzuteilen, bei der Berechnung des endlichen Mittels aber den Werten der zweiten und dritten Reihe ein doppeltes Gewicht den Werten der ersten Reihe gegenüber beizulegen. Der in dieser Weise berechnete Mittelwert der Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° wird

$$0,72 \times 10^{-14} = 10^{-14,14}.$$

Reines Wasser und wirklich neutrale Lösungen haben somit die folgende Konzentration der Wasserstoff- und Hydroxylionen:

$$0,85 \times 10^{-7} = 10^{-7,07}.$$

Eine Durchsicht des Zahlenmaterials der Tabelle zeigt, daß die Abweichungen zwischen den Messungsergebnissen gleich zusammengesetzter Lösungen hier größer als in der Tabelle I sind, und zwar daß die Abweichung von den Mittelwerten einzelne Male sogar mehr als 2 Millivolt beträgt. Ich hebe dies ausdrücklich hervor, weil eine so große Abweichung sonst bei Messungen normalen Verlaufes außerordentlich selten ist.

Es geht aus der Tabelle deutlich hervor, daß die Extrapolation keine Fehlerquelle von wesentlicher Bedeutung in sich birgt; denn die Größe der Konstante k im letzten Stabe variiert gar nicht mit der Extrapolation. Was letztere im übrigen betrifft, ist sie, verglichen mit der Extrapolation der Messungen von Salzsäure entsprechender Konzentration, wie es zu erwarten war, bedeutend kleiner und von entgegengesetztem Vorzeichen. Wie aus der untenstehenden Zusammenstellung erhellt, nimmt die Extrapolation mit der Konzentration des Natriumhydroxydes gleichmäßig ab:

Zusammensetzung der Lösungen	0,1 n-NaOH	0,06 n-NaOH 0,04 n-NaCl	0,05 n-NaOH 0,05 n-NaCl	0,04 n-NaOH 0,06 n-NaCl	0,02 n-NaOH 0,08 n-NaCl	0,01 n-NaOH 0,09 n-NaCl
Durchschnittliche Größe der Extrapolation in Millivolt	1,9	1,4	1,1	1,0	0,7	0,0

Zum Vergleich mit dem oben gefundenen Werte der Dissoziationskonstante des Wassers bei 18°

$$C_{H^+} \times C_{OH^-} = (0,85 \times 10^{-7})^2 = 0,72 \times 10^{-14}$$

sollen unten in aller Kürze die wichtigsten der bisher ausgeführten Bestimmungen dieser Größe angeführt werden. Der Temperaturkoeffizient ist so groß, daß die bei 25° gefundenen Werte von C_{H^+} und C_{OH^-} bei der Umrechnung auf 18° um etwa 24% verkleinert werden.¹⁾

1. Mittels Gaskettenmessung zwischen Normalsäure und Normalbase (nähere Daten fehlen) hat W. Ostwald²⁾ einen Spannungsunterschied von ca. 0,7 Volt gefunden. Daraus berechnet W. Nernst³⁾, daß die Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° gleich $0,64 \times 10^{-14}$ ist.

2. Auf Grund der Beobachtungen Shields über die Hydrolyse des Natriumacetats findet S. Arrhenius⁴⁾ die Dissoziationskonstante des

¹⁾ Kohlrausch und Heydweiller, Wied. Annal. 53, 234, 1894.

²⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 11, 521, 1893.

³⁾ Ibid. 14, 155, 1894.

⁴⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 11, 827, 1893.

Wassers bei 25° gleich $(1,125 \times 10^{-7})^2 = \text{ca. } 1,27 \times 10^{-14}$. Durch Umrechnung auf 18° bekommt man $\text{ca. } 0,73 \times 10^{-14}$.

3. J. J. A. Wijs¹⁾ hat auf Veranlassung van't Hoff's die Verseifungsgeschwindigkeit des Methylacetats in reinem Wasser untersucht und daraus die Dissoziationskonstante des Wassers bei 24,8° gleich $(1,2 \times 10^{-7})^2 = 1,44 \times 10^{-14}$ berechnet. Bei Umrechnung auf 18° bekommt man ungefähr $0,83 \times 10^{-14}$.

4. F. Kohlrausch und A. Heydweiller²⁾ haben das Leitvermögen von Wasser, welches mit der möglichsten Sorgfalt gereinigt war, bestimmt, und dabei gefunden, daß 1 l Wasser

bei 18°: $0,8 \times 10^{-7}$ g Wasserstoffionen

und bei 25°: $1,05 \times 10^{-7}$ g „

enthält.

Das gibt die folgende Dissoziationskonstante des Wassers:

$$\left(\frac{0,8}{1,008} \times 10^{-7} \right)^2 = 0,63 \times 10^{-14} \text{ bei } 18^\circ$$

und

$$\left(\frac{1,05}{1,008} \times 10^{-7} \right)^2 = 1,09 \times 10^{-14} \text{ bei } 25^\circ.$$

5. R. Löwenherz³⁾ hat die elektromotorische Kraft solcher Elemente gemessen, welche aus zwei Wasserstoffelektroden, die eine in Salzsäure (0,1 n oder 0,01 n) die andere in Natriumhydroxydlösung (0,1 n oder 0,01 n) getaucht, bestanden; eine äquimolekulare Lithiumchloridlösung diente als Zwischenflüssigkeit, und die Diffusionspotentiale wurden nach Planck berechnet. Das Prinzip der Methode war also ganz dasselbe wie das unseren Versuchen zugrunde liegende. Aus acht Versuchen (die größte Abweichung vom Mittelwerte des π war 3,1 Millivolt) mit 0,1 n-Salzsäure und 0,1 n-Natriumhydroxydlösung berechnete Löwenherz den Wert $1,187 \times 10^{-7}$ und aus 6 Versuchen (die größte Abweichung vom Mittelwerte des π war 3,8 Millivolt) mit 0,01 n-Salzsäure und 0,01 n-Natriumhydroxydlösung berechnete er den Wert $1,075 \times 10^{-7}$. Das Mittel dieser zwei Werte ergibt, daß die Dissoziationskonstante des Wassers bei 25° bis 26° $(1,13 \times 10^{-7})^2 = 1,28 \times 10^{-14}$; oder auf 18° umgerechnet $\text{ca. } 0,74 \times 10^{-14}$.

Aus den späteren Jahren kann angeführt werden:

6. C. W. Kanolt⁴⁾ hat die Hydrolyse des Ammoniumsalzes von Diketotetrahydrothiazol untersucht und daraus die Dissoziationskonstante des Wassers zu $0,82 \times 10^{-14}$ bei 25° und $0,46 \times 10^{-14}$ bei 18° berechnet.

¹⁾ Ibid. 11, 492, 1893; 12, 514, 1893. — Vgl. auch J. J. van Laar, ibid. 13, 736, 1893.

²⁾ Wied. Annal. 53, 209, 1894.

³⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 20, 283, 1896.

⁴⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. 29, 1402, 1907.

7. H. Lundén¹⁾ hat die Hydrolyse des Trimethylpyridinsalzes von p-Nitrophenol gemessen und dadurch die Dissoziationskonstante des Wassers bei 15° zu $0,46 \times 10^{-14}$ und bei 25° zu $1,05 \times 10^{-14}$ berechnet; rechnet man auf 18° um, hat man ca. $0,61 \times 10^{-14}$.

d) Die Standardlösungen und ihre elektrometrische Messung; die Hauptkurventafel.

Die schon in der Einleitung erwähnten (siehe S. 147), bei der colorimetrischen Messung benutzten Standardlösungen sind die folgenden:

1. Eine 0,1 n-Salzsäure (wenn kein Mißverständnis möglich ist, wird diese Lösung bisweilen ganz einfach mit HCl bezeichnet).

2. Eine 0,1 n-Natriumhydroxylösung (die Lösung wird NaOH bezeichnet).

3. Eine natriumchloridhaltige 0,1 n-Glykokollösung, welche in einem Liter 7,505 g Glykokoll und 5,85 g reines Natriumchlorid enthält (die Lösung wird Glykokoll genannt).²⁾

4. Eine $\frac{1}{15}$ mol. Lösung primären Kaliumphosphats, welche somit 9,078 g KH_2PO_4 in einem Liter enthält (die Lösung wird prim. Phosphat genannt).

5. Eine $\frac{1}{15}$ mol. Lösung sekundären Natriumphosphats, welche 11,876 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ im Liter enthält (die Lösung wird sek. Phosphat genannt).

6. Eine 0,1 mol. Lösung sekundären Natriumcitrats; dieselbe wird durch Lösung von 21,008 g krystallisierter Citronensäure in 200 ccm n-Natronlösung und Verdünnung mittels Wassers bis zu einem Liter hergestellt (die Lösung wird Citrat genannt).

7. Eine alkalische Borsäurelösung, hergestellt durch Lösung von 0,2 g mol. Borsäure (12,404 g) in 100 ccm n-Natronlösung und Verdünnung mit Wasser auf einen Liter (die Lösung wird Borat genannt).

Bei der Darstellung dieser Lösungen wurde immer destilliertes Wasser benutzt, welches durch Auskochen in verzinsten

¹⁾ Meddelanden från Vetenskapsakademiens Nobelinstitut 1, Nr. 8, 1907.

²⁾ Des geringen Leitvermögens des Glykokolls wegen ist es mit Rücksicht auf die elektrometrische Messung notwendig gewesen, Natriumchlorid zu der Glykokollösung zu fügen.

Kupferflaschen von Kohlensäure befreit worden war, und die verwendeten Meßkolben wie auch die Woulffschen Flaschen, welche zur Aufbewahrung dienten (siehe S. 148), waren im voraus mit kohlensäurefreier Luft gefüllt worden. Gewöhnlich wurden 4 l Lösung, in zwei 2-Liter-Meßkolben, auf einmal dargestellt. Nach Füllung bis zur Marke und gutem Schütteln wurde der Meßkolben durch einen zweifach durchbohrten Kautschukstöpsel verschlossen, welcher mit zwei Glasröhren, einer ganz kurzen und einer bis zum Boden des Meßkolbens reichenden, versehen war; diese einfache Einrichtung ermöglichte die Überführung der Flüssigkeit aus dem Meßkolben in die Woulffsche Flasche, ohne daß sie mit der äußeren, kohlensäurehaltigen Luft in Berührung kam.

Die 0,1 n-Salzsäure wurde aus einer mittels Natriumoxalats als Urtitersubstanz sehr sorgfältig eingestellten 1,0 normaler Salzsäure durch Verdünnung hergestellt.

Die 0,1 n-Natriumhydroxydlösung stellten wir durch Verdünnung einer carbonatfreien,¹⁾ auf die obengenannte 1,0 n-Salzsäure gestellten, 1,0 n-Natronlösung dar.

Für Darstellung der übrigen Standardlösungen war es notwendig, Stoffe zu benutzen, welche — außerdem, daß sie auch sonst für diesen Gebrauch geeignet sind — teils einigermaßen leicht von hinreichender Reinheit dargestellt werden könnten, teils längere Zeit hindurch sich unverändert aufbewahren ließen, und deren Reinheit endlich durch einfache Proben zu kontrollieren wäre. Unten findet man diese Reinheitsproben in

¹⁾ 250 g Natriumhydroxyd aus Natrium (C. A. F. Kahlbaum) wurden mit 300 ccm Wasser in einem engen, mit Glasstöpsel versehenen Zylinder behandelt. In einer Lauge dieser Stärke ist das Natriumcarbonat unlöslich und sinkt im Laufe von ein paar Tagen zu Boden, so daß eine so gut wie vollständig carbonatfreie Hydroxydlösung abgezogen werden kann. (Eine entnommene Probe, welche mit kohlensäurefreiem Wasser verdünnt, mit Phenolphthalein versetzt und durch Zutropfen von Salzsäure ganz schwach rosa gefärbt worden ist, darf durch Zugabe selbst ziemlich großer Mengen einer ausgekochten neutral reagierenden Bariumchloridlösung nicht entfärbt werden). In der Annahme, daß dieses einfache und vorzügliche Verfahren zur Darstellung carbonatfreier Natronlauge nicht allgemein bekannt ist, habe ich es hier mitgeteilt. Zum ersten Male habe ich es bei Herrn Laboratoriumsvorsteher R. A. Petersen, Struers Laboratorium, Kopenhagen, gesehen.

bezug auf jeden einzelnen der angewandten Körper, welche alle bei der Firma C. A. F. Kahlbaum zu Berlin in garantiert reinem Zustand, das heißt den hier gestellten Anforderungen der Reinheit genügend, zu beziehen sind.

Glykokoll. a) 2 g Glykokoll sollen mit 20 ccm Wasser eine klare Lösung geben, welche entweder völlig sulfat- und chlorfrei ist oder höchstens eine äußerst geringe Spur von Chlorid enthält.

b) 5 g Glykokoll dürfen nach Glühen höchstens 2 mg Asche hinterlassen.

c) Bei der Destillation von 5 g Glykokoll und 300 ccm 5%iger Natronlauge in einem gewöhnlichen Destillationsapparat nach Kjeldahl darf die überdestillierte Ammoniakmenge nicht mehr als 1 mg Stickstoff entsprechen.

d) Der Stickstoffgehalt des Glykokolls, nach Kjeldahl bestimmt, soll $18,67 \pm 0,1\%$ betragen.

Verschiedene Kahlbaumsche Glykokollpräparate genügten den gesamten hier gestellten Anforderungen.

Primäres Kaliumphosphat. a) Das Salz muß in Wasser klar löslich sein und darf weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) Getrocknet 24 Stunden bei 100° und 20 bis 30 mm Druck darf das Salz höchstens $0,1\%$ verlieren (ca. 5 g werden für die Probe benutzt), und bei nachfolgendem vorsichtigem Glühen im Platintiegel soll der Gewichtsverlust $13,23 \pm 0,1\%$ betragen.

Beispiel: Ein Präparat von Kahlbaum verlor beim Trocknen $0,01\%$ und beim nachfolgenden Glühen $13,26\%$.

Sekundäres Natriumphosphat. $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$. Ein sekundäres Natriumphosphat mit sehr nahe dieser Zusammensetzung beschreibt Julius Thomsen¹⁾; dieser Forscher hat gezeigt, daß die Aufnahme der ersten zwei Moleküle Krystallwasser durch das wasserfreie Salz eine größere Wärmetönung (pro. Molekül Krystallwasser berechnet) hervorruft als die der folgenden zehn. Später ist das Salz, soweit mir bekannt, nicht erwähnt worden. Es hat den Vorteil vor den gewöhnlichen, bekannten Salzen mit zwölf oder mit sieben mol. Wasser, daß es bei gewöhnlicher Temperatur und gewöhnlichem

¹⁾ Thermochem. Untersuch. 3, 120, 1883.

Feuchtigkeitsgrade der Zimmerluft luftbeständig ist. Es wird ganz einfach durch Verwitterung reinen gewöhnlichen Natriumphosphats unter passenden Umständen dargestellt, welche sich leicht beschaffen lassen, und man erhält es dann als ein weißes, körniges Pulver, welches beim Stehenlassen nicht zusammenbackt wie das gewöhnliche Natriumphosphat. Da das Salz sich jahrelang unverändert aufbewahren läßt, eignet es sich vorzüglich als Standardstoff, da es nur notwendig ist, ein für allemal den Wassergehalt in einer größeren Portion zu bestimmen. Die unten aufgeführten Bestimmungen zeigen übrigens, daß der Wassergehalt immer so nahe an dem von der Theorie verlangten liegt, daß man bei allen gewöhnlichen Analysen mit der theoretisch berechneten Zusammensetzung des Salzes rechnen darf.

Für die Darstellung des Salzes verfährt man am besten folgendermaßen: Man breitet reines, gewöhnliches, sekundäres Natriumphosphat in einigermaßen dünnen Schichten auf Papier aus und läßt es, soweit als möglich gegen den Staub geschützt, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (18° bis 22°) liegen. Bei täglichem gutem Umrühren, und wenn man die nach einigen Tagen etwa gebildeten Klumpen zerstößt, ist die Verwitterung nach 8 bis 14 Tagen beendet; die Geschwindigkeit der Verwitterung ist aber natürlich von der Temperatur und dem Feuchtigkeitsgrade der Luft abhängig.

In feuchten Sommern, wo der Feuchtigkeitsgrad der Luft sehr hoch ist, geht die Verwitterung nur sehr langsam von statten, und man gelangt häufig nur zu dem Salz mit $7\text{ H}_2\text{O}$. Sobald aber der Feuchtigkeitsgrad bis 50% oder darunter sinkt, was ja so gut wie immer der Fall ist im Zimmer während der kalten Jahreszeit, schreitet die Verwitterung weiter bis zum Salz mit $2\text{ H}_2\text{O}$, und sowohl die Firma C. A. F. Kahlbaum als auch ich, die wir mehrere Male größere Mengen des Salzes darstellten, haben ohne nennenswerte Schwierigkeiten eben den richtigen Wassergehalt bekommen. Zu bemerken ist jedoch, daß die Verwitterung weiter vorschreiten kann, wenn das Salz erwärmt oder die Luft künstlich ausgetrocknet wird; ein solches zu stark abgewässertes Salz unter normale Verhältnisse (18° bis 22° C und 30 bis 50% Feuchtigkeit) gebracht, wird aber sehr bald die Zusammensetzung $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{ H}_2\text{O}$ annehmen.

Wenn die Verwitterung scheinbar vorbei ist, wägt man auf einem Stück Papier 100 g des Salzes (auf 0,1 g genau) und kontrolliert durch erneuertes Wägen nach ein paar

Tagen (Liegenlassen an der Luft), ob die Verwitterung zu Ende ist oder nicht. Verfügt man über eine Probe im voraus analysierten Salzes von der Zusammensetzung $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dann ist es zu empfehlen, auch 100 g von diesem Salz abzuwägen und es als Kontrolle neben die andere Portion zu legen; ändert nun diese Kontrollprobe ihr Gewicht nicht, dann kann man sicher sein, daß die vorhandenen Temperatur- und Feuchtigkeits-Verhältnisse passend sind.

Die Anforderungen hinsichtlich der Reinheit sind die folgenden:

a) Das Salz muß klar löslich in Wasser sein und weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) Beim Trocknen 24 Stunden bei 100° und 20 bis 30 mm Druck und nachfolgendem vorsichtigem Glühen, bis das Gewicht konstant wird, soll der gesamte Gewichtsverlust $25,28 \pm 0,1\%$ betragen. Für die Probe werden etwa 5 g angewandt.

Eine Reihe von mir zu verschiedenen Zeiten dargestellter Präparate haben einen Gewichtsverlust von bzw. $25,24 - 25,23 - 25,30 - 25,23\%$ erlitten; ein von C. A. F. Kahlbaum empfangenes Salz verlor $25,36\%$.

Citronensäure. a) Die Säure muß klar löslich in Wasser sein und darf weder Schwefelsäure noch Salzsäure enthalten. Der Aschengehalt, in 5 g der Säure bestimmt, darf nur ganz geringfügig sein.

In zwei zu verschiedenen Zeiten von C. A. F. Kahlbaum empfangenen Präparaten fand ich nur etwa $0,01\%$ Asche.

b) Der Gehalt von Krystallwasser wird durch Trocknen bei 70° und 20 bis 30 mm Druck bis zum konstanten Gewicht ermittelt; die Säure muß hierbei völlig farblos bleiben, und der Gewichtsverlust $8,58 \pm 0,1\%$ betragen. Bei 100° verliert die Citronensäure alles Wasser im Laufe der ersten 24 Stunden, durch weiteres Trocknen verliert sie aber noch mehr und wird bräunlich.

Eine Citronensäure von Kahlbaum verlor bei 70° während acht Tagen in allem $8,58\%$ und während der folgenden 5 Tage nichts; eine andere Probe hat $8,59\%$ verloren.

c) Die Acidität der Citronensäure wird durch Titrierung mittels $0,2$ n-Bariumhydroxydlösung und Phenolphthalein als Indicator festgestellt. Es wird zur ausgesprochenen roten Farbe und nicht zu einem schwachen rötlichen Tone titriert. Trotz

des Niederschlages von Bariumcitrat ist der Umschlag sehr scharf. Bei Anwendung von Natriumhydroxyd bleibt die Flüssigkeit klar; der Umschlag ist aber weniger scharf. Werden ungefähr 30 ccm 0,2 n-Bariumhydroxydlösung verbraucht, so darf die verbrauchte Menge nicht mehr als höchstens 0,1 ccm von der berechneten abweichen.

Als Beispiele mögen einige mit Kahlbaumschen Präparaten ausgeführte Titrierungen dienen: Verbraucht 29,35 oder 29,40 ccm 0,2 n-Bar. (berechnet 29,36 ccm); verbraucht 36,43 ccm 0,2 n-Bar. (berechnet 36,48 ccm).

Borsäure. 20 g Borsäure werden mit 100 ccm ausgekochtem Wasser in einem kleinen Kolben auf stark siedendem Wasserbade erwärmt, wodurch alles in Lösung gehen muß. Nach Abkühlung der Lösung, zuletzt in Eiswasser, wodurch der größte Teil der Borsäure wieder ausfällt, wird filtriert und abgesaugt und das Filtrat auf etwaige Verunreinigungen untersucht.

a) Das Filtrat darf weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) In kleine Reagensgläser werden 3×5 ccm des Filtrats abpipettiert und zu jeder Probe 2 Tr. Methylorangelösung (0,1 g Methylorange in 1 l Wasser) gegeben, wodurch alle drei Proben orange gefärbt werden müssen. Fügt man jetzt 1 Tr. 0,1 n-Natriumhydroxydlösung zu der einen Probe, so muß sie dadurch gelb werden, während 1 Tr. 0,1 n-Salzsäure zu einer anderen der Proben gefügt, dieselbe ausgesprochen rot macht.

Diese einfache Probe fußt auf der Tatsache, daß eine wässrige Lösung reiner Borsäure mit Methylorange versetzt die Umschlagsfarbe des Indicators (vgl. S. 186) annimmt, aber alkalische bzw. saure Reaktion zeigt, wenn kleine Mengen von Basen oder von fremden Säuren zugegen sind. Kontrollversuche mittels reiner, mehrere Male umkrystallisierter Borsäure haben gezeigt, daß diese Probe es ermöglicht, einen Gehalt an Basen oder an fremden, einigermaßen starken Säuren zu entdecken, wenn derselbe in 1 g Borsäure wenigstens einen Tropfen einer 0,1 n-Lösung entspricht.

c) 20 ccm vom Filtrate, 4 g Borsäure entsprechend, werden in einem gewogenen Platintiegel eingedampft, mit etwa 10 g käuflicher Flußsäure und etwa 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt, dann wieder eingedampft, gegläht und gewogen.

Das Gewicht des Glührückstandes, nötigenfalls für den Gehalt der Flußsäure an nicht flüchtigen Stoffen korrigiert, darf nicht mehr als 2 mg betragen.

Zwei verschiedene Kahlbaumsche Präparate von Borsäure entsprachen den gesamten hier gestellten Anforderungen.

Die Wasserstoffionenkonzentration verschiedener passender Gemische der erwähnten Standardlösungen wurde in der oben beschriebenen Weise (siehe S. 150) elektrometrisch bestimmt; die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen III bis VI zusammengestellt. Der erste Stab der Tabelle enthält die Zusammensetzung von 10 ccm des Gemisches; der zweite Stab enthält die gefundene elektromotorische Kraft π eines Elementes, welches aus einer Quecksilber-Kalomelektrode in 0,1 n-Kaliumchloridlösung und einer Platin-Wasserstoffelektrode mit der vorliegenden Lösung als Elektrodenflüssigkeit besteht; der dritte Stab endlich gibt den Wert des Wasserstoffionenexponenten (p_{H}), welcher mittels Gleichung V (S. 160) aus der gemessenen elektromotorischen Kraft π berechnet ist.

Die angeführten Werte des π sind Durchschnittszahlen von mindestens zwei, gewöhnlich aber von mehreren Bestimmungen, welche zu verschiedenen Zeiten mittels verschiedener Elektroden und mit verschiedenen Lösungen ausgeführt sind. Um einen Begriff von der Übereinstimmung zu geben, werde ich hier die Meßergebnisse einzelner, der Kontrolle der Elektroden wegen besonders häufig gemessener Lösungen mitteilen:

Mit der Mischung „8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl“ wurden die folgenden Werte von π gefunden:

0,5064 — 0,5065 — 0,5049 — 0,5067 — 0,5063 — 0,5063 — 0,5064
— 0,5067 — 0,5057 — 0,5067 — 0,5070 — 0,5068 — 0,5064 —
0,5064 — 0,5065 — 0,5066 — 0,5052 — 0,5052;

Mittel 0,5063.

Das Gemisch „3 ccm sek. Phosphat + 7 ccm prim. Phosphat“ gab die folgenden Werte:

0,7111 — 0,7111 — 0,7112 — 0,7104 — 0,7106;

Mittel: 0,7109.

Tabelle III. Glykokollmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H}	Zusammensetzung der Mischung	Die elek- tromoto- rische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H}
10 ccm Glykokoll	ca. 0,6900	ca. 6,106	10 ccm Glykokoll	ca. 0,6900	ca. 6,106
9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm HCl	0,5922	4,411	9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm NaOH	0,7883	7,809
9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm HCl	0,5680	3,991	9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH	0,8130	8,237
9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm HCl	0,5500	3,679	9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm NaOH	0,8325	8,575
9 ccm Glykokoll + 1 ccm HCl	0,5305	3,341	9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH	0,8529	8,929
8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl	0,5063	2,922	8 ccm Glykokoll + 2 ccm NaOH	0,8780	9,364
7 ccm Glykokoll + 3 ccm HCl	0,4881	2,607	7 ccm Glykokoll + 3 ccm NaOH	0,8982	9,714
6 ccm Glykokoll + 4 ccm HCl	0,4692	2,279	6 ccm Glykokoll + 4 ccm NaOH	0,9228	10,140
5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl	0,4492	1,932	5,5 ccm Glykokoll + 4,5 ccm NaOH	0,9425	10,482
4 ccm Glykokoll + 6 ccm HCl	0,4326	1,645	5,1 ccm Glykokoll + 4,9 ccm NaOH	0,9763	11,067
3 ccm Glykokoll + 7 ccm HCl	0,4196	1,419	5 ccm Glykokoll + 5 ccm NaOH	0,9900	11,305
2 ccm Glykokoll + 8 ccm HCl	0,4099	1,251	4,9 ccm Glykokoll + 5,1 ccm NaOH	1,0050	11,565
1 ccm Glykokoll + 9 ccm HCl	0,4038	1,146	4,5 ccm Glykokoll + 5,5 ccm NaOH	1,0356	12,095
10 ccm HCl	0,3976	1,038	4 ccm Glykokoll + 6 ccm NaOH	1,0531	12,399
			3 ccm Glykokoll + 7 ccm NaOH	1,0690	12,674
			2 ccm Glykokoll + 8 ccm NaOH	1,0795	12,856
			1 ccm Glykokoll + 9 ccm NaOH	1,0862	12,972
			10 ccm NaOH	1,0916	13,066

Für „9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH“ haben wir gefunden:
 0,8525 — 0,8526 — 0,8529 — 0,8525 — 0,8532 — 0,8529 — 0,8531
 — 0,8528 — 0,8531 — 0,8533;

Mittel: 0,8529.

Wie man ersieht, ist die Abweichung vom Mittelwerte nur
 in ganz vereinzelt Fällen größer als 1 Millivolt, gewöhnlich

Tabelle IV. Phosphatmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Dielektrische Kraft π	Der Wasserstoffionenelement p_H	Zusammensetzung der Mischung	Dielektrische Kraft π	Der Wasserstoffionenelement p_H
10 ccm sek. Phosphat	0,8167	8,302	4 ccm sek. Phosphat + 6 ccm prim. Phosphat	0,7210	6,643
9,9 ccm sek. Phosphat + 0,1 ccm prim. Phosphat	0,8092	8,171	3 ccm sek. Phosphat + 7 ccm prim. Phosphat	0,7109	6,468
9,75 ccm sek. Phosphat + 0,25 ccm prim. Phosphat	0,8015	8,038	2 ccm sek. Phosphat + 8 ccm prim. Phosphat	0,6977	6,239
9,5 ccm sek. Phosphat + 0,5 ccm prim. Phosphat	0,7914	7,863	1 ccm sek. Phosphat + 9 ccm prim. Phosphat	0,6787	5,910
9 ccm sek. Phosphat + 1 ccm prim. Phosphat	0,7790	7,648	0,5 ccm sek. Phosphat + 9,5 ccm prim. Phosphat	0,6608	5,600
8 ccm sek. Phosphat + 2 ccm prim. Phosphat	0,7616	7,347	0,25 ccm sek. Phosphat + 9,75 ccm prim. Phosphat	0,6438	5,305
7 ccm sek. Phosphat + 3 ccm prim. Phosphat	0,7500	7,146	0,1 ccm sek. Phosphat + 9,9 ccm prim. Phosphat	0,6248	4,976
6 ccm sek. Phosphat + 4 ccm prim. Phosphat	0,7402	6,976	10 ccm prim. Phosphat	0,5990	4,529
5 ccm sek. Phosphat + 5 ccm prim. Phosphat	0,7308	6,813			

aber weit kleiner. Ich glaube deshalb, daß man hier auf eine ähnliche Genauigkeit, wie bei der Bestimmung von π_0 (siehe S. 156) rechnen darf, und zwar, daß die in den Tabellen angeführten Werte des π weniger als 1 Millivolt von den wahren Werten dieser Größe abweichen (siehe auch unten S. 178).

Nur vollständigkeithalber soll es bemerkt werden, daß bei den Messungen der sauersten und der alkalischsten dieser Gemische eine Extrapolation notwendig war, deren Größe und Vorzeichen ganz dem entsprachen, was in betreff dieser Frage oben angeführt ist (siehe S. 157 und S. 165). Natürlich sind es die extrapolierten Werte des π , welche in diesen Fällen in den Tabellen gegeben sind.

Tabelle V. Citratenmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p_{H^+}	Zusammensetzung der Mischung	Dielek- tromo- torische Kraft π	Der Wasser- stoff- ionenex- ponent p
10 ccm Citr. . .	0,6238	4,958	10 ccm Citr. . .	0,6238	4,958
9,5 ccm Citr. + 0,5 ccm HCl . .	0,6197	4,887	9,5 ccm Citr. + 0,5 ccm NaOH	0,6275	5,023
9 ccm Citr. + 1 ccm HCl . .	0,6164	4,830	9 ccm Citr. + 1 ccm NaOH .	0,6325	5,109
8 ccm Citr. + 2 ccm HCl . .	0,6061	4,652	8 ccm Citr. + 2 ccm NaOH .	0,6443	5,314
7 ccm Citr. + 3 ccm HCl . .	0,5943	4,447	7 ccm Citr. + 3 ccm NaOH .	0,6590	5,568
6 ccm Citr. + 4 ccm HCl . .	0,5776	4,158	6 ccm Citr. + 4 ccm NaOH .	0,6821	5,969
5,5 ccm Citr. + 4,5 ccm HCl . .	0,5655	3,948	5,5 ccm Citr. + 4,5 ccm NaOH	0,7030	6,331
5 ccm Citr. + 5 ccm HCl . .	0,5507	3,692	5,25 ccm Citr. + 4,75 ccm NaOH	0,7230	6,678
4,75 ccm Citr. + 5,25 ccm HCl .	0,5413	3,529	5 ccm Citr. + 5 ccm NaOH .	0,8600— 0,9200	9,052— 10,092
4,5 ccm Citr. + 5,5 ccm HCl . .	0,5318	3,364	4,5 ccm Citr. + 5,5 ccm NaOH	1,0343	12,073
4 ccm Citr. + 6 ccm HCl . .	0,5092	2,972	4 ccm Citr. + 6 ccm NaOH .	1,0511	12,364
3,33 ccm Citr. + 6,67 ccm HCl .	0,4689	2,274			
3 ccm Citr. + 7 ccm HCl . .	0,4488	1,925			
2 ccm Citr. + 8 ccm HCl . .	0,4195	1,418			
1 ccm Citr. + 9 ccm HCl . .	0,4054	1,173			
10 ccm HCl . .	0,3976	1,038			

Die Hauptkurventafel. Auf der Hauptkurventafel, welche die Originalabhandlung in den „Compt. rend. des travaux du Laboratoire de Carlsberg“ begleitet und in verkleinertem Maßstabe, als Illustration, hier beigelegt ist,¹⁾ sind die eben erwähnten, tabellarisch zusammengestellten Messungen graphisch

¹⁾ Eine deutsche Ausgabe der Hauptkurventafel in Originalgröße zum Gebrauche im Laboratorium ist im Verlage von Julius Springer, Berlin, Monbijoupl. 3, erschienen und von dort oder durch jede Buchhandlung zum Preise von M. 1,60 (inkl. Rolle) zu beziehen. Bei direkter Zusendung erhöht sich dieser Betrag im Inland um 20 Pfg., im Ausland um 35 Pfg. (Bestellkarte liegt diesem Hefte bei.)

dargestellt. Die Kurven, die auf der Tafel „Glykokoll + Salzsäure“, „Citrat + Natriumhydroxyd“ usw. bezeichnet sind, haben die in den letzten Stäben der Tabellen III bis VI angeführten Werte des Wasserstoffionenexponenten ($p_{H'}$) als Abszissen, und den Gehalt der Mischungen (ausgedrückt durch die Zahl von Kubikzentimetern in 10 ccm der Mischung) an bzw. Glykokoll, Citrat, Borat und sek. Phosphat als Ordinaten.

Tabelle VI. Boratenmischungen.

Zusammensetzung der Mischung	Dielektrische Kraft π	Der Wasserstoffionenexponent $p_{H'}$	Zusammensetzung der Mischung	Dielektrische Kraft π	Der Wasserstoffionenexponent $p_{H'}$
10 ccm Borat . .	0,8709	9,241	10 ccm Borat . .	0,8709	9,241
9,5 ccm Borat + 0,5 ccm HCl . .	0,8667	9,168	9 ccm Borat + 1 ccm NaOH . .	0,8778	9,360
9 ccm Borat + 1 ccm HCl . .	0,8620	9,087	8 ccm Borat + 2 ccm NaOH . .	0,8860	9,503
8,5 ccm Borat + 1,5 ccm HCl . .	0,8574	9,007	7 ccm Borat + 3 ccm NaOH . .	0,8960	9,676
8 ccm Borat + 2 ccm HCl . .	0,8517	8,908	6 ccm Borat + 4 ccm NaOH . .	0,9132	9,974
7,5 ccm Borat + 2,5 ccm HCl . .	0,8454	8,799	5 ccm Borat + 5 ccm NaOH . .	0,9768	11,076
7 ccm Borat + 3 ccm HCl . .	0,8384	8,678	4 ccm Borat + 6 ccm NaOH . .	1,0518	12,376
6,5 ccm Borat + 3,5 ccm HCl . .	0,8285	8,506			
6 ccm Borat + 4 ccm HCl . .	0,8160	8,289			
5,75 ccm Borat + 4,25 ccm HCl . .	0,8072	8,137			
5,5 ccm Borat + 4,5 ccm HCl . .	0,7958	7,939			
5,25 ccm Borat + 4,75 ccm HCl . .	0,7774	7,621			
5 ccm Borat + 5 ccm HCl . .	0,7155	6,548			
4,75 ccm Borat + 5,25 ccm HCl . .	0,4745	2,371			

Auf der Hauptkurventafel findet man des weiteren die Exponentiallynie, welche, wie schon erwähnt (siehe S. 160) es möglich macht, den einem gemessenen π entsprechenden Wert von $p_{H'}$, und umgekehrt, graphisch abzuleiten.

Diese Kurven ermöglichen es somit, sowohl den Wert des π als auch den des p_H für jedes, auch in den Tabellen III bis VI nicht angeführte Gemisch der hier erwähnten Standardlösungen abzulesen. Wünscht man z. B. den Wert dieser beiden Größen für das Gemisch „8,6 ccm Glykokoll + 1,4 ccm HCl“ kennen zu lernen, so sucht man die Ordinate 8,6 auf und folgt der horizontalen Linie bis zum Durchschnittspunkt mit der Kurve „Glykokoll + Salzsäure“; die Abszisse dieses Punktes ist 3,15, welche Zahl deshalb das p_H der Mischung angibt. Folgt man der horizontalen Linie vom Durchschnittspunkte zwischen der Exponentiallinie und der Ordinate der Abszisse 3,15, findet man zu äußerst links auf der Kurventafel den Wert 0,519, welcher somit das π des Gemisches angibt.

Die Kurven sind natürlich so konstruiert, daß sie auf dem in den Tabellen III bis VI gegebenen Zahlenmaterial fußen; das schließt aber nicht aus, daß die Zeichnung der Kurven Ausgleichungen bewirkt haben kann. Eine Zusammenstellung der Werte des p_H , welche sich aus der Kurventafel graphisch ableiten lassen, und derjenigen, welche bei der elektrometrischen Messung direkt gefunden worden sind, war deswegen von Interesse. Es hat sich dann gezeigt, daß die Abweichungen zwischen den graphisch abgeleiteten und den direkt gemessenen Werten von p_H immer kleiner als eine Einheit in der zweiten Dezimale des Wasserstoffionenexponenten sind, was der größten Genauigkeit entspricht, die man beim Gebrauch der Kurventafel erwarten darf, in deren Abszissenmaßstab $\frac{1}{2}$ mm eben einer Einheit der zweiten Dezimale des p_H entspricht. Da weiter diese Maximalabweichung des Wasserstoffionenexponenten, 0,01, einer Abweichung der elektromotorischen Kraft von etwas weniger als 0,6 Millivolt entspricht, finde ich in der hier erwähnten schönen Übereinstimmung zwischen den aus den kontinuierlich, ohne Knickpunkte verlaufenden Kurven graphisch abgeleiteten und andererseits den direkt ermittelten Werten des p_H eine weitere Stütze der oben geäußerten Annahme (siehe S. 175), daß die in den Tabellen III bis VI angeführten Werte des π nicht mit Fehlern größer als höchstens 1 Millivolt behaftet sind.

Wenn man die Kurventafel betrachtet, sieht man sogleich, daß die Kurven an gewissen Stellen punktiert sind, wodurch bezeichnet wird, daß sie an diesen Stellen ganz oder zum

Teil unbrauchbar sind. erinnert man sich, daß eine Änderung der Ordinate der Kurve eine Änderung in der Zusammensetzung der Mischung bedeutet, während eine Änderung der Abszisse einer Änderung des Wasserstoffionenexponenten derselben entspricht, dann versteht man leicht, daß die Teile der Kurven welche beinahe oder ganz parallel der Abszissenachse verlaufen für den hier in Rede stehenden Zweck unbrauchbar sind, und zwar weil eine ganz kleine Änderung der Zusammensetzung eine große, bisweilen eine außerordentlich große Änderung der Ionenkonzentration bedingt. Handelt es sich um Verwendung von Standardlösungen, welche längere Zeit z. B. in Woulffschen Flaschen gestanden haben, so muß man auf dieses Verhältnis Bezug nehmen, und ich werde demselben deshalb durch ein paar Beispiele etwas näher treten.

Während der elektrometrischen Messung eines 8 Tage alten Glykokolls („10 ccm Glykokoll“ ohne Zusatz weder von HCl noch von NaOH) wurde π ziemlich schnell konstant und variierte dann im Laufe von $2\frac{1}{2}$ Stunden nur von 0,6842 bis 0,6850. Dasselbe Glykokoll wurde wieder gemessen, als es $\frac{1}{2}$ Jahr alt war; dann war es aber unmöglich, konstante Werte für π zu erhalten; es stieg im Laufe von 3 Stunden von 0,7415 auf 0,7515.

Ein anderes Glykokoll, 10 Tage alt, gab schnell konstante Werte für π , welche dann während 5 Stunden nur von 0,7002 bis 0,7006 variierten. 7 Monate alt wurde dieselbe Glykokolllösung nochmals gemessen mit dem Ergebnis, daß π im Laufe von 3 Stunden von 0,7706 bis 0,7795 stieg.

Man ersieht somit, daß die Standardlösung „Glykokoll“ als solche gar nicht als Vergleichsflüssigkeit bei Wasserstoffionenmessungen zu verwenden ist, und zwar weil kleine Mengen alkalischer oder saurer Verunreinigungen die Konzentration ihrer Wasserstoffionen ganz bedeutend verschieben können.¹⁾ Daß es sich in der Tat nur um ganz kleine Mengen dieser Verunreinigungen handelt, geht daraus hervor, daß Mischungen von Glykokoll und HCl bzw. NaOH immer denselben Wert für π geben, ungeachtet des Alters des Glykokolls; nur bei denjenigen

¹⁾ Daß stark verdünnte Lösungen von Säuren oder Basen aus demselben Grunde sich als Vergleichsflüssigkeiten nur schlecht eignen, ist leicht verständlich.

Glykokollmischungen, welche sehr arm an HCl, bzw. an NaOH sind; macht sich der Einfluß des Alters der Glykokollösung noch fühlbar.

So haben wir z. B. gefunden, daß die Mischung „9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm HCl“ $\pi = 0,5922$ gab, wenn die Glykokollösung frisch war; war dieselbe aber $\frac{1}{2}$ Jahr alt, bekamen wir $\pi = 0,6036$.

Ebenso gab die Mischung „9,9 ccm Glykokoll + 0,1 ccm NaOH“ $\pi = 0,7882$ (frisches Glykokoll) und $\pi = 0,7922$ ($\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll).

Das Versetzen des Glykokolls mit nur ganz wenig Säure oder Base vermindert somit die Unsicherheit in wesentlichem Grade; aber nur erst diejenigen Mischungen, welche etwas reicher an HCl oder NaOH sind, dürfen als vom Alter des Glykokolls unbeeinflusst angesehen werden.

Die Mischung „9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH“.

Frisches Glykokoll $\pi = 0,8130$

7 Tage altes Glykokoll $\pi = 0,8129$

$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll $\pi = 0,8140$

$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll $\pi = 0,8166$

Die Mischung „9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm NaOH“.

Frisches Glykokoll $\pi = 0,8325$

$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll $\pi = 0,8334$

$\frac{1}{2}$ Jahr altes Glykokoll $\pi = 0,8331$

Die Mischung „9 ccm Glykokoll + 1 ccm NaOH“.

Die oben (siehe S. 174) angeführten 10 Messungen sind mit Glykokollösungen von weit verschiedenem Alter (1 Tag bis $\frac{1}{2}$ Jahr) ausgeführt; π variierte nur von 0,8525 bis 0,8533.

Übereinstimmend mit dem hier Gesagten ist die Kurve, welche Mischungen von Glykokoll und NaOH betrifft, von „10 ccm Glykokoll“ bis „9,75 ccm Glykokoll + 0,25 ccm NaOH“ punktiert, und aus analogen Gründen ist die Kurve der Mischungen von Glykokoll und HCl von „10 ccm Glykokoll“ bis „9,5 ccm Glykokoll + 0,5 ccm HCl“ ebenfalls punktiert.

Von der Phosphatenkurve ist der Zweig, dessen Endpunkt dem unvermischten primären Phosphat entspricht, voll ausgezogen bis zum Ende, weil diese Standardlösung nicht vom Alter beeinflußt zu sein scheint; der andere Zweig dagegen ist von „9,75 ccm sek. Phosphat + 0,25 ccm prim. Phosphat“ bis „10 ccm sek. Phosphat“ punktiert.

Die Zusammensetzung der Phosphatmischungen	Das gefundene π wenn die Standardlösungen	
	frisch her- gestellt sind	9 Monate alt sind
Unvermishtes primäres Phosphat	0,5990	0,5985
Unvermishtes sekundäres Phosphat . . .	0,8167	0,8087
9,9 ccm sek. Phosphat + 0,1 ccm prim. Phosphat	0,8092	0,8035
9,75 ccm sek. Phosphat + 0,25 ccm prim. Phosphat	0,8015	0,7970
9,5 ccm sek. Phosphat + 0,5 ccm prim. Phosphat	0,7914	0,7895
9,0 ccm sek. Phosphat + 1,0 ccm prim. Phosphat	0,7790	0,7778
8,0 ccm sek. Phosphat + 2,0 ccm prim. Phosphat	0,7616	0,7613

Infolge von Messungsergebnissen ganz gleicher Art sind Teile der Citrat- und der Boratkurve punktiert.

Es erhellt aus den oben angeführten Beispielen, daß die Benutzung der punktierten Teile der Kurven die Gefahr eines Fehlers von mehreren Millivolt mit sich bringt, besonders dann, wenn die Standardlösungen nicht frisch hergestellt sind. Unter gewöhnlichen Verhältnissen dagegen, und speziell für alle colorimetrischen Messungen glaube ich die Benutzung der gesamten voll aufgezogenen Kurventeile in ihrem ganzen Umfange empfehlen zu können. In besonderen Fällen jedoch, wo man einer Genauigkeit von etwa 1 Millivolt sicher sein will, ist der Gebrauch derjenigen voll aufgezogenen Kurventeile, welche den punktierten am nächsten liegen, kaum anzuraten, es sei denn, daß die Standardlösungen einigermaßen frisch zubereitet sind.¹⁾

¹⁾ Bei einem enzymatischen Prozesse, der Pepsinverdauung, kann von größeren Wasserstoffionenkonzentrationen die Rede sein als derjenigen, welche dem Wasserstoffionengehalt einer 0,1 n-Salzsäure entspricht. In solchen Fällen haben wir als Vergleichsflüssigkeiten eine Reihe von verdünnten Salzsäuren benutzt, welche mittels der früher erwähnten genau titrierten n-Salzsäure dargestellt waren, und deren Wasserstoffionenkonzentration gemäß den Zahlen Kohlrauschs für das Äquivalent-Leitvermögen bei 18° berechnet wurde. Die untenstehende Tabelle gibt den

Auch die Form der Kurven gibt zu einigen Bemerkungen Anlaß.

Erstens ersieht man, daß alle drei Kurven natriumhydroxydhaltiger Mischungen (Glykokoll + NaOH, Citrat + NaOH und Borat + NaOH) bei der Ordinate 5, somit 5 ccm NaOH + 5 ccm bzw. Glykokoll, Citrat oder Borat entsprechend, einen Wendepunkt haben. Unter der Ordinate 5 (d. h. den Gemischen, welche an NaOH am reichsten sind, entsprechend) laufen die drei Kurven nebeneinander her und fallen bald beinahe zusammen, weshalb auch nur die Kurve der Glykokollmischungen gezeichnet ist. Die Ursache dieses Zusammenfallens der Kurven ist die, daß die Hydroxylionenkonzentration dieser Lösungen so groß ist, daß die Hydrolyse der Natriumsalze von Glykokoll, Citronensäure und Borsäure so gut wie vollständig zurückgedrängt ist. Diese Natriumsalze, welche pro Molekül Glykokoll, Citronensäure und Borsäure bzw. 1, 3 und 1 Atom Natrium enthalten, wirken daher unter diesen Umständen wie andere normale, nicht hydrolysierte Natriumsalze, z. B. Natriumchlorid, und die Hydroxylionenkonzentration der Lösung wird sozusagen ausschließlich durch den Überschuß an Natriumhydroxyd bestimmt, wobei jedoch die durch das anwesende Natrium Salz bedingte unvollständige elektrolytische Dissoziation desselben natürlich nicht außer acht zu lassen ist.

Um diese Sachlage weiter zu erhellen, habe ich in Tab. VII die für eine Reihe Mischungen von 0,1 n-Natriumchloridlösung (oder ein anderes nicht hydrolytisch spaltbares Natrium Salz) und 0,1 n-Natriumhydroxyd berechneten Konzentrationen der Hydroxyl- und Wasserstoffionen zusammengestellt, indem der Dissoziationsgrad stets gleich 0,841 gerechnet ist (siehe S. 163). Die zwei letzten Stäbe der Tabelle enthalten teils den für diese

so berechneten Wasserstoffionenexponenten dieser verdünnten Salzsäuren an; das für Säuren zwischenliegender Konzentrationen geltende p_{H^+} wird durch graphische Interpolation gefunden:

0,1 n-Salzsäure,	$p_{H^+} = 1,03_8$	0,6 n-Salzsäure,	$p_{H^+} = 0,29_7$
0,15 n „	„ = 0,86 ₉	0,7 n „	„ = 0,23 ₇
0,2 n „	„ = 0,74 ₈	0,8 n „	„ = 0,18 ₇
0,3 n „	„ = 0,57 ₈	0,9 n „	„ = 0,14 ₂
0,4 n „	„ = 0,46 ₀	1,0 n „	„ = 0,10 ₅
0,5 n „	„ = 0,37 ₀		

Lösungen berechneten Wasserstoffionenexponenten (p'), teils den für die entsprechenden Glykokollmischungen experimentell gefundenen Wasserstoffionenexponenten (p).

Tabelle VII.

Vergleiche zwischen Mischungen von Natriumsalz des Glykokolls und Lösungen von Natriumhydroxyd einerseits und von Natriumchlorid und Natriumhydroxydlösungen andererseits.

Zusammensetzung der Glykokollmischungen	Für die entsprechende Mischung von 0,1 n-Natriumchloridlösung und 0,1 n-Natriumhydroxydlösung wird berechnet			Der experi- mentell gefundene Wasser- stoffionen- exponent der Gly- kokolllö- sung ²⁾ p
	Die Alkalinität Alk.	Hydroxyl- ionenkon- zentr. ¹⁾ Alk. $\times 0,841$ $= 10 - q$ q	Wasser- stoffionen- exponent $14,14_0 - q$ $= p'$	
0 ccm Glykokoll + 10 ccm NaOH . .	0,1 n	1,07 ₅	13,06 ₅	13,06 ₅
1 ccm Glykokoll + 9 ccm NaOH (= Gly- kokollnatrium + 8 ccm NaOH) . . .	0,08 n	1,17 ₂	12,96 ₅	12,97 ₂
2 ccm Glykokoll + 8 ccm NaOH (= Gly- kokollnatrium + 6 ccm NaOH) . . .	0,06 n	1,29 ₇	12,84 ₃	12,85 ₅
3 ccm Glykokoll + 7 ccm NaOH (= Gly- kokollnatrium + 4 ccm NaOH) . . .	0,04 n	1,47 ₄	12,66 ₅	12,67 ₄
4 ccm Glykokoll + 6 ccm NaOH (= Gly- kokollnatrium + 2 ccm NaOH) . . .	0,02 n	1,77 ₅	12,36 ₅	12,39 ₅
4,5 ccm Glykokoll + 5,5 ccm NaOH (= Glykokollnatrium + 1 ccm NaOH)	0,01 n	2,07 ₅	12,06 ₅	12,09 ₅
4,9 ccm Glykokoll + 5,1 ccm NaOH (= Glykokollnatrium + 0,2 ccm NaOH)	0,002 n	2,77 ₅	11,36 ₅	11,56 ₅
5 ccm Glykokoll + 5 ccm NaOH (= Gly- kokollnatrium + 0 ccm NaOH) . .	neutral	7,07 ₀	7,07 ₀	11,30 ₅

Die im großen und ganzen schöne Übereinstimmung der Werte von p und p' zeigt, daß Glykokollmischungen, welche einen nur einigermaßen bedeutenden Überschuß an Natriumhydroxyd enthalten, im wesentlichen als eine natriumhydroxydhaltige Lösung eines normalen nicht hydrolysierten Natriumsalzes aufzufassen sind.³⁾ Daß die Hydrolyse nicht vollständig

¹⁾ Vgl. Tabelle II, zweiten Stab (S. 162).

²⁾ Vgl. Tabelle III, letzten Stab (S. 174).

³⁾ Da es in diesem Zusammenhang von Interesse ist, das Verhalten normaler Salze schwacher Säuren unter entsprechenden Umständen ken-

zurückgedrängt ist, zeigt sich dadurch, daß p durchgehends etwas größer als p' ist, was gewiß nicht Versuchsfehlern zu-

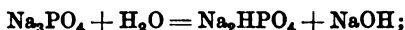
nen zu lernen, werde ich als Beispiel einige mit Carbonat- und Phosphatlösungen ausgeführte Messungen hier anführen.

Von chlorid- und sulfatfreiem abgewässertem Natriumcarbonat (C. A. F. Kahlbaum) wurde das reine, wasserfreie Salz durch Erhitzen nach G. Lunge dargestellt; ein Gehalt an Hydroxyd oder Bicarbonat konnte nicht nachgewiesen werden (siehe S. P. L. Sørensen und A. C. Andersen: Zeitschr. f. analyt. Chem. 45, 220, 1906).

Eine 0,05 mol. Lösung dieses Salzes gab elektrometrisch gemessen $\pi = 0,9949$, was $p_{\text{H}^+} = 11,39_0$ entspricht. Setzt man die Dissoziationskonstante des Wassers $= 10^{-14,14}$, so wird die Hydroxylionenkonzentration der gemessenen Lösung $= 10^{-2,75}$ sein, welches nach einer einfachen Rechnung 3,56% der Natriumcarbonatkonzentration entspricht. Der so gefundene Hydrolysegrad des Natriumcarbonats stimmt gut mit dem von K. Koelichen (Zeitschr. f. physikal. Chem. 33, 173, 1899) mittels der Diacetonalkoholmethode gefundenen, ist aber nicht unbedeutend kleiner als der von J. Shields (Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 175, 1893) mittels der Äthylacetatmethode bestimmte Wert des Hydrolysegrads von Natriumcarbonatlösungen ähnlicher Stärke.

Die elektrometrische Messung eines Gemisches von „9 ccm 0,05 mol. $\text{Na}_2\text{CO}_3 + 1$ ccm 0,1 n-NaOH“, welches somit in bezug auf seinen gesamten Natriumgehalt 0,1 n war, gab $\pi = 1,0355$, $p_{\text{H}^+} = 12,09_3$, entsprechend. Man sieht mithin, daß der Wasserstoffionenexponent dieser Mischung wohl ein wenig höher ist als der des Gemisches „9 ccm 0,1 n-NaCl + 1 ccm 0,1 n-NaOH“ ($p_{\text{H}^+} = 12,06_3$; siehe Tabelle VII), die Hydrolyse des Natriumcarbonats ist aber doch so weit zurückgedrängt, daß nur wenig mehr als 1% des Natriumcarbonats noch hydrolysiert ist.

Über das normale Natriumphosphat gibt J. Shields (l. c. S. 181 u. 187) an, daß es in wäßriger Lösung völlig hydrolysiert sei, gemäß der Gleichung:



dies Ergebnis stimmt aber nicht mit dem unsrigen.

Durch elektrometrische Messung der folgenden vier Gemische:

- | | | |
|----|---|------------------------------|
| a) | 9 ccm 0,05 mol. Na_2HPO_4 | + 1 ccm 0,1 n-NaOH |
| b) | $6\frac{2}{3}$ „ 0,05 „ | „ + $3\frac{1}{3}$ „ 0,1 n „ |
| c) | 6 „ 0,05 „ | „ + 4 „ 0,1 n „ |
| d) | 2 „ 0,05 „ | „ + 8 „ 0,1 n „ |

wurde gefunden:

- | | | |
|----|---|--|
| a) | $\pi = 0,9850$, $p_{\text{H}^+} = 11,21_3$; | die entspr. OH' -Konzentr. $1,2 \times 10^{-3}$ |
| b) | $\pi = 1,0370$ „ $= 12,11_3$; | „ „ „ $9,5 \times 10^{-3}$ |
| c) | $\pi = 1,0490$ „ $= 12,32_7$; | „ „ „ $15,4 \times 10^{-3}$ |
| d) | $\pi = 1,0820$ „ $= 12,89_0$; | „ „ „ $57,4 \times 10^{-3}$ |

Wenn das normale Natriumphosphat in wäßriger Lösung vollständig hydrolysiert wäre, dann müßten die hier besprochenen vier Lösungen

zurechnen ist. Indes macht sich die Hydrolyse des Glykokollnatriums erst an solchen Gemischen stärker geltend, welche wie „4,9 ccm Glykokoll + 5,1 ccm NaOH“ nur einen ganz kleinen Überschuß an Natriumhydroxyd enthalten.

Man möchte erwarten, daß der andere Zweig der Glykokollkurve einen ähnlichen Wendepunkt bei dem Gemische „5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl“ (der Verbindung von gleichen Molekülen Glykokoll und Salzsäure entsprechend) hätte; ein solcher Wendepunkt läßt sich vielleicht eben wahrnehmen, tritt aber jedenfalls nicht deutlich zutage. Die Ursache dazu

eine Hydroxylionenkonzentration haben, welche durch die ganze zugegebene Menge Natriumhydroxyd unter Berücksichtigung des gesamten Natriumgehalts bestimmt würde. Da alle vier Lösungen auf Natrium bezogen 0,1 n sind, so muß die Hydroxylionenkonzentration, wenn die Voraussetzung richtig wäre, 0,841 mal bzw. 0,01, 0,033, 0,04 und 0,08 betragen, oder anders ausgedrückt, 10^{-3} mal bzw. 8,4, 28,0, 33,6 und 67,3. Man sieht sogleich, daß diese Zahlen weit größer sind, als die oben angeführten, experimentell gefundenen Werte der Hydroxylionenkonzentration; die Hydrolyse ist mithin nicht vollständig gewesen.

Über die Größe des Hydrolysegrades gibt die folgende Berechnung Auskunft:

	a	b	c	d
Die gesamte OH'-Konzentration der untersuchten Lösungen ist . .	$10^{-3} \times 1,2$	9,5	15,4	57,4
OH'-Konzentration, herrührend von dem für die Bildung des normalen Phosphats überschüssigen NaOH	$10^{-3} \times 0$	0	8,4	58,9
Also OH'-Konzentration (<i>k</i>) von der Hydrolyse des normalen Phosphats herrührend	$10^{-3} \times 1,2$	9,5	7,0	0
OH'-Konzentration (<i>K</i>), wenn das normale Phosphat vollständig hydrolysiert wäre	$10^{-3} \times 8,4$	28,0	25,2	8,4
<i>k</i> in % von <i>K</i> ausgedrückt	14	34	28	0
<i>k</i> in % der mol. Konzentration des normalen Phosphats ausgedrückt	12	29	23	0

Es hat sich somit herausgestellt, daß die Hydrolyse am weitesten vorgeschritten ist in der Lösung b, welche sekundäres Phosphat und Natriumhydroxyd eben in dem Verhältnis enthält, in welchem sie sich unter Bildung des normalen Phosphats verbinden; allein auch in diesem Falle ist nur etwa ein Drittel dieses Salzes hydrolysiert. Die Hydrolyse kann durch Zusatz eines der Hydrolyseprodukte, sek. Phosphat oder NaOH noch weiter zurückgedrängt werden, ja im Versuche d, wo der Überschuß an Natriumhydroxyd ziemlich bedeutend ist, ist das normale Phosphat offenbar überhaupt nicht hydrolysiert.

ist in dem Umstand zu suchen, daß der saure Charakter des Glykokolls stärker als der basische hervortritt.

Der andere Zweig der Citratkurven dagegen zeigt einen deutlichen Wendepunkt beim Gemische „3,33 ccm Citrat + 6,67 ccm HCl“ (freier Citronensäure entsprechend), und die Boratenkurve hat ebenfalls an ihrem zweiten Ast einen ausgesprochenen Wendepunkt beim Gemische „5 ccm Borat + 5 ccm HCl“ (freier Borsäure entsprechend). In allen Boratmischungen, welche reicher an Salzsäure sind, als die eben genannte, ist die Borsäure für die Größe der Ionenkonzentration ganz belanglos, indem diese Größe lediglich durch den Salzsäureüberschuß und das anwesende Natriumchlorid bedingt ist.

Es möge nur noch erlaubt sein, ein paar Bemerkungen über die Umstände zu machen, welche bei der Wahl der eben besprochenen Standardlösungen für mich ausschlaggebend gewesen sind.

Schon in einer von Fr. Weis hier im Laboratorium ausgeführten, im Jahre 1902 veröffentlichten Arbeit¹⁾ über die proteolytischen Enzyme des Malzes wurde auf die große Rolle aufmerksam gemacht, welche der Gehalt an Phosphaten bei der Proteolyse spielt. Und zwar hat Weis in Übereinstimmung mit den Angaben von A. Fernbach und L. Hubert²⁾ gefunden, daß das proteolytische Vermögen eines Malzauszuges bei Zugabe von Säuren so lange gesteigert wird, bis das anwesende sekundäre Phosphat vollkommen in primäres verwandelt ist; durch weiteren Säurezusatz aber nimmt das proteolytische Vermögen wieder ab. Eine Zugabe von Basen andererseits hemmt die Proteolyse um so mehr, je größer die zugegebene Menge ist; besonders aber zeigt sich die Hemmung, wenn mehr Base zugesetzt wird, als notwendig ist, um das anwesende primäre Phosphat in sekundäres zu verwandeln.

Eine Reihe von Versuchen über das proteolytische Enzym der Hefe, welche von den Herren Ingenieur Fr. Petersen und Chemiker P. R. Sollied hier im Laboratorium in den Jahren 1902 und 1903 ausgeführt wurden, hatten ebenfalls gezeigt, daß die Menge der in den Versuchflüssigkeiten anwesenden primären

¹⁾ Comptes rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg 5, 211 und Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 26, 558, 1903.

²⁾ Compt. rend. 131, 293, 1900.

und sekundären Phosphate einen wesentlichen Einfluß auf die Schnelligkeit der Proteolyse ausübte.

Da man ferner aus den Untersuchungen Fernbachs¹⁾ wußte, daß auch die lösende Wirkung der Diastase Stärke gegenüber von den anwesenden Phosphaten abhängig ist, indem die primären den Prozeß beschleunigten, die sekundären ihn aber hemmten, war der Gedanke naheliegend, daß man es hier mit einer allgemeinen Wirkung der genannten Salzmischung zu tun hatte.

Da es sich wohl kaum denken läßt, daß primäre oder sekundäre Salze als solche enzymatische Prozesse beeinflussen können, weder in der einen noch in der anderen Richtung, muß man also die Ursache der Bedeutung dieser Salze für die Enzymspaltung anderswo suchen, und es liegt dann am nächsten, an die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit zu denken, für welche ja das gegenseitige Mengenverhältnis primären und sekundären Phosphats maßgebend ist. Wird eine begrenzte Menge Säure oder Base zu einem solchen Phosphatengemisch gegeben, so bewirkt das nur, daß ein Teil des sekundären Salzes in primäres verwandelt wird oder umgekehrt; der Gehalt der Lösung an Wasserstoffionen wird aber nicht über die dem primären bzw. dem sekundären Phosphat entsprechende Konzentration hinaus verschoben. Ein solches Gemisch von Phosphaten bietet somit einen natürlichen Schutz gegen allzu schroffe Änderungen der Ionenkonzentration, es wirkt — mit einem von Fernbach und Hubert²⁾ in diesem Zusammenhang gebrauchten Bilde — wie ein Puffer³⁾.

¹⁾ Ann. de la Brasserie et de la Distillerie, 5 sept. 10 et 25 oct. 1899; Wochenschr. für Brauerei 17, 34, 1900. Vgl. auch die späteren Arbeiten von L. Maquenne und Eug. Roux über die Verzuckerung der Stärke mittels Diastase (zusammenfassende Darstellung: Bull. Soc. Chim. Paris [3] 35, I bis XV 1906 und Ann. Chim. et Phys. [8] 9, 179, 1906).

²⁾ l. c. S. 295.

³⁾ Vgl. auch R. Höber, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 528, 1903, sowie die aus den späteren Jahren stammenden Arbeiten: G. Bertrand, Bull. Soc. Chim. de France [4], 1, 1130, 1907; L. J. Henderson, Amer. Journ. of Physiol. 15, 257; 21, 427 — L. J. Henderson und O. F. Black, ibid. 18, 250; 21, 420. — G. W. Hall, ibid. 18, 283; die fünf letzten Abhandlungen sind nach den Referaten im Chem. Centralbl. 1906, 1, 1031; 1908, 1, 1190 und 1197; 1908, 2, 335 und 335 zitiert.

Auch Gemische von normalen und sauren Carbonaten sowohl als saure Carbonate mit einem Überschuß von Kohlensäure können als Puffer wirken und fungieren sicher auch oft als solche. Es wurde früher erwähnt (siehe S. 184 Anm.), daß eine 0,05 mol. Lösung von normalem Natriumcarbonat eine Wasserstoffionenkonzentration hat, welche dem Wasserstoffionenexponenten 11,39 entspricht. Eine 0,1 mol. Lösung von saurem Natriumcarbonat hat dagegen den Wasserstoffionenexponenten 8,40, und falls diese Lösung mit Kohlensäure gesättigt wird, sinkt ihr p_{H} bis auf 6,8 bis 6,9¹⁾. Hieraus folgt, wie es ein Blick auf die Hauptkurventafel zeigt, daß eine kohlenensäurehaltige Natriumcarbonatlösung als Puffer dienen können wird für einen Konzentrationsbereich, ähnlich demjenigen, über welchen die Phosphatmischungen sich erstrecken, aber etwas mehr nach der alkalischen Seite liegend.

Es gibt indessen einen enzymatischen Prozeß — die Pepsinverdauung —, dessen optimale Wasserstoffionenkonzentration ganz außerhalb des hier erwähnten Bereiches liegt. Bei diesem Prozeß können deshalb weder Phosphate noch Carbonate als Regulatoren benutzt werden; das Substrat selbst, der Proteinstoff

¹⁾ Solche stark kohlenensäurehaltigen Flüssigkeiten wie die beiden letztgenannten lassen sich nicht elektrometrisch messen (siehe nächsten Abschnitt S. 190); die hier angeführten Werte für p_{H} sind colorimetrisch gefunden.

0,1 mol. Lösungen zweier verschiedenen Proben sauren Natriumcarbonats gaben bei colorimetrischer Messung mit Boratenmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und mit Tropäolin 000 Nr. 1 als Indicator $p_{\text{H}} = 8,34$ bis 8,45 und mit Phenolphthalein als Indicator $p_{\text{H}} = 8,39$.

Nach Sättigung dieser Lösungen mit Kohlensäure bei Zimmertemperatur wurde gefunden, mit Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeit und mit

Rosolsäure als Indicator	$p_{\text{H}} = 6,86$
Neutralrot	$= 6,82$ und $6,90$
Azolithmin	$= 6,85$

Dagegen zeigten reines, kohlenensäuregesättigtes Wasser sowohl als auch eine kohlenensäuregesättigte Natriumchloridlösung einen weit niedrigeren Wasserstoffionenexponenten, indem beide mit Methylorange als Indicator und Citratenmischungen als Vergleichsflüssigkeiten $p_{\text{H}} = 4,08$, und mit Glykokollgemischen $p_{\text{H}} = 4,00$ gaben.

Das hier angeführte bestätigt vollauf die in der schönen Arbeit F. W. Küsters über die Titrierung carbonathaltiger Alkalilauge (Zeitschr. f. anorgan. Chem. 13, 127, 1897) geäußerten Ansichten.

und seine Spaltungsprodukte, welche sowohl säure- als auch basenbindend sind, dient hier als Puffer.

Handelt es sich nun um Darstellung von Vergleichsflüssigkeiten, welche ähnliche Konzentrationen der Wasserstoffionen besitzen wie jene, welche bei enzymatischen Prozessen eine Rolle spielen, dann liegt der Gedanke sehr nahe, sich der von der Natur als Puffer verwendeten Stoffe zu bedienen. Die ersten von uns benutzten Vergleichsflüssigkeiten waren deshalb die Phosphat- und die Glykokollmischungen, die letzteren, weil das Glykokoll der einfachste und am leichtesten zu beschaffende Vertreter der Eiweißstoffe und ihrer Abbauprodukte ist. Die Kurventafel zeigt beim ersten Blick, wie schön die diesen Mischungen entsprechenden Kurven einander ergänzen: die Phosphatkurve beherrscht eben den Bereich, in welchem die Glykokollkurve absolut unbrauchbar ist. Es ist kaum zu bezweifeln, daß die übrigen Abbauprodukte der Proteinstoffe, wie auch die Proteinstoffe selbst, sich im wesentlichen in derselben Weise wie das Glykokoll verhalten werden. Neutrale Lösungen dieser Stoffe werden demzufolge durch Zusatz selbst von kleinen Mengen Säure oder Base weit vom Neutralpunkte ($p_H = 7,07$) weggetrieben, es sei denn, daß die Lösungen Phosphate oder Carbonate enthalten, welche als Puffer Dienste leisten können.

Eine nähere Betrachtung der Kurventafel lehrt indessen bald, daß es wohl, wie oben erwähnt, möglich ist, mittels der Phosphat- und Glykokollmischungen Vergleichsflüssigkeiten für den ganzen Konzentrationsbereich von 0,1 n-HCl bis 0,1 n-NaOH darzustellen, die Gestalt der Kurven aber zeigt, daß es zwei Konzentrationsabschnitte gibt, nämlich da, wo die Phosphatkurve endet und die Glykokollkurve (mit HCl bzw. NaOH) anfängt, in welchen ein Bedürfnis nach anderen Standardlösungen sich fühlbar macht. Da dieses Bedürfnis, wie es die Kurventafel zeigt, bei dem einen Abschnitt (mit $p_H =$ etwa 4) besonders dringend ist, und da eben dieser Abschnitt für viele Enzymspaltungen von ganz besonderem Interesse ist (siehe S. 266), so wurde es bald notwendig, die Phosphat- und Glykokollmischungen durch neue Standardlösungen zu ergänzen. Unter den Lösungen, die wir im Hinblick auf dieses Ziel untersuchten, haben wir die früher erwähnten Citrat- und Borat-

mischungen auserwählt, und diese haben sich in jeder Beziehung sehr gut bewährt.

Noch ist zu bemerken, daß auch Friedenthal und Salm in ihren früher erwähnten Arbeiten (siehe S. 146) nach dem Vorschlage von Szily's Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeiten gebraucht haben. Selbstverständlich beabsichtige ich nicht, die Priorität dieser ausgezeichneten Forscher in diesem Punkt zu bestreiten, andererseits aber habe ich es auch nicht unterlassen wollen, den Gedankengang mitzuteilen, welcher für mich bei der Wahl der Standardlösungen der leitende gewesen ist.

c) Besondere Fälle, in welchen die elektrometrische Messung Schwierigkeiten bietet.

Selbst wenn man bei Anwendung der hier beschriebenen Versuchsanordnung sich im voraus vergewissert hat, daß die benutzte Platin-Wasserstoffelektrode in jeder Beziehung normal ist, gibt es doch Fälle, wo die elektrometrische Messung mit Schwierigkeiten verknüpft ist, weil die zu untersuchende Flüssigkeit während der Messung entweder selbst verändert wird oder in der einen oder der anderen Weise mit der Elektrode in Wechselwirkung tritt. In diesem Abschnitte werde ich einige Beispiele dieser Art anführen.

1. Flüssigkeiten, welche Kohlensäure oder Carbonate enthalten, lassen sich gewöhnlich nicht genau elektrometrisch messen, weil der Wasserstoff nach und nach einen Teil der Kohlensäure austreibt, wodurch die Ionenkonzentration eine andere wird. Nur dann, wenn die vorliegende Flüssigkeit so sauer ist, daß die gesamte Kohlensäure durch den Wasserstoff verjagt werden kann, ohne daß die Wasserstoffionenkonzentration sich dadurch merkbar ändert, oder dann, wenn die Flüssigkeit so alkalisch ist, daß gar keine Kohlensäure beim Durchleiten von Wasserstoff ausgetrieben wird, ist eine genaue elektrometrische Messung durchführbar.

So ist, wie früher erwähnt (S. 184 Anm.), eine 0,05 mol. Lösung von normalem Natriumcarbonat elektrometrisch genau meßbar, wogegen dasselbe mit einer 0,1 mol. Lösung von Natriumbicarbonat nicht der Fall ist. Während die colorimetrische Messung der letztgenannten Lösung $p_{\text{H}} = 8,40$ gab (S. 188

Anm.), war das Ergebnis der elektrometrischen Messung wie folgt: Die Durchleitung des Wasserstoffs fing um 11 Uhr an, die Steigerung von π trat besonders stark zutage von 11⁰⁸ bis 11⁰⁸, zu welcher Zeit die genauen Ablesungen anfangen konnten; es wurde denn gefunden:

Zeit	π	p_{H}
11 ⁰⁸	0,8120	8,22
11 ¹¹	0,8218	8,39
11 ¹⁷	0,8283	8,50
11 ³⁰	0,8341	8,60
12 ³⁰	0,8475	8,84
1 ³⁰	0,8543	8,95
2 ³⁰	0,8591	9,04
4 ³⁰	0,8682	9,19

Aus diesen Zahlen geht unzweideutig hervor, daß es unmöglich ist, die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung wie die vorliegende elektrometrisch zu bestimmen, und zwar weil es ganz willkürlich sein würde, den Wert $p_{\text{H}} = 8,39$ (nach Wasserstoffdurchleitung während 11 Minuten), welcher mit den colorimetrisch gefundenen stimmt, zu wählen. Eher wäre der etwas höhere Wert $p_{\text{H}} = 8,60$ zu akzeptieren, da wir bei unseren elektrometrischen Messungen gewöhnlich nach $\frac{1}{2}$ Stunde Wasserstoffdurchleitung konstante Resultate bekommen. Daß es sich bei diesem Versuche wirklich um eine Änderung der Ionenkonzentration und nicht etwa um eine Vergiftung der Elektrode handelt, wird zur Genüge bewiesen durch die colorimetrische Messung der als Elektrodenflüssigkeit benutzten Lösung. Diese hat am Ende des Versuches mit Glykokollmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und Phenolphthaleïn als Indicator $p_{\text{H}} = 9,13$ gegeben.

Bei den im folgenden Hauptabschnitt B beschriebenen Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Indicatoren für die colorimetrische Messung solcher Lösungen, wie die bei enzymatischen Spaltungen vorkommenden, haben wir immer diese eben genannte Fehlerquelle mit in Betracht ziehen müssen. Ihretwegen haben wir immer die Lösung, welche wir untersuchen wollten, tags vorher zubereitet, und mittels Wasserstoffdurchleitung über Nacht dafür gesorgt, die eventuell anwesende Kohlensäure, welche sich durch diese Behandlung entfernen

ließ, auszutreiben. Die so behandelte Lösung wurde dann sowohl elektrometrisch als auch colorimetrisch gemessen, und die Ergebnisse miteinander verglichen. Und zwar nahmen wir keine Rücksicht darauf, ob die Wasserstoffdurchleitung vor der Messung etwa die Ionenkonzentration der Lösung modifiziert hatte; wir gingen nämlich von der, wenn auch nicht selbstverständlichen, doch ziemlich wahrscheinlichen Voraussetzung aus, daß die Genauigkeit der colorimetrischen Messung ganz unabhängig davon sei, ob die Lösung Kohlensäure enthält oder nicht.¹⁾

Bei enzymatischen Untersuchungen kann man sich gewöhnlich derart einrichten, daß man mit so gut wie kohlenstofffreien Flüssigkeiten arbeitet, was diese Fehlerquelle bei der elektrometrischen Messung hinfällig macht. In anderen Fällen — und zwar besonders dann, wenn es sich um eine Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in „natürlichen“ Flüssigkeiten handelt — liegt die Sache oft bedeutend ungünstiger. Eine einigermaßen kohlenstoffhaltige Probe von Meerwasser z. B. läßt sich nach dem oben beschriebenen elektrometrischen Verfahren nicht genau messen; man kann aber, wie oben gesagt, die Kohlensäure austreiben und nachher durch Vergleichung elektrometrischer und colorimetrischer Messungen die Genauigkeit bestimmen, mit welcher Lösungen, die eben das in der Wasserprobe gegenwärtige Salzgemisch enthalten, colorimetrisch gemessen werden können; danach kann man das Wasser selbst colorimetrisch messen und nötigenfalls das Ergebnis korrigieren.

Ein ähnliches Verfahren läßt sich bei der Wasserstoffionemessung vieler kohlenstoffhaltigen „physiologischen“ Flüssigkeiten nicht anwenden. Blut z. B. ist natürlich nicht colorimetrisch zu messen, Plasma und Serum auch nicht, weil es nicht — wenigstens nicht bisher — möglich gewesen ist, Indicatoren zu finden, welche auch nur einigermaßen zuverlässige Resultate geben könnten, wenn es sich um die Messung von Flüssigkeiten, welche große Mengen genuiner Proteinstoffe ent-

¹⁾ In solchen Fällen, wo die Wasserstoffdurchleitung die Ionenkonzentration der Flüssigkeit so stark ändert, daß der für die mit Wasserstoff nicht behandelte Flüssigkeit brauchbare Indicator nicht mehr zu verwenden ist, genügt natürlich ein Zusatz kleiner Mengen von einem passenden Puffer oder auch nur von einer Säure, um die ursprüngliche Wasserstoffionenkonzentration wiederherzustellen.

halten, handelt. In solchen Fällen muß man sich mit der elektrometrischen Messung in etwas abgeänderter Form aus helfen.¹⁾ Das Elektrodengefäß wird beim Anfang des Versuches mit der zu untersuchenden Flüssigkeit ganz gefüllt und luftdicht verschlossen, wonach so viel Wasserstoff zugeleitet wird, daß das Niveau im Elektrodengefäß bis zu einem bestimmten Punkt sinkt, so daß ein Teil der Platinelektrode mit Wasserstoff umgeben ist. Bei diesem Verfahren werden wesentliche Mengen Kohlensäure nicht ausgetrieben; es dauert aber gewöhnlich sehr lange (6 bis 8 Stunden oder mehr), bis die elektromotorische Kraft konstant wird.²⁾

2. Liegt zur Messung eine Lösung vor, deren Wasserstoffionenkonzentration sich stetig ändert, so wird es begreiflicherweise unmöglich sein, mittels der elektrometrischen Messung die Anfangskonzentration der Lösung, d. h. die Wasserstoffionenkonzentration derselben im Herstellungsaugenblicke, zu bestimmen. Erst nach Einbringen der Lösung in den Meßapparat und etwa $\frac{1}{2}$ Stunde Durchleiten von Wasserstoff werden die Messungsergebnisse zuverlässig, und von nun ab können Änderungen des Gehalts an Wasserstoffionen messend verfolgt werden. Man kann dann entweder die Anfangskonzentration durch graphische Extrapolation finden, oder, wenn dies sich tun läßt, dieselbe colorimetrisch herstellen. In solchen Fällen, wo es sich um die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration gerade im Herstellungsaugenblicke der Lösung handelt, bietet die colorimetrische Methode viele Vorteile; auch hier aber wird man durch eine passende Kombination der beiden Methoden die besten Resultate erreichen. Als Beispiel werde ich die Messung der Änderungen anführen, welche die Wasserstoffionenkonzentration eines passenden alkalischen Gemisches von Wittepepton und Pankreatin bei Zimmertemperatur erfährt. Schon

¹⁾ Siehe u. a. Ladislaus v. Rhorer (Pflügers Archiv 86, 586, 1901); G. Farkas (ibid. 98, 551, 1903); M. Pfaundler (Archiv für Kinderheilkunde 41, 161, 1905); Fr. Tangl (Pflügers Archiv 115, 64, 1906); Alex. Szili (ibid. 115, 72 und 82, 1906); H. Benedict (ibid. 115, 106, 1906); vgl. auch P. Fraenckel (ibid. 96, 601, 1903).

²⁾ Laut der schönen Untersuchungen Carlo Foà's (Archivio di Fisiologia 3, 383, 1906) ist das doch nicht der Fall mit platinirten und noch weniger mit palladirten Goldelektroden, welche sogar sehr schnell ein bestimmtes Potential annehmen.

in einer früheren Abhandlung¹⁾ ist es bemerkt worden, daß die Wasserstoffionenkonzentration einer solchen Lösung sich stark und ziemlich schnell ändert auch bei gewöhnlicher Temperatur.

Die Messungsergebnisse sind auf der Fig. 1 graphisch dargestellt. Die Zeit in Minuten vom Augenblicke des Vermischens ab ist als Ordinate, und der zu den verschiedenen Zeiten durch Messung ermittelte Wasserstoffionenexponent als Abszisse benutzt. Die von Herrn S. Palitzsch ausgeführten elektrometrischen Messungen sind mit Punkten bezeichnet, während die von mir zu gleicher Zeit vorgenommenen colorimetrischen Bestimmungen mit Punkten, welche von einem kleinen Kreis umgeben sind, bezeichnet werden. Diese letzteren sind mit Boratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und Phenolphthalein als Indicator ausgeführt worden.

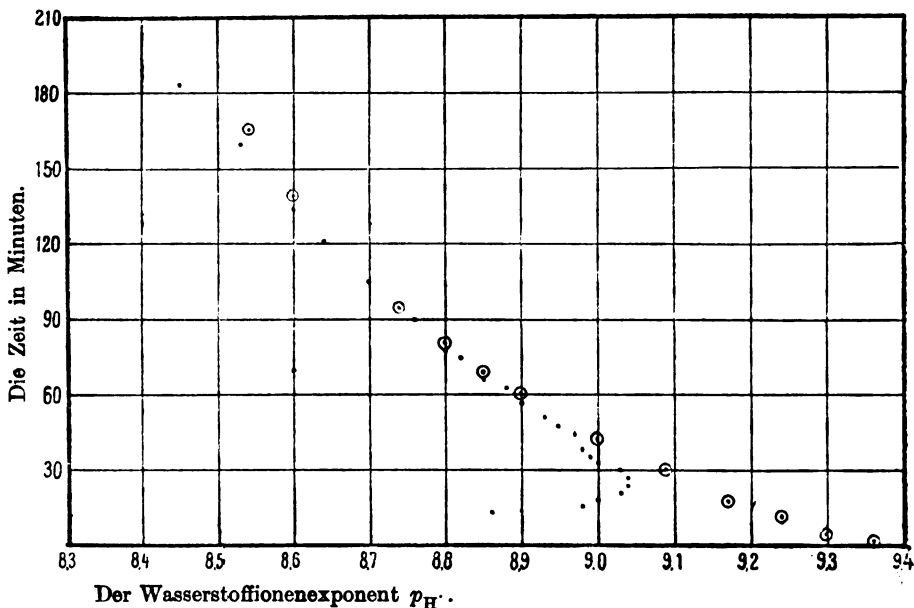


Fig. 1.

Es erhellt aus der Tafel, daß die stete Änderung der elektromotorischen Kraft nicht von irgend einem Fehler der Elektrode oder von einer Unsicherheit der Methode überhaupt herrührt (vgl. S. 156 und S. 200), sondern von einer wirklichen

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 97, 1907.

Anderung der Wasserstoffionenkonzentration; denn die auf ganz anderen Prinzipien fußende colorimetrische Methode zeigt eine ganz entsprechende fortgesetzte Änderung. Die Tafel zeigt ebenfalls, daß der Wasserstoffionenexponent der Lösung im Augenblicke des Vermischens bedeutend größer als der durch die elektrometrische Messung ermittelte Maximalwert (9,04) gewesen ist, und es ist leicht zu ersehen, daß eine Extrapolation über die elektrometrisch bestimmten Punkte hinaus etwa denselben Wert der Wasserstoffionenkonzentration im Vermischungsaugenblicke geben wird, wie jenen (9,3 bis 9,4), welchen die colorimetrische Messung ergab.

Ohne im übrigen auf Einzelheiten, welche außer dem Rahmen dieser Abhandlung liegen, näher einzugehen, ist nur zu bemerken, daß die Kurve, welche die Änderungen des Wasserstoffionenexponenten darstellt, sich einer Geraden nähert, ein Umstand, der darauf hindeutet, daß das Abnehmen des Gehalts der Lösung an Hydroxylionen im wesentlichen wie ein monomolekularer Prozeß verläuft.¹⁾

Schließlich muß ich noch bemerken, daß die Übereinstimmung zwischen den elektrometrischen und den colorimetrischen Bestimmungen hier eine außergewöhnlich gute ist; meistens wird man, wie es der folgende Hauptabschnitt B dartun wird, mit weniger scharfen Indicatoren und bisweilen auch mit dem hier angewandten vorzüglichen Indicator, Phenolphthalein, etwas größere Abweichungen bekommen.

3. Die Wirkung des Toluols bzw. des Chloroforms. Es ist bei enzymatischen Untersuchungen üblich, Lösungen zu verwenden, welche, um den Einfluß der Bakterien zu verhindern, mit Toluol, Chloroform oder dergleichen Antiseptica gesättigt sind. Aus demselben Grunde stellten wir anfangs unsere Standardlösungen mit Toluol gesättigt dar. Bisweilen, besonders bei frisch platinieren Elektroden, zeigten sich indessen Schwierigkeiten bei der Messung von Gemischen solcher toluolgesättigten Standardlösungen, und zwar dauerte es oft sehr lange, bevor die elektromotorische Kraft konstant wurde. Eine genauere

¹⁾ Vgl. auch die jüngst publizierte Arbeit von T. Brailsford-Robertson und C. L. A. Schmidt, Die Rolle des Alkalis bei der Eiweißhydrolyse durch Trypsin (Journ. of Biol. Chem. 5, 31); hier nach Chem. Centralbl. 1908, 2, 1267, referiert.

Untersuchung hat gezeigt, daß frisch platinierete Elektroden durch Toluol oder Chloroform stark beeinflußt werden — und zwar stärker, scheint es, in saurer als in alkalischer Flüssigkeit —, doch kann die Elektrode durch Einwirkung längere Zeit hindurch und durch wiederholten Gebrauch in mit Toluol oder Chloroform gesättigten Flüssigkeiten nach und nach ihre Empfindlichkeit diesen Körpern gegenüber verlieren — man möchte sagen, daß sie gewissermaßen „immunisiert“ wird. Die immunisierten Elektroden gaben gewöhnlich beinahe richtige Resultate, besonders wenn wir dafür Sorge trugen, daß die angewandten Standardlösungen nur wenig Toluol enthielten, so daß dasselbe sich durch den Wasserstoffstrom leicht und schnell austreiben ließ. Einige Unsicherheit wurde indessen immer durch dieses Verhältnis verursacht, und da wir andererseits fanden, daß selbst eine reichliche Schimmelvegetation in den Standardlösungen keinen meßbaren Einfluß auf die Wasserstoffionenkonzentration derjenigen Vergleichsmischungen ausübte, welche dem ganzen, vollausgezogenen Teiler Kurven (siehe S. 179) entsprachen, so haben wir in den letzten paar Jahren ausschließlich mit toluolfreien Standardlösungen gearbeitet. Die im vorhergehenden besprochenen Messungen, auf welchen die Kurventafel fußt, sind alle mittels toluolfreier Standardlösungen ausgeführt worden.

Ich mache auf dieses recht sonderbare Verhältnis — von dessen Ursache und Charakter ich keine zufriedenstellende Erklärung zu geben imstande bin — deshalb aufmerksam, weil es meines Wissens bis jetzt noch unbekannt ist, daß diese allgemein gebrauchten Antiseptica eine Rolle bei elektrometrischen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration spielen können. Insbesondere bei dem oben erwähnten, abgeänderten Verfahren (siehe S. 193), wo nur eine ganz geringfügige Menge Wasserstoff zugeleitet wird und demzufolge so gut wie alles Toluol oder Chloroform in der Flüssigkeit verbleibt, wird die hier erwähnte Tatsache zweifelsohne oft von Bedeutung sein.

Um die Frage besser zu beleuchten, werde ich einzelne der ausgeführten Versuche kurz beschreiben.

Die Messungen wurden mittels des von uns gewöhnlich benutzten Apparates ausgeführt, nur war eine kleine mit Toluol oder Chloroform beschickte Waschflasche dem Elektrodengefaß unmittelbar voraus eingeschaltet, nebst einer einfachen Zusammenstellung von T-Röhren, verbunden durch mit Schraubenquetschhähnen versehene Kautschukschläuche.

Diese Anordnung ermöglichte es, einerseits den ganzen Apparat, auch den Raum über dem Toluol bzw. Chloroform, beim Anfange des Versuches mit Wasserstoff zu füllen, andererseits während des Versuches entweder reinen Wasserstoff oder solchen mit Toluol oder Chloroform beladenen durch die Elektrodenflüssigkeit streichen zu lassen.

Die Mischung „5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl“ wurde unter Durchleiten reinen Wasserstoffs und Benutzung einer neuplatinierten Elektrode gemessen. Es wurde gefunden $\pi = 0,4489$, und π blieb während $1\frac{1}{2}$ Stunde beinahe konstant. Der Strom reinen Wasserstoffs wurde jetzt unterbrochen und statt dessen mit Toluol beladener Wasserstoff durchgeleitet. Schon nach dem Verlauf von 3 Minuten war ein deutliches Sinken von π (3 bis 4 Millivolt) wahrzunehmen, und dieses Sinken wurde ziemlich regelmäßig, aber schwächer und schwächer fortgesetzt, bis ein Minimum ($\pi = 0,4202$) nach 36 Minuten erreicht wurde. Dann fing π wieder langsam zu steigen an, obgleich das Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs fortfuhr; selbst nach dem Verlaufe zweier Stunden hatte π aber nur den Wert 0,4306 erreicht. Es wurde nun reiner Wasserstoff wieder durchgeleitet, was im Laufe von 2 Stunden π auf 0,4467 brachte, somit in die Nähe des ursprünglichen Wertes.

Die Elektrode wurde über Nacht in reinem Wasser stehen gelassen und dann für die Messung einer frisch bereiteten Portion desselben Glykokollgemisches gebraucht. Es wurde gefunden, beinahe wie oben: $\pi = 0,4491$ konstant; bei Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs fing π bald zu sinken an und erreichte schon in 24 Minuten das Minimum, welches diesmal nicht niedriger als bei 0,4411 lag. Unter fortgesetztem Durchleiten von toluolbeladenem Wasserstoff stieg π im Laufe von $1\frac{1}{2}$ Stunden bis auf 0,4435, und ein folgendes Durchleiten von reinem Wasserstoff brachte es in $1\frac{1}{2}$ Stunden wieder auf 0,4491.

Am nächsten Tag wurde der Versuch nochmals wiederholt. π fiel diesmal im Laufe von 20 Minuten von dem konstanten Wert 0,4491 bis zum Minimawert 0,4451, und stieg wieder unter Durchleiten toluolhaltigen Wasserstoffs während 3 Stunden auf 0,4487, also fast den normalen Wert; bei nachfolgendem Durchleiten reinen Wasserstoffs stieg π nur $\frac{1}{2}$ Millivolt.

Es erhellt deutlich aus diesem und aus mehreren ähnlichen Versuchen, welche hier nicht im Einzelnen Erwähnung finden sollen, daß die Elektrode sowohl während der einzelnen Messung, als auch von Messung zu Messung weniger und weniger empfindlich der Wirkung des Toluols gegenüber wird. Es ist ganz auffallend, daß wir gar keine oder nur eine äußerst geringfügige Wirkung des Toluols in alkalischer Lösung haben verspüren können (wir haben das Glykokollgemisch „6 ccm Glykokoll + 4 ccm NaOH“ verwendet), auch dann nicht, wenn die Elektroden neuplatiniert waren.

Chloroform übt dagegen einen Einfluß auf die Elektrode, sowohl in saurer, als auch in alkalischer Lösung; doch war die Wirkung keineswegs auf alle Elektroden dieselbe.

Als Beispiel einer der größeren Wirkungen werde ich einige Messungen der Mischung „6 ccm Glykokoll + 4 ccm NaOH“ anführen. Unter Anwendung einer neuplatinierten Elektrode und reinen Wasserstoffs hat dieses Gemisch den konstanten Wert $\pi = 0,9219$ gegeben; das Durchleiten chloroformbeladenen Wasserstoffs brachte das π zu stetem, aber langsamem Sinken bis auf 0,9016, während 3 Stunden. Jetzt wurde wieder reiner Wasserstoff durchgeleitet, was π im Laufe einer Stunde wieder auf 0,9121 brachte, und dieser Wert blieb unter fortgesetzter Durchleitung reinen Wasserstoffs während 18 Stunden konstant.

Obleich π somit weit davon entfernt war, den richtigen Wert erreicht zu haben, gab die Elektrode doch, nach Abspülen in reinem Wasser, bei der Messung des Gemisches „5 ccm Glykokoll + 5 ccm HCl“ den richtigen Wert des π , nämlich 0,4495; als aber chloroformhaltiger Wasserstoff jetzt durchgeleitet wurde, fiel π im Laufe einer Stunde bis auf 0,3582, um dann während der nächsten 2 Stunden wieder auf 0,3826 zu steigen. Das nachfolgende Durchleiten reinen Wasserstoffs brachte den Wert des π während einer Stunde auf 0,4423, und dieser Wert wurde durch weiteres Durchleiten von Wasserstoff während 20 Stunden nicht geändert.

4. Wird die zu untersuchende Lösung durch die vereinigte Einwirkung von Wasserstoff und Platinschwarz beeinflusst, so liegt eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung, welche die elektrometrische Messung unsicher oder gar unbrauchbar machen würde, auch nicht außer dem Bereich der Möglichkeiten. Noch schlimmer liegt die Sache, wenn durch Behandlung der Lösung mit Wasserstoff Körper, welche auf die Elektrode einen nachteiligen Einfluß haben, gebildet werden; ein Beispiel dieser Art wird jetzt Erwähnung finden.

Das Erreichen konstanter Resultate bei der elektrometrischen Messung von Proteinlösungen sehr verschiedener Art und Wasserstoffionenkonzentration ist gewöhnlich nicht mit größerer Mühe verbunden gewesen (siehe S. 200). Nur bei ein paar Versuchen mit Hühnereiweiß, welches erst mit Natriumhydroxydlösung behandelt und nachher durch Salzsäure angesäuert war, hat die elektrometrische Messung sich als eine unbrauchbare erwiesen. Erstens wurde die Platinelektrode durch die Lösung, welche schwach nach Schwefelwasserstoff roch, stark beeinflusst, und zweitens fuhr die Flüssigkeit, auch nachdem sie mittels eines Luft- oder Sauerstoffstroms von Schwefelwasserstoff völlig befreit war, fort, unter Einwirkung von Wasserstoff, und wenn die Elektrode in sie tauchte, kleine Mengen

von Schwefelwasserstoff zu entwickeln und die Elektrode merkbar zu beeinflussen; ohne die Gegenwart der letzteren dagegen wurde durch Durchleiten von Wasserstoff kein Schwefelwasserstoff gebildet.¹⁾

Wenn auch ein Fall wie der hier erwähnte sich nur seltener ereignet, darf man es doch z. B. bei Herstellung passender Lösungen für enzymatische Spaltungen nicht unterlassen, dieses Verhältnis mit in Betracht zu ziehen, wenn man beabsichtigt, die Ionenkonzentration elektrometrisch zu bestimmen. Ich werde deshalb, sowie auch um einen Begriff von der Größe der in Rede stehenden Änderungen zu geben, einige Zahlen aus einem der Versuche anführen.

Die für den Versuch benutzte Lösung wurde folgendermaßen dargestellt: 375 ccm 4% iger Lösung von Hühnereiweiß wurden mit 50 ccm n-Natriumhydroxydlösung bei 37° während 5 Tage stehen gelassen und nachher in allem 70 ccm n-Salzsäure und 255 ccm Wasser zugegeben. Es wurde ein Wasserstoffstrom über Nacht durch die Flüssigkeit geleitet, der Geruch von Schwefelwasserstoff war aber noch nicht völlig verschwunden. Die Flüssigkeit wurde filtriert und sowohl colorimetrisch als auch elektrometrisch gemessen.

Die colorimetrische Messung hat $p_{\text{H}^+} = 2,58$ ergeben, indem als Vergleichsflüssigkeiten Glykokollgemische und als Indicatoren Methylviolett, Mauvein oder Gentianaviolett dienten — einige der wenigen Indicatoren, welche in Lösungen, die größere Mengen genuiner oder nur wenig abgebauter Proteine enthalten, einigermaßen brauchbar sind.

Nach Wasserstoffdurchleitung während $\frac{1}{2}$ Stunde wurde eine dem Werte $p_{\text{H}^+} = 1,80$ entsprechende elektromotorische Kraft gefunden, durch fortgesetztes Durchleiten von Wasserstoff nahm dieselbe noch weiter ab, dermaßen, daß sie nach 6 Stunden dem Werte $p_{\text{H}^+} = 1,25$ entsprach und nach weiterer Behandlung mit Wasserstoff während 19 Stunden nur noch einen $p_{\text{H}^+} = \text{ca. } 0,7$ entsprechenden Wert betrug.

Durch den bei diesen Versuchen übrig gebliebenen Teil der Eiweißlösung wurde ein Strom reiner, kohlenstofffreier Luft während 3 Tage geleitet, was den Geruch nach Schwefelwasserstoff vollständig zum Verschwinden brachte. Die colorimetrische Messung der so behandelten Lösung hat beinahe dasselbe Resultat wie oben gegeben;

¹⁾ Es scheint somit ein Zusammenhang zwischen der Bildung von Schwefelwasserstoff und andererseits der Einwirkung auf die Elektrode zu bestehen; andererseits aber haben direkte Versuche uns gezeigt, daß wir einer passend sauren Elektrodenflüssigkeit (wir benutzten die Mischung „8 ccm Glykokoll + 2 ccm HCl“) ziemlich reichliche Mengen von Schwefelwasserstoff zuführen konnten, ohne daß die Elektrode in wesentlichem Grade darunter litt.

die elektrometrische Messung dagegen hat nach Wasserstoffdurchleitung während $\frac{1}{2}$ Stunde $p_{\text{H}} = 2,29$ ergeben, einen Wert, welcher jedoch nicht konstant war, indem er im Laufe von 3 Stunden allmählich auf 2,06 fiel; die im Elektrodengefäß befindliche Flüssigkeit besaß jetzt wieder einen deutlichen Geruch nach Schwefelwasserstoff.

Endlich wurde es versucht, Wasserstoff durch den Rest der gelüfteten, schwefelwasserstofffreien Eiweißlösung und von da durch eine Lösung von Bleiacetat zu leiten; die letztgenannte Lösung wurde aber von einem Tag bis zum anderen nicht geschwärzt. Tauchte dagegen während des Durchleitens des Wasserstoffs eine der gewöhnlichen Platinelektroden in die Eiweißlösung, dann wurde die Bleiacetatlösung in 24 Stunden deutlich geschwärzt.

Es erhellt aus den in diesem Abschnitte angeführten Beispielen, daß die elektrometrische Messung unter gewissen Umständen nicht zuverlässig ist, und daß es demzufolge bei Planung und Ausführung enzymatischer Untersuchungen notwendig ist, die eben erwähnten Verhältnisse in Betracht zu ziehen, wenn man die Konzentration der Wasserstoffionen elektrometrisch zu ermitteln beabsichtigt. Da die Unzuverlässigkeit der Methode in den gesamten beschriebenen Fällen sich durch eine stete Änderung der elektromotorischen Kraft der Lösung bemerkbar gemacht hat, so darf man sich auf eine elektrometrische Messung nicht eher verlassen, bis wiederholte Messungen in angemessenen Zwischenräumen dasselbe Resultat geliefert haben. Es ist bei der Messung der komplizierten, oft nur wenig gekannten Gemische, mit welchen man es bei vielen enzymatischen Prozessen zu tun hat, kaum möglich, eine ebenso große Genauigkeit zu erreichen, wie jene, mit welcher die oben erwähnten Vergleichsflüssigkeiten bestimmt sind. Bei unseren Messungen proteinstoffhaltiger und ähnlicher Lösungen sind wir zufrieden gewesen, wenn die elektromotorische Kraft im Laufe von etwa 1 Stunde konstant wurde und später während 2 bis 3 Stunden nur 1 bis 2 Millivolt variierte. Ich bin deshalb der Ansicht, daß man bei einer elektrometrischen Messung, auch wenn sie sonst tadellos verläuft, in derartigen Fällen nicht mit einer größeren Genauigkeit als ± 3 Millivolt rechnen darf, was einem Fehler von ca. 5 in der zweiten Dezimale des Wasserstoffionenexponenten entspricht.

(Fortsetzung im nächsten Hefte.)

Enzymstudien (Fortsetzung).

II. Mitteilung.

Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionen- konzentration bei enzymatischen Prozessen.

Von

S. P. L. Sørensen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. Mai 1909.)

B. Colorimetrische Messungen.

a) Das angewandte Verfahren.

Schon in der Einleitung ist das einfache Prinzip, auf welchem die colorimetrische Messung basiert, auseinandergesetzt worden; hier sollen die Einzelheiten der Methode durch ein paar Beispiele genauer beleuchtet werden.

Ist eine Lösung gegeben, deren Ionenkonzentration nicht einmal annäherungsweise bekannt ist, so muß man sich mittels vorläufiger Proben erst darüber orientieren, welche Vergleichsflüssigkeiten und welche Indicatoren in diesem Falle am zweckmäßigsten zu verwenden sind. Am bequemsten geht man so vor, daß man zuerst die Reaktion der Flüssigkeit Lackmuspapier gegenüber probiert; ist dieselbe alkalisch, untersucht man mittels einiger Tropfen die Reaktion der Flüssigkeit Phenolphthalein gegenüber; im entgegengesetzten Falle (saure Reaktion gegen Lackmus) wird das Verhältnis z. B. Methylorange gegenüber geprüft. Von dem Ausfall dieser Proben wird es dann abhängen, welchen anderen angemessenen Indicator man benutzen soll, um das Bereich weiter zu begrenzen, innerhalb dessen die Wasserstoffionenkonzentration der vorliegenden Lösung zu suchen ist. Nehmen wir z. B. an, daß wir saure Reaktion gegen

Lackmus und nachher alkalische Reaktion gegen Methylorange gefunden haben, und endlich, daß die Lösung auf Zusatz von p-Nitrophenol, dessen Umschlagspunkt zwischen dem des Lackmus und dem des Methylorange liegt, deutlich aber nicht stark gelb wird. Daraus geht hervor, daß die Ionenkonzentration der Lösung eine solche ist, daß p-Nitrophenol wahrscheinlich bei der Messung als Indicator benutzt werden kann.

Man mißt dann in Probierrgläsern (aus farblosem Glas und soweit wie möglich in jeder Beziehung untereinander gleich) die folgenden Phosphatgemische ab:

rein primäres, 0,25 sek., 0,5 sek., 1 sek., 2 sek., 3 sek.,
4 sek. und 5 sek.,¹⁾

Gemische, die demjenigen Konzentrationsbereich der Wasserstoffionen entsprechen, welches der Indicator p-Nitrophenol umfaßt, indem „rein primäres“ ($p_H = 4,53$) selbst mit einer reichlichen Menge des Farbstoffs so gut wie farblos, während „5 sek.“ ($p_H = 6,81$) mit wenigen Tropfen der Indicatorlösung grünlich-gelb und mit mehreren Tropfen stark grünlich-gelb erscheint; zwischen diesen zwei Grenzpunkten lassen sich die übrigen Gemische leicht und scharf der Wasserstoffionenkonzentration nach einreihen. Von der zu untersuchenden Lösung werden nun auch 10 ccm in ein entsprechendes Probierrglas abgemessen und in jedes Glas eine passende Menge der Indicatorlösung eingetröpfelt (in diesem Falle 3 Tropfen der später erwähnten Lösung von p-Nitrophenol, siehe S. 241), wonach die Farbe der Lösungen nach gutem aber vorsichtigem Umschütteln verglichen wird. Bei diesem Vergleich ist es vorteilhaft, Reagenzglasgestelle zu verwenden, deren am zweckmäßigsten 35 bis 40° gegen den wagerechten Plan geneigter Boden mit einem Blatt reinen weißen Papiers bedeckt ist und welche übrigens (siehe die beistehende Figur) so eingerichtet sind, daß eine Drehung des Gestelles von 35 bis 40° um dessen Längsachse es ermöglicht, quer durch die gesamten vorliegenden Reagenzgläser gegen das weiße Papier als Hintergrund frei und un-

¹⁾ Die Mischung „0,25 ccm sekundäres Phosphat + 9,75 ccm primäres Phosphat“ wird der Kürze halber „0,25 sek.“ geschrieben, und entsprechende Abkürzungen werden nicht nur für die übrigen Phosphatgemische, sondern auch für die Glykokoll-, Citrat- und Boratgemische gebraucht.

behindert zu sehen. Es wird dann keine Schwierigkeiten machen, durch Vergleichung der Farbenstärke der verschiedenen Lösungen (bei anderen Indicatoren kann es sich um die verschiedenen Farbnuancen der Lösungen handeln) erstens die Vergleichsflüssigkeiten nach der Wasserstoffionenkonzentration derselben zu ordnen und zweitens die zu untersuchende Lösung in die Reihe da einzufügen, wo sie ihrer Wasserstoffionenkonzentration nach ihren Platz hat.

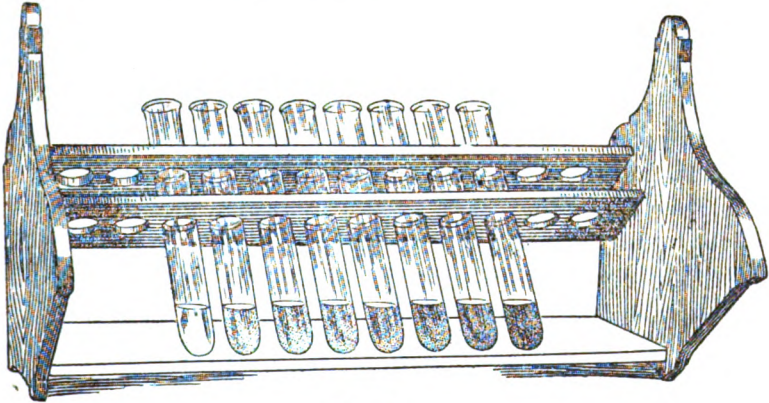


Fig. 2.

Wenn im hier gedachten Falle die Lösung sich z. B. zwischen „3 sek.“ und „4 sek.“ einordnen läßt, so wird die zugesetzte Indicatormenge (3 Tr.) eine passende sein; ist aber die Wasserstoffionenkonzentration eine größere, z. B. „1 sek.“ oder „0,5 sek.“ entsprechend, dann wird die durch die zugegebene Menge Indicatorlösung hervorgerufene Färbung zu schwach sein, um einen genauen Vergleich zu ermöglichen. In diesem Falle muß man mehr Indicatorlösung (3, 6 oder 12 Tropfen, je nach Umständen) zu allen Reagenzgläsern geben und nachher von neuem vergleichen. Hat es sich nun gezeigt, daß die zur Untersuchung vorliegende Lösung sich zwischen „1 sek.“ und „2 sek.“ einordnen läßt, dann beurteilt man, ob sie genau in der Mitte oder näher der einen oder der anderen Seite liegt, wird sie z. B. gleich „1,7 sek.“ geschätzt, so wird ihr Wasserstoffionenexponent laut der Kurventafel gleich 6,16 sein.

Es wird bisweilen möglich sein, durch Einschaltung neuer Vergleichsmischungen die Methode noch zu verschärfen. Im

hier erwähnten Beispiele läßt sich das Gemisch „1,5 sek.“ sehr schön einschalten, und da die Farbenstärke der Lösung mit dem hier verwendeten Indicator beim Stehenlassen sich nicht verändert (vgl. S. 213), kann man diese neue Mischung am Schluß einfügen, wenn man gesehen hat, daß eben diese und nicht z. B. „2,5 sek.“ Dienste zu leisten fähig ist.

Übrigens ist nur noch hinzuzufügen, daß es vorteilhaft ist, über eine ganze Reihe von Vergleichsflüssigkeiten zu verfügen, mittels welcher man eine Übersicht von den Veränderungen in der Stärke und der Nuance der Farbe bekommt; weniger als 4 Vergleichsflüssigkeiten, 2 an jeder Seite der zur Untersuchung vorliegenden Lösung reichen nicht hin, um eine zuverlässige Messung zu ermöglichen. Es ist nämlich vonnöten, so viele Vergleichsflüssigkeiten zu haben, daß die Lösung, ohne als Außenglied zu stehen, nicht nur auf den ihr gebührenden Platz, sondern auch auf einen Platz rechts oder links gestellt werden kann.

Hat man die Methode einmal verwendet, so sieht man gleich, daß eine solche Verschiebung der Lösung zwischen den Vergleichsflüssigkeiten die Sicherheit der Messung in hohem Grade erhöht.

Es ergibt sich von selbst, daß man mittels derselben Vergleichsflüssigkeiten mehrere verschiedene Lösungen messen kann, wenn sie nur nicht außerhalb des vom betreffenden Indicator beherrschten Bereiches von Ionenkonzentrationen liegen. Untersucht man z. B. bei enzymatischen Spaltungen den Einfluß eines einzelnen Faktors (Menge von Enzym oder Substrat oder von irgendeinem fremden Stoff) und läßt man zu diesem Zwecke bei einer Reihe von Versuchen die Größe dieses Faktors variieren, dann darf man nicht voraussetzen, daß die Ionenkonzentration in den gesamten Versuchsflüssigkeiten absolut dieselbe sein wird; da aber unter diesen Umständen die Variationen gewöhnlich nur geringfügig sein werden, so wird es oft möglich sein, alle Lösungen mittels derselben Reihe von Vergleichsflüssigkeiten zu messen. In solchen Fällen bietet die colorimetrische Messung bedeutende Vorteile; etwas umständlicher wird die Methode, wenn die Wasserstoffionenkonzentration selbst der variierende Faktor ist, weil dann mehrere Indicatoren mit je

einer Reihe von Vergleichsflüssigkeiten zu gebrauchen sind (siehe das Beispiel weiter unten).

Auch in solchen Fällen, wo man bei der endgültigen Messung die genauere elektrometrische Methode anwenden will, leistet die colorimetrische Messung bei Vorversuchen guten Dienst. Mittels ihrer kann man nämlich in jedem einzelnen Falle ausfindig machen, wie große Mengen von Säure, Base oder Puffergemisch erforderlich sind, um annähernd die gewünschte Wasserstoffionenkonzentration zu erhalten.

Endlich werde ich — als Beispiel der praktischen Anwendbarkeit der colorimetrischen Methode — die Messungsergebnisse einer Versuchsreihe anführen. Dieselben sind einer hier im Laboratorium in Angriff genommenen größeren Arbeit des Herrn R. Koefoed über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Invertinspaltung des Rohrzuckers entnommen.

Neun verschiedene Gemische von Invertin, Saccharose und sehr verdünnter Schwefelsäure kamen zur Messung; der Schwefelsäuregehalt war von Nr. 1 bis Nr. 9 wachsend.

a) Vergleichsflüssigkeiten: 4—5—6—7—8—9 sek.¹⁾

Mit 10 Tropfen Neutralrot (siehe S. 246) lag Nr. 1 gleich 5 sek., während Nr. 2 saurer als 4 sek. lag.

Nr. 1: $p_{\text{H}} = 6,81$ (5 sek.).

b) Vergleichsflüssigkeiten: 0,25—0,5—1—2—3—4—5 sek.

Mit 6 Tropfen p-Nitrophenol (siehe S. 241) lag Nr. 2 in der Mitte zwischen 2 und 3 sek., und mit 12 Tropfen dieses Indicators lag Nr. 3 zwischen 0,5 und 1 sek. und letzterem sehr nahe, während Nr. 4 wenigstens ebenso sauer wie 0,25 sek. war.

Nr. 2: $p_{\text{H}} = 6,37$ (2,5 sek.)

Nr. 3: $p_{\text{H}} = 5,86$ (0,9 sek.).

c) Vergleichsflüssigkeiten: 6—7—8—9 Citrat + NaOH,

10 "

6—7—8—9 " + HCl.

Mit 10 Tropfen p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin (siehe S. 240) lag Nr. 4 zwischen 8 und 9 Citrat + NaOH, und zwar näher dem letzteren, und Nr. 5 zwischen 7 und 8 Citrat + HCl, letzterem sehr nahe, während Nr. 6 saurer als 7 Citrat + HCl war.

Nr. 4: $p_{\text{H}} = 5,19$ (8,6 Citrat + NaOH),

Nr. 5: $p_{\text{H}} = 4,62$ (7,8 " + HCl).

¹⁾ Durch diese abgekürzte Schreibweise wird ausgedrückt (wie schon S. 202 Anm. erwähnt), daß 6 Vergleichsflüssigkeiten, welche in 10 ccm bzw. 4—5—6—7—8 und 9 ccm sekundäres Phosphat enthielten, während der Rest aus primärem Phosphat bestand, zur Verwendung kamen.

d) Vergleichsflüssigkeiten: 5,5—6,0—6,5—7,0 Citrat + HCl,
8,5—9,0—9,25—9,5—9,75 Glykokoll + HCl.

Mit 4 Tropfen Methylorange (p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin (siehe S. 233) lag Nr. 6 zwischen 5,5 und 6,0 Citrat + HCl und ersterem sehr nahe; Nr. 7 lag etwa in der Mitte zwischen 9,25 und 9,5 Glykokoll + HCl, während Nr. 8 weniger ausgeprägt zwischen 8,5 und 9,0 Glykokoll + HCl lag, es war jedenfalls saurer als letzteres.

Nr. 6: $p_{\text{H}^+} = 4,00$ (5,6 Citrat + HCl),

Nr. 7: $p_{\text{H}^+} = 3,61$ (9,4 Glykokoll + HCl).

e) Vergleichsflüssigkeiten: 7,0—7,5—8,0—8,5—9,0—9,5 Glykokoll + HCl.

Mit 4 Tropfen p-Benzolsulfonsäure-azo-metachlordiäthylanilin (siehe S. 233) lag Nr. 8 in der Mitte zwischen 8,5 und 9,0 Glykokoll + HCl und Nr. 9 lag zwischen 7,5 und 8,0 Glykokoll + HCl, letzterem sehr nahe.

Nr. 8: $p_{\text{H}^+} = 3,22$ (8,75 Glykokoll + HCl).

Nr. 9: $p_{\text{H}^+} = 2,89$ (7.9 „ + „).

b) Fehlerquellen der Methode.

In diesem Abschnitt werden eine Reihe von Umständen Erwähnung finden, welche die Genauigkeit und die Anwendbarkeit der colorimetrischen Methode beeinflussen. Da die größere oder geringere Bedeutung dieser Fehlerquellen auch vom angewandten Indicator abhängig ist, so ist es notwendig, bei der Wahl des Indicators in jedem gegebenen Falle diese Verhältnisse mit in Betracht zu ziehen.

1. Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit. Ist die zu untersuchende Lösung nicht farblos, so muß man, bevor man den Indicator zugibt, den Vergleichsflüssigkeiten so weit als möglich denselben Farbenton verleihen, und um unvermeidliche kleine Unterschiede des Farbentons zu verdecken, tut man dann gewöhnlich gut daran, reichliche Mengen der Indicatorlösung zuzusetzen. Als Färbungsmittel können verdünnte Lösungen passender Farbstoffe Verwendung finden, die denselben Farbenton geben innerhalb des ganzen Bereichs von Wasserstoffionenkonzentrationen, welchen die abgemessene Reihe von Vergleichsflüssigkeiten beherrscht. Es steht somit der Anwendung von Indicators als Färbungsmittel nichts im Wege, selbstverständlich aber nur bei Ionenkonzentrationen, welche von dem Umschlagspunkt hinlänglich weit entfernt sind. Als angemessene Färbungsmittel der Vergleichsflüssigkeiten bei der Messung solcher Lösungen, welche bei den enzy-

matischen Spaltungen gewöhnlich in Frage kommen, haben wir folgende Farbstoffe benutzt, von welchen jeder für sich innerhalb eines recht bedeutenden Ionenkonzentrationsbereichs keinen Umschlag besitzt.¹⁾

- a) Bismarckbraun (0,2 g in 1 l Wasser),
- b) Helianthin II (0,1 g in 800 ccm 93%igem Alkohol + 200 ccm Wasser),
- e) Tropäolin 0 (0,2 g in 1 l Wasser),
- d) Tropäolin 00 (0,2 g in 1 l Wasser),
- e) Curcumein (0,2g in 600ccm 93%igem Alkohol + 400 ccm Wasser),
- f) Methylviolett (0,02 g in 1 l Wasser),
- g) Baumwollblau (0,1 g in 1 l Wasser).

Wenn im folgenden von einer Färbung mittels einer bestimmten Zahl von Tropfen eines dieser Färbungsmittel die Rede ist, so sind immer Lösungen der hier angegebenen Stärke gemeint.

Wenn die Versuchsflüssigkeit trübe ist, tut man am besten, den Vergleichsfüssigkeiten eine ähnliche Trübung zu geben. Dies kann man gewöhnlich ohne wesentliche Änderung der Ionenkonzentration erzielen, wenn man einige Tropfen einer wässrigen Aufschwemmung von frisch gefälltem Bariumsulfat zugibt (durch Vermischen von 2 ccm einer 0,1 n-Bariumchloridlösung und 2 ccm einer 0,1 n-Kaliumsulfatlösung dargestellt; im folgenden kurzweg z. B. 2 Tr. BaSO₄ bezeichnet).

Müssen zu den Vergleichsfüssigkeiten, um ihnen einen ähnlichen Farbenton oder eine ähnliche Trübung wie die der Versuchsflüssigkeit zu geben, mehr als ein paar Tropfen Färbungsmittel bzw. Baryumsulfataufschwemmung hinzugefügt werden, dann wird es des Rauminhalts wegen notwendig sein, der Versuchsflüssigkeit eben so viele Tropfen Wasser bzw. neutrale schwache Salzlösung (wir haben 0,01 n-Kaliumsulfatlösung benutzt) zuzugeben.

Es folgt von selbst, daß unter diesen Umständen die colorimetrische Messung weniger scharf wird, als wenn es sich um farblose, wasserhelle Flüssigkeiten handelt, und natürlich wird die Messung um so schwieriger und um so unsicherer, je

¹⁾ Vgl. S. P. L. Sörensen, Enzymstudien I. Diese Zeitschr. 7, 61, 1907.

stärker gefärbt und je trüber die vorliegende Lösung ist. Kommt noch dazu, daß es keineswegs wahrscheinlich ist, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit durch Zusatz einiger Tropfen Wasser oder schwacher Salzlösung eben dieselbe Veränderung erleidet wie die Wasserstoffionenkonzentration der Vergleichsflüssigkeiten durch Zugabe der Färbungsmittel, dann wird es einleuchtend sein, daß das hier erwähnte Verhältnis Fehlerquellen von wesentlichem Belang in sich verbergen kann. Man tut deshalb unbedingt am besten, wenn man das Versuchsmaterial so wählt und im ganzen die Versuchsanordnung derart trifft, daß man es so weit als irgend möglich mit wasserhellen und nur wenig gefärbten Flüssigkeiten zu tun hat.

Wie viel die colorimetrische Methode durch das hier erwähnte Verhältnis an Genauigkeit einbüßen wird, das wird hauptsächlich von der Beschaffenheit des angewandten Indicators abhängen (es ist somit unmittelbar einleuchtend, daß die Messung von z. B. gelben Lösungen leichter und sicherer von statten geht, wenn man Phenolphthalein mit dem Übergang farblos-rot verwenden kann, als wenn man p-Nitrophenol mit dem Übergang farblos-grünlichgelb zu gebrauchen hat); es ist aber kaum möglich, im voraus eine begründete Meinung über die Größe des Fehlers zu haben. Es bleibt hier kaum ein anderes Verfahren übrig, als das immer von uns befolgte, welches darin besteht, gleichzeitig mit der colorimetrischen Messung eine elektrometrische Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in einer oder mehreren der Versuchsflüssigkeiten vorzunehmen. Die im folgenden angeführten tabellarischen Zusammenstellungen (Tabelle VIII bis XV) solcher vergleichenden elektrometrischen und colorimetrischen Messungen zeigen, daß, so lange man es nur mit verhältnismäßig schwach gefärbten Flüssigkeiten zu tun hat, diese Fehlerquelle von geringerer Bedeutung ist, als man vielleicht von vornherein zu erwarten geneigt wäre.

2. Der Einfluß der Neutralsalze. Bereits in der Einleitung (S. 143) ist erwähnt worden, daß es bei Anwendung der Rohrzuckerinversions-, der Methylacetat- oder der Diacetonalkoholmethode notwendig ist, die sogenannte Neutralsalzwirkung, welche noch keine zufriedenstellende Erklärung gefunden hat, mit zu berücksichtigen. Auch bei der colorimetrischen Methode

muß diese Wirkung mit in Betracht gezogen werden, und zwar weil die verschiedenen Indicatoren in verschiedenem Maße und vielleicht auch in verschiedener Weise durch die Gegenwart der Neutralsalze beeinflußt werden.¹⁾ Um einen Begriff von der Bedeutung dieser Fehlerquelle zu geben, werde ich unten einige unserer diesbezüglichen Messungen anführen, bei welchen wir hauptsächlich einen Zusatz von Natrium- oder Kaliumchlorid benutzt haben. Diese Beispiele, wie auch mehrere der Versuche der folgenden tabellarischen Zusammenstellungen werden dartun, daß, wenn die Salzkonzentration nicht größer als 0,3 bis 0,5 n ist (d. h. 2 bis 3mal der Salzgehalt des Blutes), so wird die Neutralsalzwirkung, was weit aus die meisten Indicatoren anbelangt, zwar merkbar, nicht aber so groß sein, daß die Messungsergebnisse unbrauchbar werden. Nur beim Gebrauch von Methylviolett und der analogen Indicatoren Mauvein, Gentianaviolett und Methylgrün ist die Salzwirkung eine solche, daß man gezwungen ist, sie immer zu berücksichtigen. Es folgt indessen von selbst, daß es bei allen genauen Messungen — und zwar besonders in solchen Fällen, wo die Salzmenge der verschiedenen Versuchslösungen stark variiert, z. B. bei Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Salze auf den Verlauf enzymatischer Prozesse — nicht zu empfehlen ist, die Wasserstoffionenkonzentration colorimetrisch zu ermitteln, es sei denn, daß man durch eine Reihe von vergleichenden colorimetrischen und elektrometrischen Messungen die Neutralsalzwirkung des betreffenden Salzes dem angewandten Indicator gegenüber schon festgestellt hat.

Es lagen zur Untersuchung 3 Lösungen vor, von welchen die eine (A) aus reiner 0,01 n-Salzsäure bestand, während die beiden anderen außer der gleichen Menge Salzsäure noch Kaliumchlorid in solchen Quantitäten enthielten, daß die gesamte Chloridkonzentration in der einen (B) 0,1 n und in der anderen (C) 0,3 n betrug.

Die angewandte Meßmethode	Der Wert von p_{H} in		
	A	B	C
Mittels Berechnung ²⁾ gefunden	2,02	2,04	2,06
Elektrometrische Messung	2,01	2,01	2,05

¹⁾ Vgl. Bohdan von Szyskowski, Zeitschr. f. physikal. Chem. 58, 420, 1907 und Leonor Michaelis und Peter Rona, Zeitschr. f. Elektrochem. 14, 251, 1908.

²⁾ Nach Arrhenius, Zeitschr. f. physikal. Chem. 31, 204, 1899; siehe S. 154.

Colorimetrische Messungen mittels:	Der Wert von p_{H^+} in		
	A	B	C
Methylviolett	2,22	2,04	1,91
Mauvein	2,22	2,04	1,91
Gentianaviolett	2,22	2,05	1,89
Methylgrün	2,28	2,05	1,82
p-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin (Tropäolin 00)	2,00	2,04	2,02
Methanin gelb extra	1,99	2,04	2,04
Benzol-azo-diphenylamin	2,04	2,04	2,04
p-Toluol-azo-benzylanilin	2,04	2,02	2,02

Die Betrachtung dieser Tabelle lehrt, daß, während die mittels der vier zuletzt aufgeführten Indicatoren gefundenen Werte sowohl mit den berechneten als auch mit den elektrometrisch ermittelten gut übereinstimmen, die vier erstgenannten Indicatoren nur bei der Messung der Lösung B, deren gesamte Chloridkonzentration (0,1 n) dieselbe ist wie die der als Vergleichsflüssigkeiten benutzten Glykokollgemische, richtige Resultate geliefert haben¹⁾.

Schließlich werde ich noch einzelne Messungen von einigermaßen salzreichen Lösungen mit anderen Konzentrationen der Wasserstoffionen anführen.

a) In 150 ccm Phosphatmischung (1,5 ccm sek. Phosphat + 8,5 ccm prim. Phosphat entsprechend) wurden 4,4 g reines Natriumchlorid gelöst, so daß die Lösung in betreff dieses Salzes 0,5 n wurde.

Die elektrometrische Messung ergab $\pi = 0,6636$; $p_{H^+} = 5,65$ (ca. 0,56 sek.).

Die colorimetrische Messung ergab:

mittels p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin $p_{H^+} = 5,55$

„ p-Nitrophenol $p_{H^+} = 5,81$

„ Alizarinsulfonsäure $p_{H^+} = 5,91$

b) In 150 ccm Phosphatgemisch (6,5 ccm sek. Phosphat + 3,5 ccm prim. Phosphat) wurde wie oben 4,4 g NaCl gelöst (0,5 n-NaCl).

¹⁾ Sind die Salzkonzentrationen stärker, dann wird der Fehler natürlich noch größer, und auch die vier letztgenannten Indicatoren werden, dann Resultate geben, welche mit den elektrometrisch ermittelten Werten weniger gut übereinstimmen. Die Sache ist indessen bei großen Salzkonzentrationen schwer zu überschauen; denn auch nicht unter den elektrometrisch ermittelten und den wie oben theoretisch berechneten Werten haben wir bei hinlänglich großer Salzkonzentration Übereinstimmung gefunden. Eine kaliumchloridhaltige 0,01 n-Salzsäure, deren Chloridkonzentration = 1,0 n ist, hat elektrometrisch gemessen $\pi = 0,4526$ gegeben, was $p_{H^+} = 1,99$ entspricht, während der nach der Theorie berechnete Wert des $p_{H^+} = 2,10$ ist, und noch größer war die Abweichung bei Messung einer kaliumchloridhaltigen 0,01 n-Salzsäure, deren gesamte Chloridkonzentration 3,0 n war; die elektrometrische Messung ergab $\pi = 0,4382$, was $p_{H^+} = 1,74$ entspricht, der theoretisch berechnete Wert aber ist $p_{H^+} = 2,25$.

Die elektrometrische Messung ergab $\pi = 0,7222$; $p_{\text{H}^+} = 6,66$ (4,0 sek.)

Die colorimetrische Messung ergab:

mittels p-Nitrophenol	$p_{\text{H}^+} = 6,80$
„ Rosolsäure	$p_{\text{H}^+} = 6,72$
„ Neutralrot	$p_{\text{H}^+} = 6,57$

o) In 150 ccm Boratgemisch (6 ccm Borat + 4 ccm HCl entsprechend) wurden wie oben 4,4 g NaCl gelöst (0,5 n-NaCl).

Die elektrometrische Messung ergab $\pi = 0,8006$; $p_{\text{H}^+} = 8,02$ (5,6 Borat + HCl),

Die colorimetrische Messung ergab:

mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-a-naphthol (Tro- päolin 000 Nr. 1)	$p_{\text{H}^+} = 8,14$
„ Phenolphthalein	$p_{\text{H}^+} = 8,14$

3. Der Einfluß von Toluol oder Chloroform. Wie bereits früher berührt, benutzt man bei enzymatischen Untersuchungen oft Toluol, Chloroform oder ähnliche Antiseptica, und es ist deshalb notwendig, bei der colorimetrischen Messung zu wissen, ob der angewandte Indicator dadurch beeinflusst wird oder nicht. In diesem Abschnitt werde ich einige Beispiele vom Verhalten der Indicatoren in dieser Beziehung anführen.

Eine größere Menge vom Glykokollgemische „7 ccm Glykokoll + 3 ccm HCl“ wurde abgemessen, ein Teil (A) davon wurde als solcher benutzt, ein anderer Teil (B) wurde mit einem Überschuß von Toluol geschüttelt und vom Überschuß filtriert, ein dritter Teil (C) wurde in derselben Weise mit Chloroform behandelt.

A, B und C wurden colorimetrisch mit Gemischen von Glykokoll und Salzsäure als Vergleichsflüssigkeiten und mit solchen Indicatoren, welche einen guten Umschlag bei der betreffenden Ionenkonzentration ($p_{\text{H}^+} = 2,61$) besitzen, gemessen.

Mit Methylviolett lagen A, B und C alle sehr schön zwischen 6,5 und 7,5 Glykokoll + HCl und ohne Abweichung untereinander. Während ein Zusatz zu B von einigen Tropfen Toluol und gutes Umschütteln weder die Stärke noch die Nuance der Farbe merkbar änderte, ließ sich aus C der Farbstoff so gut wie vollständig entfernen durch Schütteln mit einigen Tropfen Chloroform, welches dadurch violett gefärbt wurde. (Auch wenn die Flüssigkeiten weit saurer sind, geschieht dies; werden einige Tropfen Methylviolett zu normaler Salzsäure gegeben, dann wird die Lösung grünlich-gelb, sie wird aber bald beinahe völlig entfärbt; schüttelt man sie jetzt mit ein wenig Chloroform, so wird dieses deutlich violett gefärbt.)

Mauvein verhielt sich ganz wie Methylviolett.

Mit Benzol-azo-benzylanilin lag A natürlich gleich 7 Glykokoll + HCl; B aber lag gleich 7,8 Glykokoll + HCl und C gleich 8,3 Glykokoll + HCl. Durch Schütteln von B und C mit einigen Tropfen Toluol

bzw. Chloroform wird beinahe aller Farbstoff mit gelber Farbe ausgeschüttelt.

Mit p-Benzolsulfonsäure-azo-benzylanilin lagen A, B und C alle gleich und sehr schön zwischen 6,5 und 7,5 Glykokoll + HCl, und ein weiterer Zusatz von einigen Tropfen Toluol oder Chloroform bzw. zu B oder C änderte diese Sachlage nicht.

Diese kleinen Versuche zeigen, daß die Genauigkeit der colorimetrischen Messung mittels Methylvioletts, Mauveins und ähnlicher Indicatoren nicht durch die Gegenwart von Toluol beeinflusst wird, während das Chloroform bisweilen nachteilig wirken kann.

Die zwei anderen oben erwähnten Indicatoren sind typische Vertreter der Indicatoren der Azogruppe, die sämtlich Toluol oder Chloroform gegenüber sich wie diese beiden verhalten. Während die sauren Indicatoren dieser Gruppe gar nicht durch Toluol oder Chloroform beeinflusst werden, sind die basischen in toluol- oder chloroformgesättigten Flüssigkeiten ganz unbrauchbar.

Auch aus anderen Bereichen der Wasserstoffionenkonzentrationen und als Beispiele des Verhaltens anderer Indicatorgruppen werde ich in aller Kürze ein paar ähnliche Versuche anführen, die ganz in derselben Weise ausgeführt wurden.

a) Benutzt wurde „reines Citrat“, A ohne Toluol oder Chloroform, B mit Toluolzusatz und C mit Chloroformzusatz.

Mit Benzol-azo- α -naphthylamin zeigten sich B und C ein wenig alkalischer als A, und der Farbstoff ließ sich mit mehr Toluol oder Chloroform völlig ausschütteln.

Mit p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin war kein Unterschied zwischen A, B und C wahrnehmbar.

b) Benutzt wurde die Phosphatmischung, „1 ccm sek. Phosphat + 9 ccm prim. Phosphat“.

p-Nitrophenol und Alizarinsulfonsäure schienen nicht von Toluol oder Chloroform beeinflusst zu werden.

c) Die Phosphatmischung „6 ccm sek. Phosphat + 4 ccm prim. Phosphat“ wurde benutzt.

Weder Azolithmin noch Rosolsäure schien durch Toluol oder Chloroform in wesentlichem Grade beeinflusst zu werden, und auch bei der Anwendung von Neutralrot gab die colorimetrische Messung keinen merkbaren Unterschied zwischen A, B und C (Bedeutung wie oben); mit einigen Tropfen Toluol oder Chloroform aber werden große Mengen des letztgenannten Farbstoffes ausgeschüttelt.

d) Das Gemisch „6,5 ccm Borat + 3,5 ccm HCl“ wurde benutzt.

Weder p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol noch Phenolphthalein schien durch Toluol oder Chloroform beeinflusst zu werden.

4. Änderungen in der Stärke oder der Nuance der Indicatorfarben. Es ist früher (S. 204) erwähnt worden, daß es bei der colorimetrischen Messung bisweilen von Vorteil sein kann, neue Vergleichsflüssigkeiten an angemessenen Stellen einzuschalten; Bedingung dafür ist aber selbstverständlich, daß die Stärke oder Nuance der Indicatorfarbe sich unverändert innerhalb des Zeitraums erhält, welchen eine solche Messung in Anspruch nimmt. Da dies indessen nicht immer der Fall ist, und da es immer als ein Nachteil betrachtet werden muß, daß der Indicator seine Farbe beim Stehenlassen ändert, mögen einige der diesbezüglichen Verhältnisse eine ganz kurze Erwähnung finden.

Wird eine 0,1 n-Salzsäure mit einigen Tropfen Methylviolett versetzt, so wird sie grün mit ganz schwachem bläulichem Schimmer; beim Stehenlassen aber wird die Stärke der Färbung abgeschwächt und auch die Nuance wird etwas abgeändert. Schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde ist die Abschwächung wahrnehmbar und nach Verlauf von 1 Stunde ist die Flüssigkeit beinahe farblos geworden. Je saurer die vorliegende Flüssigkeit ist, desto schneller wird die Farbe abgeschwächt. Will man deshalb diesen Indicator oder einen der damit verwandten: Mauvein, Gentianaviolett und Methylgrün, welche sich ebenso verhalten, benutzen, so muß man einigermaßen schnell arbeiten und besonders dafür Sorge tragen, daß die Zugabe der Indicatoren zur Versuchs- und zu den Vergleichsflüssigkeiten so weit als möglich zur gleichen Zeit stattfindet. Die Änderung der Farbe rührt daher, daß die den Umschlag dieser Indicatoren bewirkende molekulare Umlagerung¹⁾ nicht momentan verläuft, sondern mit einer Geschwindigkeit, welche wenigstens im wesentlichen nur von der Wasserstoffionenkonzentration abhängt. Dieser letztere Umstand ist von nicht geringem Belang, und zwar weil er es mit sich bringt, daß die Messungen

¹⁾ Daß die Farbenänderung nicht etwa in einer Zerstörung des Farbstoffes ihren Grund hat, wird durch die Tatsache bewiesen, daß eine durch Stehenlassen vollständig entfärbte Lösung, z. B. von 1,0 n-Salzsäure und Methylviolett, durch Neutralisation der Säure (am besten mit Natriumhydroxyd im Unterschuß und schließlich ein wenig Glykokoll) nach und nach wieder violett wird, indem der Umlagerungsprozeß jetzt in der entgegengesetzten Richtung verläuft.

sehr gut genau ausfallen können, nicht nur sogleich nach dem Indicatorzusatz, sondern auch nach einiger Zeit, vorausgesetzt nur, daß die Versuchs- und die Vergleichsflüssigkeiten gleichzeitig mit dem Indicator versetzt worden sind. Die Farbenveränderung nimmt nämlich einen Verlauf parallel der Wasserstoffionenkonzentration der betreffenden Lösung, so daß die Reihenfolge, nach welcher sich die Lösungen einordnen lassen, nicht verändert wird. Daß das die wahre Sachlage ist, wird man leicht wahrnehmen, sobald man mittels eines der hier erwähnten Indicatoren eine Messung ausführt, und zwar hat man hier die Ursache, warum der große Nachteil, welcher sonst mit der Änderung der Indicatorfarbe verknüpft ist, bei diesen Indicatoren von geringem Belang ist.

Ganz anders stellt sich die Sache, wenn die Änderung der Indicatorfarbe nicht nur von der Ionenkonzentration abhängt, sondern auch von mehreren anderen Umständen, und zwar in der Weise, daß die Geschwindigkeit der Änderung z. B. in den verschiedenen Arten Vergleichsflüssigkeiten verschieden ist, selbst wenn die Wasserstoffionenkonzentration dieselbe ist; das gilt z. B. von Pyrogallolphthalein, Azosäureblau oder Chrysin G., und solche Indicatoren müssen demzufolge als für diesen Zweck unbrauchbar bezeichnet werden.

Auch wenn der Indicator sehr schwer löslich in Wasser ist, kann eine Änderung der Farbe eintreten, weil der Indicator nach und nach zum Teil ausgeschieden wird. Die in Wasser schwer löslichen Indicatoren werden in Alkohol von passender Stärke gelöst, und hierin liegt bereits die Möglichkeit einer Fehlerquelle, weil es nicht wahrscheinlich ist, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit und die der Vergleichsflüssigkeiten durch Zusatz der alkoholischen Indicatorlösung dieselbe Änderung erleiden wird. Da gewöhnlich nur wenige Tropfen der Indicatorlösung zur Verwendung kommen, wird diese Fehlerquelle ohne wesentlichen Belang sein; weit schlimmer ist die oben erwähnte Schwierigkeit, daß die in Wasser schwer löslichen Indicatoren nach und nach ausgeschieden werden. Während so die sauren Indicatoren der Azo-gruppe (z. B. p-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin [Tropolin 00]) gewöhnlich als wässrige Lösungen Verwendung finden können und Farbentöne geben, deren

Stärke oder Nuance selbst die Nacht über sich nicht ändert, müssen die basischen Indicatoren derselben Gruppe (z. B. Benzol-azo-diphenylamin) in alkoholischer Lösung gebraucht werden, und die hervorgerufene Farbe nimmt beim Stehenlassen an Stärke ab, weil der Farbstoff nach und nach ausflockt. Je zusammengesetzter ein Indicator ist, desto schwieriger löslich ist er gewöhnlich und desto stärker macht sich deshalb diese Fehlerquelle geltend.

Als ein weiteres Beispiel mag angeführt werden, daß es zwar notwendig ist, Phenolphthalein als alkoholische Lösung zu verwenden, daß aber andererseits dieser Indicator nicht dermaßen schwerlöslich in Wasser ist, daß die kleinen Mengen, welche bei einer colorimetrischen Messung in Frage kommen, ausfallen würden. Diesen Nachteil hat dagegen der analoge, übrigens ganz vorzügliche Indicator, das Thymolphthalein, bei dessen Benutzung demzufolge so schnell wie möglich gearbeitet werden muß.

5. Der Einfluß der Proteinstoffe und der Abbauprodukte derselben. Von weit größerer Bedeutung als die bisher erwähnten Nachteile der Methode ist es, daß die genuinen Proteinstoffe und ihre am wenigsten abgebauten Spaltungsprodukte die colorimetrische Messung oft schwierig, ja in vielen Fällen sogar unmöglich machen. Der Grund davon ist wohl einerseits darin zu suchen, daß sowohl die Proteine als auch viele der zusammengesetzten Indicatoren von kolloidaler Natur sind, und andererseits im amphoteren Charakter der Proteinstoffe, welcher sie befähigt, sich sowohl mit sauren als auch mit basischen Farbstoffen zu verbinden. Solche Verbindungen von Protein und Indicator fallen bisweilen als Niederschlag aus; wenn aber auch die Verbindung gelöst bleibt — wohl in kolloidalem Zustande —, hat sie gewöhnlich ihren eigenen Farbenton, was die colorimetrische Messung unsicher oder gar unmöglich macht.

Die hier erwähnte Tatsache ist, was die verschiedenen Gruppen von Indicatoren betrifft, von sehr ungleichem Belang. Methylviolett und verwandte Indicatoren werden nur wenig beeinflußt, selbst nicht durch genuine Proteinstoffe, während die zahlreichen Indicatoren der Azogruppe sämtlich so gut wie unbrauchbar sind, wenn einiger-

maßen bedeutende Mengen Proteinstoffe von ausgesprochen kolloidaler Natur gegenwärtig sind. Auch ist es interessant, daß die am wenigsten zusammengesetzten Indicatoren der Azogruppe den kleinsten Fehler bei der colorimetrischen Messung geben. Ja, in solchen Fällen, wo die Versuchsflüssigkeit nicht genuine, sondern z. B. pepsinverdaute oder sonst irgendwie zum Teil abgebaute Proteine enthält, können die einfach zusammengesetzten Indicatoren der Azogruppe oft vollkommen zuverlässige Messungen geben, während die komplizierteren Vertreter dieser Gruppe, z. B. Kongorot, auch hier gar nicht zu gebrauchen sind.

Da diese Tatsachen natürlich bei der Wahl der Indicatoren unter verschiedenen Umständen von allergrößter Wichtigkeit sind, werde ich einige Versuchsreihen mitteilen, welche besser als Worte die Sachlage erläutern werden.

a) Es galt die Messung einer Invertin-Zuckerlösung, welche als Puffer etwas des Glykokollgemisches „8 cem Glykokoll + 2 cem HCl“ enthielt.

Durch elektrometrische Messung wurde gefunden: $p_{H^+} = 3,70$

Durch colorimetrische Messung wurde gefunden:

mittels Benzol-azo-dimethylanilin $p_{H^+} = 3,74$

mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin $p_{H^+} = 3,68$

mittels Kongorot $p_{H^+} = 3,80$

Man ersieht somit, daß in diesem Falle, wo nur sehr kleine Mengen Proteinstoffe gegenwärtig sind, Kongorot sich noch als Indicator verwenden läßt.

b) Es lag zur Messung eine ganz schwach saure, etwa 2%ige Leimlösung vor.

Durch elektrometrische Messung wurde gefunden: $p_{H^+} = 3,60$

Durch colorimetrische Messung wurde gefunden:

mittels Benzol-azo-dimethylanilin $p_{H^+} = 3,57$

mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin $p_{H^+} = 3,61$

mittels Kongorot $p_{H^+} > 5,60^1)$

¹⁾ Mittels der Bezeichnung $p_{H^+} >$ z. B. 5,60 wird gemeint, daß die Versuchsflüssigkeit durch Versetzen mit dem betreffenden Indicator einen Farbenton annahm, welcher an der Grenze oder außerhalb der Übergangsfarbe des Indicators liegt, und eine genaue Messung somit nicht mehr möglich war. Im hier erwähnten speziellen Fall machte das Versetzen mit Kongorot die Versuchsflüssigkeit orangerot, ein etwa der Vergleichsflüssigkeit 0,5 sek., welche im äußersten alkalischen Teil der Übergangszone dieses Indicators liegt, entsprechender Farbenton. Eine analoge Schreibweise wird im folgenden oft angewendet.

Aus diesen Zahlen erhellt erstens, daß die Wasserstoffionenkonzentration der untersuchten Lösung innerhalb desselben Bereichs ($p_H =$ ca. 3 bis ca. 5) liegt, in welchem Kongorot einen vorzüglichen Farbenwechsel hat, und zweitens, daß die colorimetrische Messung mittels dieses Indicators diesem Umstande zum Trotze ein ganz falsches Resultat gegeben hat. Wird zu einer Lösung, wie die hier erwähnte, hinlänglich Säure gegeben, so wird dieselbe natürlich mit Kongorot die Übergangsfarbe der letzteren (rotviolett) geben können; das geschieht aber, wie die folgenden Versuchsreihen dartun, erst nachdem so viel Säure hinzugefügt ist, daß die wahre Wasserstoffionenkonzentration der Lösung weit größer ist als diejenige, welche der besten Übergangzone des Kongorots entspricht.¹⁾

3 Lösungen lagen zur Messung vor: c) eine schwach salzsaure, etwa 2%ige Leimlösung; d) eine schwach schwefelsaure, etwa 2%ige Lösung von Witte-Pepton, und e) eine schwach salzsaure, etwa 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß.²⁾ Die Messungsergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt:

Die angewandte Meßmethode	Der Wert von p_H in		
	c	d	e
Elektrometrische Messung	2,56	2,59	2,49
Colorimetrische Messung:			
mittels Methylviolett	2,61	2,55	2,53
mittels Mauvein	2,58	2,52	2,50
mittels Benzol-azo-anilin	2,65	2,61	2,80
mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-anilin . . .	2,61	2,68	3,07
mittels Benzol-azo-benzylanilin	2,53	2,57	≧ 3,34
mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-benzylanilin	2,69	2,83	≧ 3,68
mittels Kongorot	3,50	3,99	≧ 5,30

Es erhellt aus diesen Versuchsreihen erstens, daß, wie schon oben erwähnt, Kongorot für alle Messungen dieser Art durchaus nicht an-

¹⁾ An dieser Stelle will ich darauf aufmerksam machen, daß Kongorot auch nicht bei den üblichen Titrierungen, z. B. von Mageninhalte, als Indicator zu gebrauchen ist. Es ist schon eingangs (siehe S. 139) bemerkt worden, daß eine gewöhnliche Titrierung Auskunft darüber liefert, wieviel Säure die gegebene Lösung über die Menge hinaus enthält, welche notwendig ist, um der Lösung eine dem Umschlagspunkte des betreffenden Indicators entsprechende Wasserstoffionenkonzentration zu verleihen. Eine solche Titrierung wird ja indessen ganz illusorisch, wenn der Indicator, um seine Farbe zu wechseln, bald diese, bald jene Konzentration der Wasserstoffionen verlangt, je nachdem die betreffende Flüssigkeit einen größeren oder kleineren Gehalt an Proteinstoffen besitzt. Während somit reiner Magensaft sich ohne wesentlichen Fehler mittels Kongorots titrieren läßt, wird in Verdauung begriffener Mageninhalte niemals in dieser Weise genau titriert werden können, und der Fehler wird um so größer sein, je mehr Proteinstoffe gegenwärtig sind, und je weniger vorgeschritten die Verdauung ist. (Vgl. die Versuchserien c, d und e.)

²⁾ Natürliches Hühnereiweiß wird als 12%iges gerechnet.

wendbar ist. Des weiteren ersieht man, daß die anderen Indicatoren der Azogruppe zwar in Gegenwart genuiner Proteinstoffe unbrauchbar sind, dagegen aber wohl benutzt werden können, wenn von Lösungen einigermaßen stark abgebauter Proteinstoffe die Rede ist. Gleichfalls ersieht man, daß der Fehler kleiner ist, wenn man mit den basischen als wenn man mit den sauren Indicatoren arbeitet, und im großen und ganzen auch kleiner beim Gebrauch des einfach zusammengesetzten Benzol-azo-anilins und p-Benzolsulfonsäure-azo-anilins, als beim Gebrauch der entsprechenden komplizierteren Benzylsubstitutionsprodukte. Die einzigen der angewandten Indicatoren, welche in allen Fällen gute Resultate gegeben haben, sind das Methylviolett und das Mauvein.

Die unten in einer Tabelle aufgetragenen Messungen rühren von einem etwas anderen Gebiete der Wasserstoffionenkonzentration her.

4 Lösungen lagen zur Messung vor: f) eine Invertin-Zuckerlösung, welche als Puffer das Citratgemisch „6 ccm Citrat + 4 ccm NaOH“ enthielt; g) eine ganz schwach salzsaure, etwa 2%ige Leimlösung; h) eine ganz schwach salzsaure, etwa 2%ige Lösung von Witte-Pepton und i) eine ganz schwach salzsaure, etwa 2%ige Lösung genuinen Hühnereiweißes:

Die angewandte Meßmethode	Wert von p_H in			
	f	g	h	i
Elektrometrische Messung	5,69	4,98	4,92	5,34
Colorimetrische Messung:				
mittels Benzol-azo- α -naphthylamins . . .	—	4,99	4,96	\approx 5,31
mittels p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthyl- amins	5,66	4,97	4,96	5,07
mittels Alizarinsulfonsäure	5,85	\approx 5,97	5,75	5,61
mittels Lakmoids	5,75	nicht meßbar ¹⁾		
mittels p-Nitrophenols	5,75	—	—	5,39

Es erhellt hieraus, übereinstimmend mit dem oben gefundenen, daß die für diese Versuche verwendeten Indicatoren der Azogruppe zwar bei Lösungen von Leim und Witte-Pepton brauchbar sind, kaum aber in Lösungen genuiner Proteinstoffe. Ferner ersieht man, daß sowohl Alizarinsulfonsäure²⁾ wie Lakmoid unbrauchbar sind, wenn es sich um eine colorimetrische Messung von Lösungen wie die hier in Rede stehenden handelt. Endlich zeigt die letzte Versuchsreihe (i), daß der

¹⁾ Durch den Ausdruck „nicht meßbar“ wird hier und später bezeichnet, daß die Versuchsflüssigkeit durch Versetzen mit dem Indicator solche eigenartigen Farbennuancen angenommen hat, daß dadurch ihre Einreihung unter die Vergleichsfüssigkeiten unmöglich geworden ist.

²⁾ Indem ich im übrigen auf meine Äußerungen in der Einleitung dieser Abhandlung verweise (siehe S. 146), will ich hier nur noch bemerken, daß sowohl Kongorot als auch Alizarinsulfonsäure unter den in der Hauptabhandlung Salms (Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 471, 1906, Tabelle der Farbenumschläge II) besonders hervorgehobenen Indicatoren zu finden sind.

Indicator p-Nitrophenol sich für colorimetrische Messungen eignet, selbst wenn man es mit Lösungen von genuinen Proteinstoffen zu tun hat. Unten wird eine Reihe von Messungen angeführt, welche mittels dieses einfach zusammengesetzten, vorzüglichen Indicators ausgeführt sind.

Die gemessene Lösung	Wert von p_H gefunden durch	
	elektr. Mess.	color. Mess. mitt. p-Nitrophenol
Invertin-Zuckerlösung mit Citratgemisch als Puffer	5,69	5,75
Phosphathaltige, ca. 2%ige Leimlösung	5,65	5,68
Eine zweite, ähnliche Leimlösung	6,22	6,19
Eine dritte, ähnliche Leimlösung	6,87	6,88
Etwa 2%ige Lösung von Witte-Pepton mit ein wenig 0,1 n-NaOH	6,64	6,65
Eine zum Teil pepsinverdaute Lösung von Hühnereiweiß	6,06	6,10
Eine ganz schwach salzsaure etwa 2%ige Lösung genuinen Hühnereiweißes	5,34	5,39
Eine ähnliche Lösung genuinen Hühnereiweißes	6,26	6,27

Im folgenden werde ich etwas ausführlicher einen kleinen Versuch beschreiben, welcher leicht nachzumachen und in mehreren Beziehungen ganz lehrreich ist.

Werden 40 ccm einer 0,5%igen Lösung genuinen Hühnereiweißes mit 10 ccm 1 n-Salzsäure vermischt, und wird diese Lösung sofort nach dem Vermischen mit dem Indicator p-Benzolsulfonsäure-azodiphenylamin (Tropäolin 00) versetzt, so nimmt die Lösung eine rote Farbe an; diese verändert sich aber bald und geht nach und nach im Laufe von etwa einer Stunde in rein Gelb über. Dieser Wechsel der Farbe rührt nicht von einer meßbaren Änderung der Wasserstoffionenkonzentration her, und auch nicht davon, daß das genuine Eiweiß nach und nach sich mit dem Farbstoff vereinigt, sondern von der Bildung von Acidalbumin, welches den Indicator in noch höherem Maße bindet, als es genuines Eiweiß tut. Man wird auch sehen, daß, wenn man die obengenannte salzsaure Eiweißlösung einige Zeit stehen läßt und erst dann mit Tropäolin 00 versetzt, daß sie sofort gelb wird. Es ist recht interessant, daß man in dieser einfachen Weise die vorschreitende Acidalbuminbildung von Stufe zu Stufe verfolgen kann.

Versetzt man eine frisch zubereitete, salzsaure Eiweißlösung wie die oben erwähnte mit ein wenig gekochter Pepsinlösung, so wird die beschriebene Erscheinung denselben Verlauf wie oben nehmen; anders geht es aber, wenn man ungekochte, somit proteolytisch wirksame Pepsinlösung statt der gekochten zugibt. Die Acidalbuminbildung wird zwar wie früher vorschreiten, aber zu gleicher Zeit wird das Pepsin, auch bei Zimmertemperatur, das gebildete Acidalbumin in weniger komplizierte Körper spalten, welche den erwähnten Indicator nur in geringem Maße binden. Der Farbenwechsel von Rot zu Gelb wird infolgedessen, wenn

ungekochtes Pepsin zugegeben wird, viel langsamer vor sich gehen und zuletzt, wenn der Pepsinabbau die Oberhand bekommt, halt machen, wonach die Flüssigkeit nach und nach wieder rot wird, während die mit gekochtem Pepsin versetzte Lösung im Gegensatz dazu selbstverständlich unverändert gelb bleibt. Diese Farbenveränderungen sind leicht zu verfolgen, auch bei Zimmertemperatur, verlaufen aber viel schneller bei 37°.

Um einen Begriff über die Größe der in Rede stehenden scheinbaren Ionenkonzentrationsänderungen zu geben, werde ich einige vereinzelte Messungsergebnisse mitteilen:

Zwei Lösungen wurden dargestellt:

A: 35 ccm 4%ige Eiweißlösung + 231 ccm Wasser + 70 ccm n-Salzsäure + 14 ccm gekochte Pepsinlösung (1 g Pepsin [Langebek] in 125 ccm 0,01 n-Salzsäure).

B: Dieselben Mengen, nur ungekochte Pepsinlösung.

Die beiden Lösungen A und B gaben sowohl unmittelbar nach dem Vermischen, als auch nachdem sie über Nacht gestanden hatten (gleichgültig ob bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten bei 37°) bei der elektrometrischen Messung:

$$p_{\text{H}} = 0,71 \text{ bis } 0,74.$$

Die Konzentration der Wasserstoffionen ist demnach durch die Pepsinverdauung nicht in nachweisbarem Maße verändert worden. Die colorimetrische Messung mittels Methylvioletts, welches in Gegenwart genuinen Eiweißes richtige Resultate und auch, wenn Acidalbumin ins Spiel tritt, beinahe richtige Resultate liefert, hat in guter Übereinstimmung damit gegeben:

Sogleich nach dem Vermischen . . . A: $p_{\text{H}} = 0,75$; B: $p_{\text{H}} = 0,75$,
Nach Stehenlassen über Nacht bei 37°: " " = 0,82; " " = 0,75.

Durch Messung mittels Tropäolin 00 wurde dagegen gefunden:

	A	B
Sogleich nach dem Vermischen . . .	$p_{\text{H}} = 1,72$ (rot)	$p_{\text{H}} = 1,71$ (rot)
Bei Zimmertemperatur gestanden in		
2 Minuten	$p_{\text{H}} = 1,79$	
6 "	1,93	1,79
10 "		1,88
14 "	2,11	
19 "		1,97
30 "	2,52	2,07
1 Stunde	ca. 2,61 (gelb)	2,22
1½ Stunden	Lösung rein gelb	2,28
2½ "	"	2,42 (gelb)
24 "	"	1,88
48 "	"	1,46 (stark rot)

Werden alle die in diesem Abschnitte und besonders die im letzten Unterabschnitte besprochenen Fehlerquellen der colori-

metrischen Messung mit in Betracht gezogen, so erkennt man die Notwendigkeit einer wachsamten Kritik bei der Wahl der Indicatoren, sowie daß es bisweilen erforderlich sein kann, die Anwendbarkeit der gewählten Indicatoren für die Messung der eben vorliegenden Art von Lösungen durch Vergleichung der Ergebnisse der colorimetrischen Messung mit denen der elektrometrischen festzustellen. Es erhebt sich nun die Frage, welche Übereinstimmung zwischen den colorimetrischen und den elektrometrischen Ergebnissen zu verlangen sei, um den Indicator als brauchbar bezeichnen zu können. Es ist früher (S. 200) erwähnt worden, daß man bei der elektrometrischen Messung proteinstoffhaltiger und ähnlicher Lösungen kaum mit einer größeren Genauigkeit als $\pm 0,05$ im Werte der Wasserstoffionenexponenten rechnen darf. Die colorimetrische Messung kann indessen ihrem ganzen Prinzip zufolge nie so scharf wie die elektrometrische werden, und übrigens ist ihre Genauigkeit nur mit der elektrometrischen Messung als Standardmethode bestimmt. Wir sind deshalb der Ansicht, daß ein Indicator als unter den vorliegenden Umständen vorzüglich geeignet anzusehen ist, wenn die Ergebnisse der colorimetrischen Messung von denen der elektrometrischen im Werte des Wasserstoffionenexponenten nicht mehr als $\pm 0,1$ abweichen. Ist die Abweichung größer als $\pm 0,1$, aber kleiner als $\pm 0,2$, dann läßt sich der Indicator für orientierende Messungen noch gebrauchen; ist aber die Abweichung wesentlich größer als $\pm 0,2$, so muß der Indicator als unbrauchbar betrachtet werden.

c) Die untersuchten Indicatoren.

Der Übersichtlichkeit halber habe ich die Indicatoren in fünf Gruppen geteilt; als Einteilungsgrund hat vor allen Dingen die Lage des Umschlagspunktes, und erst nachher auch der chemische Bau des Indicators gedient.

1. Indicatoren der Methylviolettgruppe (den Bereich der Wasserstoffionenkonzentrationen $p_{\text{H}^+} = 0,1$ bis $3,2$ beherrschend).

2. Indicatoren der Azogruppe ($p_{\text{H}^+} = 1,2$ bis $5,7$).

3. Indicatoren der Phosphatgemische ($p_{\text{H}^+} = 4,4$ bis $8,9$).

4. Indicatoren der Phthaleingruppe ($p_{\text{H}} = 8,3$ bis $10,5$).

5. Indicatoren des alkalischen Wendepunkts ($p_{\text{H}} = 10,1$ bis $12,7$).

Man ersieht, daß die Umschlagszone der einzelnen Gruppen in den Bereich der nächsten Gruppe derart eingreift, daß diese fünf Gruppen zusammengenommen den ganzen Bereich der Wasserstoffionenkonzentrationen von $p_{\text{H}} = 0,1$ bis auf $p_{\text{H}} = 12,7$ umspannen. Indicatoren, deren Umschlagspunkt bei Konzentrationen mit noch höheren Wasserstoffionenexponenten liegt, haben wir nicht untersucht, weil die entsprechenden, stark alkalischen Flüssigkeiten für die enzymatischen Prozesse so gut wie ohne jegliche Bedeutung sind.

Jede dieser Indicatorgruppen wird unten eine nähere Besprechung finden, und in den Tabellen VIII bis XV findet man für eine passende Auswahl hauptsächlich der besten Indicatoren in jeder Gruppe eine Zusammenstellung der im vorhergehenden öfters erwähnten vergleichenden elektrometrischen und colorimetrischen Messungen von Lösungen, welche bei enzymatischen Prozessen von besonderem Interesse sind.

Die Tabellen sind ohne weitere Erklärung verständlich; nur muß ich darauf aufmerksam machen, daß die zwei Zahlen, welche unter jedem Indicator in Parenthese angeführt sind, diejenigen Werte von p_{H} angeben, zwischen welchen der betreffende Indicator einen brauchbaren Umschlag hat. Damit sei nicht gesagt, daß der Indicator außerhalb dieses Bereiches der Ionenkonzentrationen gar keinen Farbenwechsel zeigt, und auch nicht, daß der Übergang innerhalb dieses Bereichs überall gleich scharf ausgesprochen sei; die Absicht ist lediglich, die etwaigen Grenzen anzugeben, innerhalb welcher wir den betreffenden Indicator brauchbar befunden haben. Die Deutlichkeit des Umschlages hängt nämlich von verschiedenen Umständen ab, z. B. von der Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit, welche die Färbung der Vergleichsflüssigkeiten bedingt und gewöhnlich, um die etwaigen Unterschiede zwischen der Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit und der künstlichen Färbung der Vergleichsflüssigkeiten zu verbergen, die Anwendung einer größeren Indicatormenge verlangt. Daß solche Umstände die Deutlichkeit des Umschlages in den verschiedenen Teilen der Übergangszone

ungleich beeinflussen können, wird selbstverständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß z. B. bei Messung einer gelben Flüssigkeit der Indicatorübergang „gelb—orange—rot—violett“ natürlich am stärksten im gelb-orangen Teil verwischt.

Unter den einzelnen Gruppen findet sich die Zusammensetzung einer Reihe der Indicatorlösungen, welche von uns gebraucht worden sind, und die Zahl von Tropfen dieser Lösungen, welche wir für jede 10 ccm Versuchs- oder Vergleichsflüssigkeit zu verwenden praktisch gefunden haben; diese Zahl ist dem oben Gesagten zufolge somit etwas wechselnd, und zwar gewöhnlich je größer, desto stärker gefärbt die Versuchsflüssigkeit ist.

Dagegen wird man über die Übergangsfarben der verschiedenen Indicatoren keine Anzeichen finden, weil es sich hier um eine Reihe solcher Farbennuancen handelt, welche durch Zutropfeln des Indicators zu einer passenden Reihe von Vergleichsflüssigkeiten (den durch die unter dem Indicator angegebenen Wasserstoffionenexponenten begrenzten Bereich beherrschend) leicht dargestellt werden können, deren genaue Beschreibung aber unmöglich ist.

Es möge mir erlaubt sein, auch an dieser Stelle meinen warmen Dank abzustatten sowohl an Herrn Prof. Dr. E. Biilmann als auch an die Firmen Dr. G. Grübler & Co., Leipzig, Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, Höchst a. M., Leopold Cassella & Co., Frankfurt a. M., und Anilinfarben- und Extrakt-Fabriken vorm. Joh. Rud. Geigy, Basel, welche mir mit großer Liebenswürdigkeit Indicatoren oder Ausgangsmaterialien zur Darstellung solcher zur Verfügung gestellt haben. 1. Indicatoren der Methylviolettgruppe ($p_H = 0,1$ bis $3,2$). Diese Gruppe ist nach dem wichtigsten der hierher gehörigen Indicatoren benannt, welche sämtlich durch eine Reihe gemeinsamer Eigenschaften miteinander verknüpft sind. Gemeinsam für diese Indikatoren ist somit der große Bereich von Wasserstoffionenkonzentrationen, welchen sie beherrschen, gemeinsam sind ebenfalls die charakteristischen Farbenübergänge: gelb—gelbgrün—grün—blaugrün—blau—violett, welche sie bei anwachsendem Wasserstoffionenexponenten zeigen. Gemeinsam endlich ist die Änderung der Stärke und der Nuance der Indicatorfarbe, welche früher (siehe S. 213) erwähnt worden ist, und

Tabelle VIII. Indicatoren der Methylviolettgruppe.

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektrom. gefundenes		Methylviolett (0,1 bis 3,2)		Mauvein (0,1 bis 2,9)		Gentiana-violett (0,4 bis 2,7)		Methylgrün (0,1 bis 2,3)	
		p_H	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H
Invertin - Rohrzucker - Citronensäure-Citrat (0,4 mol.-Citrate)	Keine Färbung	2,34	2,40	Vorzüglicher Umschlag	2,40	Guter Umschlag	—	—	—	1,88	Ziemlich gut. Umschlag
Invertin - Rohrzucker - Glykokoll-Salzsäure	$\frac{3}{4}$ Tr. Bismarek-braun	2,77	2,86	Recht guter Umschlag	2,81	Recht guter Umschlag	—	—	—	—	—
Salzsäure, 2% ige Leimlösung + NaCl (0,1 n-Chlorid)	$\frac{2}{3}$ Tr. Curcumin $\frac{1}{4}$ Tr. Bismarekbraun	1,39	1,47	Vorzüglicher Umschlag	1,47	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	1,42	Recht guter Umschlag
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	1,86	1,88	do.	1,89	do.	—	—	—	2,00	do.
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	2,56	2,61	do.	2,58	do.	2,55	Recht guter Umschlag	—	—	—
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	3,07	3,07	Ziemlich gut. Umschlag	3,11	Mäßiger Umschlag	—	—	—	—	—
Schwefelsäure, 2% ige Lösung von Witte-Pepton + Na ₂ SO ₄ (0,26 n-Sulfat)	$\frac{2}{3}$ Tr. Tropäolin 0 1 Tr. Bismarekbraun	1,30	1,36	Vorzüglicher Umschlag	1,38	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	1,35	Mäßiger Umschlag
do. (0,2 n-Sulfat)	do.	1,79	1,86	do.	1,88	do.	—	—	—	1,76	Ziemlich gut. Umschlag
do. (0,16 n-Sulfat)	do.	2,59	2,55	do.	2,52	do.	2,53	Recht guter Umschlag	—	—	—
do. (ohne Na ₂ SO ₄)	do.	1,51	1,71	do.	1,72	do.	1,71	Guter Umschlag	—	—	—
do. + Na ₂ SO ₄ (0,3 n-Sulfat)	do.	1,87	1,85	do.	1,86	do.	1,86	do.	—	—	do.
do. (0,85 n-Sulfat)	do.	2,03	2,07	do.	2,11	do.	2,02	do.	—	—	do.

Salzsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton (ohne NaCl)	do.	1,68	1,76	do.	1,75	do.	1,72	do.	1,70	do.
do. + Natriumchlorid (0,3 n-Chlorid)	do.	1,65	1,67	do.	1,65	do.	1,57	do.	1,47	do.
do. + Natriumchlorid (0,85 n-Chlorid)	do.	1,48	1,38	do.	1,41	do.	1,42	do.	1,21	do.
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin-gespaltene-m Hühnerweiß + NaCl (1,0 n-Chlorid)	3 Tr. Hellanthin II	2,40	2,25	do.	2,25	do.	2,35	do.	2,00	do.
do.	do.	1,57	1,39	do.	1,47	do.	1,46	do.	1,21	do.
(1,0 n-Chlorid)	do.	1,30	1,17	do.	1,22	do.	—	—	1,12	do.
(0,33 n-Chlorid)	do.	1,21	0,89	do.	0,92	do.	0,96	Guter Umschlag	0,84	do.
(1,0 n-Chlorid)	do.	0,76	0,62	do.	0,66	do.	0,66	do.	0,58	do.
(1,0 n-Chlorid)	do.	—	—	do.	—	do.	—	—	—	do.
Schwefelsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin-gespal-tenem Hühnerweiß + Na ₂ SO ₄ (0,1 n-Sulfat)	1 Tr. Hellanthin II 1 Tr. BaSO ₄	2,18	2,20	do.	2,22	do.	2,22	do.	2,18	do.
do.	do.	2,38	2,32	do.	2,33	do.	2,35	do.	2,22	do.
(0,3 n-Sulfat)	do.	2,51	2,40	do.	2,39	do.	2,40	do.	2,22	do.
(0,86 n-Sulfat)	do.	—	—	do.	—	do.	—	—	—	do.
Salzsäure, ca. 1,5%ige Lösung von zum Teil pepsin-gespaltenem Casein + NaCl (0,064 n-Chlorid)	1 Tr. Hellanthin II 1/4 Tr. Bismarckbraun	1,60	1,75	do.	1,71	do.	1,72	do.	1,71	do.
do.	do.	1,59	1,56	do.	1,57	do.	1,60	do.	1,50	do.
(0,3 n-Chlorid)	do.	2,92	3,00	Ziemlich gut. Umschlag	2,92	Ziemlich gut. Umschlag	2,98	Mäßiger Umschlag	—	—
(0,1 n-Chlorid)	do.	2,90	2,81	do.	2,77	do.	2,83	do.	—	—
(0,3 n-Chlorid)	do.	—	—	do.	—	do.	—	do.	—	—

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektronen- gefundenes		Methylviolett (0,1 bis 3,2)		Mauvein (0,1 bis 2,9)		Gentiana- violett (0,4 bis 2,7)		Methylgrün (0,1 bis 2,3)	
		p_H	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß (ohne NaCl)	3 Tr. Curcumein	2,49	2,53	Vorzüglicher Umschlag	2,50	Vorzüglicher Umschlag	2,48	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—
do. (ohne NaCl)	2 Tr. Helianthin II 1 Tr. Tropäolin 0	2,00	2,18	do.	2,14	do.	—	—	2,07	Ziemlich gut. Umschlag	—
do. + NaCl (0,18 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II 1 Tr. BaSO ₄	1,19	1,38	do.	1,38	do.	—	—	1,25	do.	—
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von Acidalbumin aus Hühner- eiweiß (ohne NaCl)	3 Tr. Bismarckbraun 4 Tr. BaSO ₄	0,99	1,35	Ziemlich gut. Umschlag	—	—	—	—	—	—	—
do. (stark unklar) (ohne NaCl)	1 Tr. Bismarckbraun 15 Tr. BaSO ₄	0,45	0,49	Mäßiger Umschlag	—	—	—	—	—	—	—
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von Acidalbumin aus Hühner- eiweiß + NaCl (0,18 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II 1 Tr. BaSO ₄	1,19	1,79	Guter Umschlag	1,79	Guter Umschlag	—	—	—	—	Recht guter Umschlag
Salzsaures Filtrat von Acid- albumin (ohne NaCl)	5 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	0,71	0,79	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—	—	—	do.
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von Casein (ohne NaCl)	1 Tr. BaSO ₄	1,60	2,18	do.	2,16	Vorzüglicher Umschlag	2,14	Guter Umschlag	1,83	do.	—
Salzsäure, ca. 0,5%ige Lösung von Casein + Pepsin + NaCl (0,2 n-Chlorid)	Keine Färbung	0,90	—	—	0,92	do.	—	—	—	—	—

die gleichfalls früher beschriebene große Empfindlichkeit Neutralsalzen gegenüber (siehe S. 209).

a) Methylviolett [die Handelsware: „Methylviolett 6 B extra“, Schultz Nr. 430¹⁾]; (p_{H^+} = 0,1 bis 3,2); 0,1 g in 1 l Wasser (schwache Lösung); 0,5 g in 1 l Wasser (starke Lösung). Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden für p_{H^+} = 0,1 bis 1,5: 8 bis 3 Tropfen starke Lösung, für p_{H^+} = 1,5 bis 3,2: 10 bis 4 Tropfen schwache Lösung.

b) Mauvein (G. Grübler & Co., Leipzig, Schultz Nr. 625); (p_{H^+} = 0,1 bis 2,9); 0,1 g in 1 l Wasser (schwache Lösung); 0,5 g in 1 l Wasser (starke Lösung). Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden für p_{H^+} = 0,1 bis 1,5: 8 bis 3 Tropfen starke Lösung, für p_{H^+} = 1,5 bis 2,9: 10 bis 4 Tropfen schwache Lösung gegeben.

c) Gentianaviolett (Handelsware) (p_{H^+} = 0,4 bis 2,7); 0,1 g in 1 l Wasser (schwache Lösung); 0,5 g in 1 l Wasser (starke Lösung). Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden für p_{H^+} = 0,4 bis 1,5: 8 bis 3 Tropfen starke Lösung, für p_{H^+} = 1,5 bis 2,7: 10 bis 5 Tropfen schwache Lösung gegeben.

d) Methylgrün (Grübler & Co., Leipzig, Schultz Nr. 456); 0,5 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 4 bis 10 Tropfen gegeben.

Es könnte noch eine Reihe Indicatoren angeführt werden, welche bei den hier in Rede stehenden großen Wasserstoffionenkonzentrationen einen deutlichen Umschlag haben, und zwar erstens Bittermandelölgrün (Schultz Nr. 403), welches sich eng an die Indicatoren der Methylviolettgruppe anschließt, und zweitens mehrere außerhalb der Gruppe stehende Indicatoren, z. B. Acridinorange R. extra (Schultz Nr. 506), Curcumein (Schultz Nr. 98), Echtgelb By (Schultz Nr. 94) und Neutralrot (Schultz Nr. 599); aber keiner derselben besitzt einen so schönen Übergang wie jene der vier oben angeführten.

Aus der Tabelle VIII geht hervor, daß der Umschlag des Methylvioletts und der des Mauveins vorzüglich ist, der des Gentianavioletts ein recht guter und der des Methylgrüns ein etwas weniger guter.

Der Hauptfehler bei Messungen mittels dieser Indicatoren liegt in der „Neutralsalzwirkung“, was aus der Tabelle leicht zu ersehen ist, in der die gemessenen salzarmen Lösungen ein zu hohes p_{H^+} , die salzreichen, besonders die Kochsalzreichen, dagegen ein zu niedriges p_{H^+} geben. Die drei ersten Indicatoren verhalten sich in dieser Beziehung ungefähr gleich; das Methyl-

¹⁾ Hinweis auf die Nummer des Indicators in Gustav Schultz und Paul Julius, Tabellarische Übersicht der im Handel befindlichen künstlichen organischen Farbstoffe, 4. Aufl., herausg. von Dr. Gustav Schultz, Berlin 1902.

grün wird durch Neutralsalze besonders stark beeinflusst (siehe auch S. 210).

Wie früher (S. 215) berührt, und wie es aus dem letzten Teil der Tabelle hervorgeht, geben diese Indicatoren bei der Messung von Lösungen genuiner oder ähnlicher ausgesprochen kolloidaler Proteinstoffe zwar nicht immer fehlerfreie Resultate, andererseits aber geht der Fehler stets in derselben Richtung und ist gewöhnlich nicht größer, als daß man sich mittels dieser Indicatoren, unter Anwendung einer den Umständen angemessenen Korrektur, eine Schätzung der Größe der Wasserstoffionenkonzentration machen kann. Da außerdem so gut wie alle anderen Indicatoren, welche im hier erwähnten, für die Pepsinverdauung so überaus wichtigen Bereich der Wasserstoffionenkonzentrationen einen deutlichen Umschlag haben, unbrauchbar bei der Messung von Lösungen solcher stark kolloidalen Proteinstoffe sind, welche eben bei der Pepsinspaltung zur Verwendung kommen, so ist man bei Untersuchungen über diesen Prozeß auf die hier erwähnten Indicatoren angewiesen.

Aus den oben angeführten Gründen bevorzugen wir Methylviolett und Mauvein, und diese beiden Indicatoren haben ihren Mängeln zum Trotz sehr gute Dienste bei orientierenden Messungen geleistet, welche ausgeführt wurden, um den Plan zu einigen von Herrn E. Jürgensen ausgeführten Versuchsreihen über die Pepsinspaltung zu entwerfen, bei denen die endgültigen Messungen elektrometrisch gemacht wurden (siehe auch S. 290).

2. Indicatoren der Azogruppe ($p_{\text{H}^{\cdot}} = 1,2$ bis $5,7$). Diese Indicatorgruppe umfaßt eine zahlreiche Reihe teils basischer, teils saurer Azofarbstoffe, welche durch eine analoge chemische Zusammensetzung und durch die dadurch bedingten analogen Farbenübergänge: gelb — orange — rot — violett, welche diese Indicatoren bei abnehmenden Wasserstoffionenexponenten zeigen, miteinander verknüpft sind.

Die bekanntesten Indicatoren dieser Gruppe sind p-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin (Tropäolin 00), dessen Übergangzone bei $p_{\text{H}^{\cdot}} = 1,4$ bis $2,6$ liegt, und p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin. (Methylorange, Tropäolin D) mit Übergangzone $p_{\text{H}^{\cdot}} = 3,1$ bis $4,4$. Diese beiden

Indicatoren leiten sich von dem p-Benzolsulfonsäure-azoanilin ab, dessen Übergangzone wir bei $p_H = 1,9$ bis $3,3$ gefunden haben; man sieht demnach, daß die Einführung der verhältnismäßig elektronegativen Phenylgruppe den Umschlagspunkt ein Stück nach der einen Seite verschoben, während die Einführung zweier Methylgruppen die entgegengesetzte Wirkung gehabt hat. Es lag somit nahe, zu versuchen — mittels eines angemessenen Ausgangsmaterials — eine neue Reihe Indicatoren des hier erwähnten Typus aber mit verschiedenen Umschlagspunkten darzustellen. Mit diesem Ziel im Auge haben wir diese Indicatorengruppe besonders sorgfältig durchgearbeitet, indem wir nicht nur eine Reihe Indicatoren, welche sich von der diazotierten Sulfanilsäure ableiten, dargestellt haben, sondern auch viele der entsprechenden basischen Azokörper, welche man in analoger Weise aus diazotiertem Anilin oder Toluidin erhalten kann.¹⁾ Daß es von großem Wert ist,

¹⁾ Das bei der Darstellung von den zu den Reihen I oder IV (siehe S. 230) gehörigen Indicatoren befolgte Verfahren war in großen Zügen das folgende: $\frac{1}{20}$ g-mol. Sulfanilsäure wurde in der berechneten Menge n-Natriumhydroxyd gelöst und ein wenig mehr als $\frac{1}{20}$ g-mol. Natriumnitrit zugegeben. Nach vollendeter Lösung des letzteren wurde durch Eis gekühlt und 50 ccm 2 n-Schwefelsäure in dünnem Strahle eingegossen. Die dadurch unter Umschütteln niedergeschlagene Diazoverbindung stand $\frac{1}{2}$ Stunde in Eiswasser, wurde danach mittels der Wasserstrahlpumpe abfiltriert und zweimal mit kaltem Wasser gewaschen.

Der in 50 ccm n-Natriumhydroxyd aufgeschwemmte, größtenteils gelöste Diazokörper wurde in eine wässerige oder schwach alkoholische Aufschwemmung des betreffenden Amins gegossen, und nach und nach bei gewöhnlicher Temperatur ein Überschuß von 5 n-Salzsäure zugegeben. Die Reaktion fing sofort an; es dauerte aber bisweilen mehrere Stunden, bis sie scheinbar zu Ende gegangen war, wonach der ausgeschiedene Niederschlag abfiltriert und gewaschen wurde. Durch Lösung in Natrium- oder Kaliumhydroxyd und mehrmaliges Umkrystallisieren des gebildeten Salzes wurde der Körper gereinigt.

Für die Darstellung der zu den Reihen II, III, V und VI gehörigen Indicatoren wurde als Ausgangsmaterial Diazobenzolanilin bzw. p-Diazotoluol-p-toluidin benutzt, welche nach V. Meyer und G. Ambühl (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 8, 1074. Anm., 1875) durch Lösung von 1 Mol. Amylnitrit und 2 Mol. Anilin bzw. p-Toluidin in einem großen Überschuß von Äther und Stehenlassen der Lösung bei Zimmertemperatur hergestellt wurden. Der beim Verdunsten des Äthers gebildete Krystallkuchen der Diazoverbindung wurde abgesaugt und ein paarmal mit Äther gewaschen.

über eine reichhaltige Auswahl von Indicatoren zu verfügen, ist leicht verständlich, wenn man sich erinnert, daß der Umschlag des Indicators, wie schon früher berührt, nicht über die ganze Umschlagszone gleich scharf ist, sondern gewöhnlich am besten in der Mitte derselben.

Unten findet sich eine Reihe der dieser Gruppe angehörig — darunter auch einige der wichtigsten hier im Laboratorium dargestellten, mit * bezeichneten — Indicatoren zusammengestellt; die in Klammern angeführten zwei Zahlen bezeichnen den Grenzwert der Wasserstoffionenexponenten der Umschlagszone. Die Indicatoren zerfallen in 6 verschiedene Reihen:

- I. $\text{HOSO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (p-Benzolsulfonsäure-azo-aniline),
 II. $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (Benzol-azo-aniline),
 III. $\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (p-Toluol-azo-aniline),
 IV. $\text{HOSO}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamine),
 V. $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (Benzol-azo- α -naphthylamine),
 VI. $\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{N} : \text{N} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_6 \cdot \text{NR}_1\text{R}_2$ (p-Toluol-azo- α -naphthylamine).

Reihe I	$\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{C}_6\text{H}_5$	(1,4—2,6)
„ II	do. do.	(1,2—2,1)
„ III	do. do.	(1,0—2,0)
* „ V	do. do.	(1,4—2,6)
* „ VI	do. do.	(1,1—1,9)

*Reihe I	$\text{R}_1 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$	(1,9—3,3)
* „ II	do. do.	(2,3—3,3)
* „ III	do. do.	(1,6—2,8)
* „ V	do. do.	(1,9—2,9)
* „ VI	do. do.	(1,6—2,6)

Der Diazokörper, gewöhnlich in stärkerem oder schwächerem Alkohol gelöst, wurde mit dem betreffenden Amin und Salzsäure wie oben behandelt. Nach beendeter Reaktion wurde der Alkohol gewöhnlich durch Wasserdampf abdestilliert, und die freie Indicatorbase durch Ammoniak niedergeschlagen, wonach sie mittels mehrmaligen Umkrystallisierens aus passend verdünntem Alkohol gereinigt wurde.

*Reihe	I	$R_1 = H;$	$R_2 = H$	(1,9—3,3)
„	II	do.	do.	(1,9—3,3)
*	IV	do.	do.	(3,5—5,7)
*	V	do.	do.	(3,7—5,0)
*	VI	do.	do.	(3,7—5,0)
—————				
*Reihe	I	$R_1 = H;$	$R_2 = CH_3$	(3,1—4,2)
*	„	I	do.	$R_2 = C_2H_5$ (3,1—4,4)
„	I	$R_1 = CH_3;$	$R_2 = CH_3$	(3,1—4,4)
*	„	I	$R_1 = C_2H_5;$	$R_2 = C_2H_5$ (3,5—4,5)
„	II	$R_1 = CH_3;$	$R_2 = CH_3$	(2,9—4,0)
*	„	IV	do.	do. (5,0—5,7)
*	„	V	do.	do. (4,8—5,5)

Ein paar der hierher gehörigen, aber außerhalb der 6 Reihen stehende Indicatoren sind hier noch zu erwähnen:

m-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin (1,2—2,3),

*o-Toluol-azo-o-toluidin (1,4—2,9),

*p-Benzolsulfonsäure-azo-metachlordiäthylanilin (2,6—4,0).

Aus dieser Übersicht erhellt, daß es möglich ist, mittels passender Änderung in der Zusammensetzung des Indicators die Lage des Umschlagspunktes zu verschieben, und es ist nicht schwierig gewesen, unter der oben angeführten reichen Auswahl eine Reihe ausgezeichnete Indicatoren mit über die ganze Umschlagszone der Azogruppe verteilten Umschlagspunkten zu finden. Die Hoffnung erscheint nicht ungerechtfertigt, daß eine ähnliche systematische Bearbeitung anderer der Indicatorgruppen zur Darstellung neuer Indicatoren führen kann, deren Umschlagspunkte eben bei denjenigen Ionenkonzentrationen liegen, wo ein Bedürfnis nach besseren und schärferen Indicatoren, als die bis jetzt gekannten, sich noch fühlbar macht.

Aus der Übersicht ist ebenfalls zu ersehen, daß die Gegenwart der Sulfosäuregruppe im diazotierten aromatischen Amin auf die Lage des Umschlagspunktes keinen wesentlichen Einfluß hat, weil die Indicatoren der Reihen I und IV beinahe dieselben Umschlagspunkte wie die entsprechenden Reihen II und V haben. Dies deutet darauf hin, daß der Indicatorumschlag, was die sauren Azoindicatoren betrifft, nicht, wie früher gewöhnlich angenommen, vom Umfange der Salzbildung bei der Sulfosäuregruppe und von der dieselbe begleitenden elektro-

lytischen Dissoziation abhängt. Wahrscheinlicher ist es, übereinstimmend mit den neueren Ansichten¹⁾ — auf welche näher einzugehen zu weit führen würde —, anzunehmen, daß der Umschlag, sowohl was die sauren als auch was die basischen Indicatoren betrifft, eine gemeinschaftliche Ursache hat, welche in der Umbildung der Aminogruppe in Ammoniumsalz zu suchen wäre, wodurch das trivalente Stickstoffatom fünfwertig wird.

Endlich ist ersichtlich, daß die Derivate des p-Toluols (Reihe III und VI) durchgehends Umschlagspunkte haben, welche einem etwas niedrigeren Wasserstoffionenexponenten entsprechen als denjenigen, bei welchen die analogen Benzolderivate (Reihe II und V) ihre Farbe wechseln. Da ferner die p-Toluolderivate meistens williger als die entsprechenden Benzolverbindungen krystallisieren und mithin leichter in absolut reinem Zustand erhältlich sind, könnte man geneigt sein, zu erwarten, in den Toluolverbindungen einen wertvollen Zuwachs der Azoidicatoren zu finden. Das ist indessen nicht der Fall, da diese Körper gewöhnlich noch leichter und schneller als die Benzolderivate ausgeschieden werden, wenn ihre alkoholischen Lösungen zu wässerigen Flüssigkeiten geträpelt werden, ein Umstand, der wie früher (siehe S. 215) erwähnt, eine genaue colorimetrische Messung mittels dieser Indicatoren wohl nicht geradezu unmöglich, aber doch ziemlich schwierig macht. Im ganzen genommen haben wir die Erfahrung gemacht, daß, wenn alles übrige gleich bleibt, der am einfachsten zusammengesetzte Indicator vorzuziehen ist, und zwar weil die im vorhergehenden Abschnitte besprochenen Nachteile sich gewöhnlich bei den kompliziert gebauten Körpern stärker als bei den einfacheren geltend machen. Andererseits ist natürlich die Deutlichkeit des Umschlages auch von Belang bei der Wahl eines Indicators, und in dieser Beziehung lassen die einfach gebauten Indicatoren oft zu wünschen übrig (vergleiche unten).

In den Tabellen IX bis XI ist eine Reihe vergleichender elektrometrischer und colorimetrischer Messungen eingetragen, und zwar sind als Repräsentanten der zur Azogruppe gehörenden Indicatoren die folgenden 14 gewählt worden:

¹⁾ Siehe z. B. N. Bjerrum, Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter [7], 4, 26, 1906,

a) Benzol-azo-diphenylamin (Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, Höchst a. M., das Rohmaterial 3 mal aus 80%igem Alkohol umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 1,2$ bis 2,1); 0,1 g gelöst in 10 ccm n-Salzsäure + 500 ccm Alkohol 93% + Wasser bis 1 Liter. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 6 bis 15 Tropfen gegeben.

b) p-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin (das Kaliumsalz, Tropäolin 00, Schultz Nr. 97; die Handelsware 3 mal aus Wasser umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 1,4$ bis 2,6); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 5 Tropfen gegeben.

c) m-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin (das Natriumsalz, Metaningelb extra, Schultz Nr. 91; die Handelsware 3 mal aus Wasser umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 1,2$ bis 2,3); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 5 Tropfen gegeben.

d) o-Toluol-azo-o-toluidin (eigene Darstellung), ($p_{\text{H}} = 1,4$ bis 2,9); 0,2 g wurden in 20 ccm 0,1 n-Salzsäure + 500 ccm Alkohol + 480 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 6 bis 12 Tropfen gegeben.

e) Benzol-azo-anilin (Anilingelb, Schultz Nr. 16; die Handelsware wurde 2 mal aus 65%igem Alkohol umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 1,9$ bis 3,3); 0,2 g wurden in 20 ccm 0,1 n-Salzsäure + 350 ccm Alkohol + 630 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 6 bis 12 Tropfen gegeben.

f) p-Benzolsulfonsäure-azo-anilin (das Kaliumsalz, eigene Darstellung), ($p_{\text{H}} = 1,9$ bis 3,3); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

g) Benzol-azo-benzylanilin (eigene Darstellung), ($p_{\text{H}} = 2,3$ bis 3,3); 0,2 g wurden in 10 ccm 0,1 n-Salzsäure + 500 ccm Alkohol + 490 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

h) p-Benzolsulfonsäure-azo-benzylanilin (das Kaliumsalz, eigene Darstellung), ($p_{\text{H}} = 1,9$ bis 3,3); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 6 Tropfen gegeben.

i) Benzol-azo-benzyl- α -naphthylamin (eigene Darstellung); ($p_{\text{H}} = 1,9$ bis 2,9); 0,1 g wurde in 15 ccm 0,1 n-Salzsäure + 600 ccm Alkohol + 385 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

k) p-Benzolsulfonsäure-azo-metachlordiäthylanilin (die freie Sulfonsäure, eigene Darstellung), ($p_{\text{H}} = 2,6$ bis 4,0); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 5 Tr. gegeben.

l) Benzol-azo-dimethylanilin (die Handelsware wurde zweimal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 2,9$ bis 4,0); 0,1 g wurde in 1 ccm 0,1 n-Salzsäure + 800 ccm Alkohol + 199 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tr. gegeben.

m) p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin (das Natriumsalz, Tropäolin D, Methylorange, Schultz Nr. 96, die Handelsware wurde dreimal aus Wasser umkrystallisiert), ($p_{\text{H}} = 3,1$ bis 4,4); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 5 Tr. gegeben.

Tabelle IX. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsfüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. p_{H^+}
Invertin - Rohrzucker - Citronensäure - Citrat (0,4 mol. Citrat)	Keine Färbung	2,34
Salzsäure, 2%ige Leimlösung + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein $\frac{3}{4}$ Tr. Bismarckbraun	1,39
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	1,86
Schwefelsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton + Na ₂ SO ₄ (0,26 n-Sulfat)	2 Tr. Tropäolin 0 1 Tr. Bismarckbraun	1,30
do. (0,2 n-Sulfat)	do.	1,79
do. (ohne Na ₂ SO ₄)	do.	1,51
do. + Na ₂ SO ₄ (0,3 n-Sulfat)	do.	1,87
do. (0,85 n-Sulfat)	do.	2,03
Salzsäure, 2%ige Lösg. v. Witte-Pepton + NaCl (0,1 n-Chlorid)	do.	1,52
do. (ohne NaCl)	do.	1,58
do. + NaCl (0,3 n-Chlorid)	do.	1,55
do. (0,85 n-Chlorid)	do.	1,48
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin- gespaltenem Hühnereiweiß + NaCl (1,0 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II	1,57
do. (1,0 n-Chlorid)	do.	1,21
do. (0,33 n-Chlorid)	do.	1,30
Salzsäure, ca. 1,5%ige Lösg. von zum Teil pepsin- gespaltenem Casein + NaCl (0,064 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{4}$ Tr. Bismarckbraun	1,60
do. (0,3 n-Chlorid)	do.	1,59
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + NaCl (0,18 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II 1 Tr. BaSO ₄	1,19
Salzsäure, ca. 1%ige Caseinlösung (ohne NaCl)	1 Tr. BaSO ₄	1,60

der Azogruppe I.

Benzol-azo-diphenylamin (1,2 bis 2,1)		p-Benzolsulfon-säure-azo-diphenylamin (1,4 bis 2,6)		m-Benzolsulfon-säure-azo-diphenylamin (1,2 bis 2,3)		o-Toluol-azo-o-toluidin (1,4 bis 2,9)	
pH	Bemerkung	pH	Bemerkung	pH	Bemerkung	pH	Bemerkung
—	—	2,45	Ziemlich guter Umschlag	2,37	Außerhalb des gut. Umschlags	2,35	Ziemlich guter Umschlag
1,53	Vorzüglicher Umschlag	1,53	do.	1,58	Vorzüglicher Umschlag	$\leq 1,42$	Außerhalb des Umschlags
1,99	do.	2,00	Vorzüglicher Umschlag	2,02	do.	1,82	Ziemlich guter Umschlag
1,40	do.	1,68	do.	1,65	do.	—	—
1,83	do.	2,02	do.	2,04	do.	1,79	Ziemlich guter Umschlag
1,71	do.	1,79	do.	—	—	—	—
1,91	do.	2,07	do.	—	—	—	—
$\geq 2,1$	Außerhalb des gut. Umschlags	2,28	do.	—	—	—	—
1,57	Vorzüglicher Umschlag	1,86	do.	1,83	Vorzüglicher Umschlag	1,63	Ziemlich guter Umschlag
1,70	do.	1,88	do.	—	—	—	—
1,65	do.	1,76	do.	—	—	—	—
1,60	do.	1,65	do.	—	—	—	—
1,72	do.	1,79	do.	1,74	Vorzüglicher Umschlag	—	—
1,37	Guter Umschlag	1,34	Recht guter Umschlag	—	—	—	—
1,53	Vorzüglicher Umschlag	1,53	Vorzüglicher Umschlag	1,53	Vorzüglicher Umschlag	—	—
1,70	do.	1,75	do.	1,76	do.	—	—
1,68	do.	1,70	do.	1,68	do.	—	—
$> 2,3$	Außerhalb des Umschlags	$> 2,6$	Außerhalb des Umschlags	$> 2,6$	Außerhalb des Umschlags	—	—
$> 2,3$	do.	$> 2,6$	do.	—	—	—	—

Tabelle X. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. P_H
Invertin-Rohrzucker-Glykokoll-Salzsäure	$\frac{3}{4}$ Tr. Bismarckbraun	2,77
Invertin-Rohrzucker-Citronensäure-Citrat (0,4 mol. Citrat)	Keine Färbung	2,34
Salzsäure, 2%ige Leimlösung + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein	2,56
do. (0,1 n-Chlorid)	$\frac{3}{4}$ Tr. Bismarckbraun do.	3,07
Schwefelsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton + Na_2SO_4 (0,16 n-Sulfat)	2 Tr. Tropäolin 0 1 Tr. Bismarckbraun	2,59
Salzsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton + NaCl (0,1 n-Chlorid)	do.	2,48
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin- gespaltenem Hühnereiweiß + NaCl (1,0 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II	2,40
Salzsäure, ca. 1,5%ige Lösg. von zum Teil pepsin- gespaltenem Casein + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{4}$ Tr. Bismarckbraun	2,92
do. (0,3 n-Chlorid)	do.	2,90
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß (ohne NaCl)	3 Tr. Curcumein	2,49
do. (ohne NaCl)	2 Tr. Helianthin II 1 Tr. Tropäolin 0	2,00

Tabelle XI. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. P_H
Invertin-Rohrzucker-Glykokoll-Salzsäure	$\frac{3}{4}$ Tr. Bismarckbraun	2,77
do.	1 Tr. Bismarckbraun	3,70
Invertin-Rohrzucker-Citronensäure-Citrat (0,02 mol. Citrat)	do.	4,67
Invertin-Rohrzucker-Citrat-Natriumhydroxyd (0,25 mol. Citrat)	Keine Färbung	5,69
Invertin-Rohrzucker-Phosphat (0,01 mol. Phosphat)	1 Tr. Bismarckbraun	5,56

der Azogruppe II.

Benzol-azo-anilin (1,9 bis 3,3)		p-Benzol-sulfonsäure-azo-anilin (1,9 bis 3,3)		Benzol-azo-benzyl-anilin (2,3 bis 3,3)		p-Benzol-sulfonsäure-azo-benzyl-anilin (1,9 bis 3,3)		Benzol-azo- α -naphthylamin (1,9 bis 2,9)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
2,77	Ziemlich guter Umschlag	2,69	Ziemlich guter Umschlag	2,76	Vorzüglicher Umschlag	2,72	Vorzüglicher Umschlag	2,66	Recht guter Umschlag
2,28	do.	2,22	do.	2,28	Zieml. guter Umschlag	2,32	do.	$\leq 1,9$	Außerhalb d. Umschlags
2,65	do.	2,61	do.	2,53	Vorzüglicher Umschlag	2,69	do.	2,42	Vorzüglicher Umschlag
3,03	do.	3,02	do.	3,05	do.	3,17	do.	—	—
2,61	do.	2,68	do.	2,57	do.	2,83	do.	2,28	Zieml. guter Umschlag
2,45	do.	2,50	do.	2,48	do.	2,69	do.	2,25	Vorzüglicher Umschlag
—	—	2,28	do.	2,52	do.	2,48	do.	2,25	Recht guter Umschlag
—	—	—	—	2,89	do.	3,02	do.	—	—
—	—	—	—	2,88	do.	2,96	do.	—	—
2,80	Zieml. guter Umschlag	3,07	Zieml. guter Umschlag	$\leq 3,3$	Außerhalb d. Umschlags	$\leq 3,3$	Außerhalb d. Umschlags	Nicht meßbar	
2,45	do.	2,45	do.	2,83	Guter Umschlag	$\leq 3,3$	do.	ca. 2,0	Die Lösung hatte einen etwas and. Ton als die Vergleichslösung

der Azogruppe III.

p-Benzol-sulfonsäure-azo-metachlor-diäthylanilin (2,6 bis 4,0)		Benzol-azo-dimethylanilin (2,9 bis 4,0)		p-Benzol-sulfonsäure-azo-dimethylanilin (3,1 bis 4,4)		Benzol-azo- α -naphthylamin (3,7 bis 5,0)		p-Benzol-sulfonsäure-azo- α -naphthylamin (3,5 bis 5,7)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
2,72	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	3,74	Vorzüglicher Umschlag	3,68	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	4,65	Guter Umschlag	4,65	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	5,66	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,54	do.

Tabelle XI. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. P_H
Salzsäure, 2%ige Leimlösung + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein	3,07
do. (0,13 n-Chlorid)	$\frac{3}{4}$ Tr. Bismarckbraun 3 Tr. Curcumein	3,60
do. (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Bismarckbraun 3 Tr. Curcumein	4,26
do. (0,07 n-Chlorid)	$\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun do.	4,98
2%ige Leimlösung + Phosphat + NaCl (0,13 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun 1 Tr. Methylviolett	5,65
Salzsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton (ohne NaCl)	2 Tr. Tropäolin 0 1 Tr. Bismarckbraun	3,39
do. + NaCl (0,3 n-Chlorid)	do.	3,39
do. + NaCl (0,1 n-Chlorid)	3 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	4,92
do. + NaCl (0,3 n-Chlorid)	do.	4,90
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin- gespaltenem Hühnereiweiß + NaCl (0,1 n-Chlorid)	3 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	3,75
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	4,93
Salzsäure, ca. 1,5%ige Lösg. von zum Teil pepsin- gespaltenem Casein + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{4}$ Tr. Bismarckbraun	2,92
do. (0,3 n-Chlorid)	do.	2,90
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß (ohne NaCl)	3 Tr. Curcumein	2,49
do. + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	5,34
do. + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II 2 Tr. Bismarckbraun 1 Tr. BaSO ₄	4,65
do. + NaCl nach Koagulation und Filtration (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	5,44
Mit 3 Raumteilen Wasser und Salzsäure versetztes Serum	3 Tr. Tropäolin 0 8 Tr. Tropäolin 00 1 Tr. Helianthin II	4,73
do. nach Koagulation und Filtration	Keine Färbung	5,38
Mit 3 Raumteilen Wasser und Essigsäure versetztes Serum, koaguliert und filtriert	1 Tr. Helianthin II	5,39
Defibriniertes Blut auf die gleiche Weise behandelt	2 Tr. Helianthin II	5,66

der Azogruppe III. (Fortsetzung.)

p-Benzol-sulfonsäure-azo-metachlor-diäthylanilin (2,6 bis 4,0)		Benzol-azo-dimethylanilin (2,9 bis 4,0)		p-Benzol-sulfonsäure-azo-dimethylanilin (3,1 bis 4,4)		Benzol-azo- α -naphthylamin (3,7 bis 5,0)		p-Benzol-sulfonsäure-azo- α -naphthylamin (3,5 bis 5,7)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
3,20	Vorzüglicher Umschlag	3,15	Vorzügl. Umschlag	—	—	—	—	—	—
—	—	3,57	do.	3,61	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
—	—	—	—	4,32	Ein wenig alkalischer als der beste Umschlag	4,29	Vorzüglicher Umschlag	4,32	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	4,99	do.	4,97	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,62	do.
3,80	Ein wenig alkalischer als der beste Umschlag	3,47	Vorzügl. Umschlag	3,61	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
3,80	do.	3,47	do.	3,57	do.	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	4,96	Zieml. guter Umschlag	4,96	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	4,90	do.	4,92	do.
—	—	3,68	Vorzügl. Umschlag	3,75	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	4,98	Zieml. guter Umschlag	5,02	Vorzüglicher Umschlag
3,02	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
2,92	do.	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	3,02	Guter Umschlag	3,50	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	5,07	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	4,59	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,53	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	Nicht meßbar	
—	—	—	—	—	—	—	—	5,67	Ein wenig alkalischer als der beste Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	5,46	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	5,78	Außerhalb des guten Umschlages

n) Benzol-azo- α -naphthylamin (eigene Darstellung), (p_{H} = 3,7 bis 5,0); 0,1 g wurden in 4 ccm 0,1 n-Salzsäure + 300 ccm Alkohol + 696 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit wurden 10 bis 20 Tr. gegeben.

o) p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin (das Natriumsalz, eigene Darstellung), (p_{H} = 3,5 bis 5,7); 0,1 g wurde in 600 ccm Alkohol + 400 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit wurden 8 bis 12 Tr. gegeben.

Aus diesen Tabellen sowie auch aus dem schon früher (siehe S. 210) Angeführten ersieht man, daß die Indicatoren der Azogruppe weit weniger als jene der Methylviolettgruppe durch Neutralsalze beeinflußt werden.

Aus den Tabellen ist ebenfalls zu ersehen, daß die Indicatoren der Azogruppe so gut wie immer unbrauchbar sind, wenn es sich um die Messung von Lösungen genuiner Proteinstoffe handelt. Ja, auch ein größerer Gehalt an solchen Stoffen wie Witte-Pepton kann die Messung mittels mehrerer von diesen Indicatoren nicht wenig beeinträchtigen; da die Fehler aber immer in derselben Richtung liegen und auch immer einigermaßen von derselben Größe sind, so kann gewöhnlich bei orientierenden Messungen eine Korrektion benutzt werden, deren Größe durch eine einzelne vergleichende elektrometrische und colorimetrische Messung festzustellen ist. Im großen und ganzen sind die Abweichungen, wie aus den Tabellen zu ersehen ist, um so größer, je komplizierter der Indicator gebaut und je kleiner der Wasserstoffionenexponent ist, bei welchem der Umschlag liegt. Die sauren Indicatoren geben durchwegs größere Abweichungen als die basischen, haben aber, wie früher erwähnt (S. 212), den letztgenannten gegenüber den Vorteil, nicht durch Toluol oder Chloroform beeinflußt zu werden.

Endlich zeigen die Tabellen, daß sämtliche angeführte Indicatoren, bis auf drei, einen vorzüglichen Umschlag haben. Diese drei, Benzol-azo-anilin, p-Benzolsulfonsäure-azoanilin und o-Toluol-azo-o-toluidin, können deshalb trotz ihres einfachen Baues und der sich daraus ergebenden Vorteile nicht als Indicatoren empfohlen werden.

Es mag nur noch erwähnt werden, daß auch Kongorot (Schultz Nr. 219), Baumwollrot (Schultz Nr. 268) und ähnliche Tetraazokörper zu dieser Gruppe Indicatoren gehören; eine nähere Besprechung dieser Verbindungen hat indessen

keinen Zweck, da sie, wie schon genannt, wenigstens was Kongorot betrifft (siehe S. 217), wahrscheinlich ihres komplizierten Baues und ihrer damit zusammenhängenden, mehr oder weniger ausgeprägt kolloidalen Natur wegen hier ganz unbrauchbar sind. Auch die einzelnen der Azogruppe nicht angehörigen Indicatoren, die, wie z. B. Rosolsäure (Schultz Nr. 457) und Pyrogallolphthalein (Schultz Nr. 501), Umschlagspunkte innerhalb desselben Bereiches von Wasserstoffionenkonzentrationen wie die Azogruppe haben, verdienen keine genauere Erörterung; denn keiner derselben hat einen Umschlag, der an Schärfe und Deutlichkeit denen der oben erwähnten Indicatoren gleichkäme.

3. Indicatoren der Phosphatmischungen ($p_{\text{H}} = 4,4$ bis $8,9$). Unter diesem Sammelnamen wird eine Reihe von in chemischer Beziehung weit verschiedenen Indicatoren zusammengefaßt, deren einziges, aber auch sehr wichtiges gemeinsames Merkmal das ist, daß ihre Umschlagspunkte in dem für die meisten enzymatischen Prozesse wichtigen Bereich der Wasserstoffionenkonzentrationen liegen, welche die Phosphatgemische besitzen. Diese Gruppe enthält somit die Indicatoren, deren Umschlagspunkte beim Neutralpunkte [$p_{\text{H}} = 7,07$ (siehe S. 163)] oder einigermaßen in der Nähe desselben liegen.

In den Tabellen XII und XIII finden sich eine Reihe vergleichender elektrometrischer und colorimetrischer Messungen zusammengestellt, welche mittels der folgenden acht der wichtigsten hierher gehörigen Indicatoren gemacht wurden:

a) Lackmoid (das Handelsprodukt wurde auf die in Fr. Glaser: Indicatoren der Acidimetrie und Alkalimetrie, 1901, S. 61 angegebene Weise gereinigt), ($p_{\text{H}} = 4,4$ bis $6,2$); $0,2$ g wurden in 1 l Alkohol gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 10 bis 15 Tr. gegeben.

b) Cochenille (Grübler & Co.), ($p_{\text{H}} = 4,8$ bis $6,2$); 1 g wurde mit 100 ccm Alkohol von 25% geschüttelt und das Filtrat mit 400 ccm Wasser verdünnt. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 6 bis 12 Tr. gegeben.

c) Azolithmin (Grübler & Co.), ($p_{\text{H}} = 4,5$ bis $8,3$); 2 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 4 bis 6 Tr. gegeben.

d) Alizarin (die Handelsware, Schultz Nr. 523), ($p_{\text{H}} = 5,5$ bis $6,8$); $0,2$ g wurden in 500 ccm Alkohol + 250 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 12 Tr. gegeben.

e) p-Nitrophenol (E. Merck, Darmstadt), ($p_{\text{H}} = 5,0$ bis $7,0$); $0,4$ g wurden in 60 ccm Alkohol + 940 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 20 Tr. gegeben.

Tabelle XII. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefunde- nes p_{H} .
Invertin-Rohrzucker-Phosphat (0,01 mol. Phosphat)	1 Tr. Bismarckbraun	5,56
Invertin-Rohrzucker-Citronensäure-Citrat (0,02 mol. Citrat)	do.	4,67
Invertin-Rohrzucker-Citrat-Natriumhydroxyd (0,25 mol. Citrat)	Keine Färbung	5,69
do. (0,22 mol. Citrat)	do.	6,62
Salzsäure, 2%ige Leimlösung + NaCl (0,07 n-Chlorid)	3 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	4,98
2%ige Leimlösung + Phosphat + NaCl (0,13 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun 1 Tr. Methylviolett	5,65
do. (0,13 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	6,22
do. (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	6,87
Salzsäure, 2%ige Lösung von Witte-Pepton + NaCl (0,1 n-Chlorid)	3 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	4,92
do. (0,3 n-Chlorid)	do.	4,90
Natriumhydroxydhaltige 2%ige Lösung von Witte- Pepton + NaCl (0,1 n-Chlorid)	3 Tr. Helianthin II 2 Tr. Bismarckbraun	6,64
do. (0,3 n-Chlorid)	do.	6,61
do. (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II 2 Tr. Bismarckbraun	5,77
Salzsäure, ca. 1%ige Lösung von zum Teil pepsin- gespaltenem Hühnereiweiß + NaCl (0,1 n-Chlorid)	3 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	4,93
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	6,06
Salzsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	5,34
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	6,26
Schwefelsäure, ca. 2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Na_2SO_4 (0,1 n-Sulfat)	1 Tr. Tropäolin 00 1 Tr. Helianthin II 1 Tr. BaSO_4	5,61
do. nach Koagulation und Filtration (0,1 n-Sulfat)	1 Tr. Tropäolin 00 1 Tr. Helianthin II	6,33

der Phosphatmischungen I.

Lackmoid (4,4 bis 6,2)		Cochenille (4,8 bis 6,2)		Azolithmin (4,5 bis 8,3)		Alizarin (5,5 bis 6,8)		p-Nitrophenol (5,0 bis 7,0)	
p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung
5,60	Ein wenig verschieden. Farbton	5,44	Recht guter Umschlag	—	—	—	—	—	—
4,65	Mäßiger Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
5,75	Ein wenig verschieden. Farbton	5,66	Guter Umschlag	—	—	5,75	Ziemlich gut. Umschlag	5,75	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	6,92	Guter Umschlag	6,39	Ein wenig verschieden. Farbton	6,75	do.
—	Nicht meßbar	5,57	Etwas verschiedener Farbton	—	—	—	—	—	—
—	Nicht meßbar	5,68	Vorzüglicher Umschlag	—	—	5,79	Ziemlich gut. Umschlag	5,68	Vorzüglicher Umschlag
—	—	6,17	Ein wenig verschieden. Farbton	—	—	6,17	Vorzüglicher Umschlag	6,19	do.
—	—	—	—	7,15	Guter Umschlag	6,85	Guter Umschlag	6,88	Guter Umschlag
—	Nicht meßbar, doch ohne Zweifel größer als 5,6	5,21	Guter Umschlag	—	—	—	—	—	—
—	Nicht meßbar, doch ohne Zweifel größer als 5,6	5,22	do.	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	7,24	Ein wenig verschiedener Farbton	6,68	Guter Umschlag	6,65	Guter Umschlag
—	—	—	—	7,24	do.	6,72	do.	6,69	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,86	Vorzüglicher Umschlag
—	Nicht meßbar	4,90	Ziemlich gut. Umschlag	—	—	—	—	4,96	An der Grenze der Umschlagszone
—	—	5,44	do.	—	—	5,90	Guter Umschlag	6,10	Vorzüglicher Umschlag
—	Nicht meßbar	5,52	Recht guter Umschlag	—	—	—	—	5,39	do.
—	—	5,55	do.	—	—	5,60	Ziemlich gut. Umschlag	6,27	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,68	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	6,40	do.

Tabelle XII.

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefunde- nes p_{H} .
Serum, verdünnt mit dem 3fachen Volum Wasser und Schwefelsäure	3 Tr. Tropäolin 0 3 Tr. Tropäolin 00 1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	5,82
do. nach Koagulation und Filtrierung	1 Tr. Helianthin II $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	6,40
Serum, verdünnt mit dem 3fachen Vol. Wasser und Essigsäure, dann koaguliert und filtriert	1 Tr. Helianthin II	5,39
Defibriniertes Blut, auf die nämliche Weise be- handelt	2 Tr. Helianthin II	5,66
Tyrosinlösung + aufgekochte Tyrosinaselösung + Phosphat + $\frac{1}{20}$ Vol. Serum	1 Tr. Tropäolin 0 2 Tr. Bismarckbraun 3 Tr. BaSO ₄	6,47
do. (ohne Serum)	Keine Färbung	6,34

Tabelle XIII. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefunde- nes p_{H} .
Invertin-Rohrzucker-Citrat-Natriumhydroxyd (0,22 mol. Citrat)	Keine Färbung	6,62
2%ige Leimlösung + Phosphat + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Curcumein $\frac{1}{2}$ Tr. Bismarckbraun	6,87
2%ige Leimlösung + Phosphat + Natriumhy- droxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Curcumein 2 Tr. Bismarckbraun	7,52
do. (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein 1 Tr. Bismarckbraun	8,24
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	8,82
2%ige Lösung von Witte-Pepton + Natriumhy- droxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbraun 2 Tr. Helianthin II	6,97
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	7,38
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	7,83
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	8,30
2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Phosphat + NaCl (0,07 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	7,61

(Fortsetzung).

Lackmoid (4,4 bis 6,2)		Cochenille (4,8 bis 6,2)		Azolithmin (4,5 bis 8,3)		Alizarin (5,5 bis 6,8)		p-Nitrophenol (5,0 bis 7,0)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
—	—	—	—	—	—	—	—	6,10	Recht guter Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	6,33	Vorzüglicher Umschlag
—	—	—	—	—	—	—	—	5,41	do.
—	—	—	—	—	—	—	—	5,61	do.
—	—	—	—	6,74	Ein wenig verschied. Farbton	6,10	Guter Umschlag	6,47	do.
—	—	—	—	6,19	Recht guter Umschlag	6,19	do.	6,34	do.

der Phosphatmischungen II.

Azolithmin (4,5 bis 8,3)		Neutralrot (6,8 bis 8,0)		Rosolsäure (6,9 bis 8,0)		p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol (7,6 bis 8,9)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
6,92	Guter Umschlag	6,53	Etwas saurer als der gute Umschlag	—	—	—	—
7,15	do.	6,86	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—
8,04	do.	7,50	do.	7,44	Guter Umschlag	7,54	Etwas saurer als der gute Umschlag
—	—	—	—	—	—	8,32	Guter Umschlag
—	—	—	—	—	—	8,80	do.
> 8,3	Etwas verschiedener Farbton	6,85	Guter Umschlag, aber ein wenig verschiedener Farbton	6,90	Guter Umschlag	—	—
do.	do.	7,20	Vorzüglicher Umschlag	7,24	Vorzüglicher Umschlag	—	—
do.	do.	—	—	7,80	do.	7,97	Recht guter Umschlag
—	—	—	—	—	—	8,41	Guter Umschlag
—	—	6,98	Guter Umschlag	7,22	Guter Umschlag	—	—

Tabelle XIII.

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefunde- nes p_H
2 ⁰ / ₀ ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Phosphat + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	8,06
do. (0,07 n-Chlorid)	do.	8,54
2 ⁰ / ₀ ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Glykokoll + Natriumhydroxyd + NaCl	2 Tr. Bismarckbraun	8,58
do. (0,18 n-Chlorid)	do.	8,88
2 ⁰ / ₀ ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Phosphat + Natriumhydroxyd + NaCl	1 Tr. Helianthin II ¹ / ₂ Tr. Bismarckbraun	9,11
do. (0,1 n-Chlorid)		
2 ⁰ / ₀ ige Lösung von Casein + Glykokoll + Natrium- hydroxyd + NaCl (0,14 n-Chlorid)	1 Tr. Bismarckbraun 1 Tr. BaSO ₄	8,63
do. (0,14 n-Chlorid)	do.	9,30
Serum, verdünnt mit dem 3fachen Volum Wasser und Schwefelsäure, dann koaguliert und filtriert	1 Tr. Helianthin II ¹ / ₂ Tr. Bismarckbraun	7,44
Defibriniertes Blut, verdünnt mit dem 3fachen Volum Wasser und Essigsäure, dann koaguliert und filtriert	1 Tr. Helianthin II 6 ¹ / ₂ Tr. Bismarckbraun 6 Tr. Baumwollblau	6,54
Tyrosinlösung + gekochte Tyrosinaselösung + Phosphat + ¹ / ₂₀ Raumteil Serum	2 Tr. Bismarckbraun 4 Tr. Helianthin II	7,28
do. (ohne Serum)	Keine Färbung	7,24

f) Neutralrot (L. Cassella & Co., Frankfurt a. M., Schultz Nr. 599), ($p_H = 6,8$ bis $8,0$); 0,1 g wurde in 500 ccm Alkohol + 500 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 10 bis 20 Tr. gegeben.

g) Rosolsäure (die Handelsware, Schultz Nr. 457), ($p_H = 6,9$ bis $8,0$); 0,4 g wurden in 400 ccm Alkohol + 600 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 6 bis 15 Tr. gegeben.

h) p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol (Tropäolin 000 Nr. 1, Grübler & Co., Schultz Nr. 102), ($p_H = 7,6$ bis $8,9$); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 4 bis 10 Tr. gegeben.

Aus diesen Tabellen erhellt, daß Lackmoid ganz unbrauchbar ist, und daß auch Azolithmin bei Messungen der hier besprochenen Art zu sehr bedeutenden Fehlern Anlaß gibt. Cochenille und Alizarin geben zwar bisweilen einigermaßen richtige Resultate, da aber der vorzügliche Indicator, p-Nitro-

(Fortsetzung.)

Azolithmin (4,5 bis 8,3)		Neutralrot (6,8 bis 8,0)		Rosolsäure (6,9 bis 8,0)		p-Benzolsulfon- säure-azo- α - naphthol (7,6 bis 8,9)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
—	—	7,35	Guter Umschlag	7,56	Guter Umschlag	—	—
—	—	—	—	—	—	8,39	Guter Umschlag
—	—	—	—	—	—	8,45	do.
—	—	—	—	—	—	8,86	Ein wenig alkali- scher als der beste Umschlag
—	—	—	—	—	—	9,00	do.
—	—	—	—	—	—	8,47	Guter Umschlag, aber ein wenig ver- schiedener Farbton
—	—	—	—	—	—	9,03	Ziemlich guter Umschlag
7,41	Guter Umschlag	7,42	VorzüglicherUm- schlag	7,04	Recht guter Umschlag	—	—
6,60	Ein wenig ver- schiedener Farb- ton	6,57	Ein wenig saurer als der beste Um- schlag	—	—	—	—
7,41	Etwas verschie- dener Farbton	7,22	VorzüglicherUm- schlag	7,04	Recht guter Umschlag	—	—
7,06	Guter Umschlag	7,26	do.	7,19	do.	—	—

phenol, denselben Umschlagsbereich beherrscht, ist kein Grund vorhanden, von den in der Tabelle XII erwähnten Indicatoren andere als diesen letzteren zu empfehlen.

Neutralrot und Rosolsäure haben etwa dieselbe Umschlagszone und dieselbe Anwendbarkeit, und zwar ist keiner derselben zu benutzen, wenn reichliche Mengen genuiner Proteinstoffe anwesend sind. Der Umschlag des Neutralrots ist schärfer als der der Rosolsäure; diese wird aber wiederum auch durch einen Überschuß von Toluol oder Chloroform nicht beeinflusst.

p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol scheint auch in Gegenwart genuiner Proteinstoffe Dienste leisten zu können. Unglücklicherweise läßt der Umschlag dieses Indicators zu

wünschen übrig; bisher haben wir aber keinen besseren gefunden, welcher seinen Platz einnehmen könnte.

Außer den in den Tabellen angeführten gibt es noch einige Indicatoren mit Umschlagspunkten innerhalb des hier betrachteten Bereichs; doch scheint uns keiner der von uns untersuchten empfehlenswert zu sein. Unter anderen zeigen sowohl Hämatoxylin (die Handelsware) als auch Hämatein (Grübler & Co.) so schnelle und stete Farbänderungen, daß sie schon aus diesem Grunde als Indicatoren zu verwerfen sind. Cyanin (Grübler & Co., Schultz Nr. 649) zeigt zwar einen schönen Farbenwechsel bei Wasserstoffionenkonzentrationen, die $p_{\text{H}} = 7$ bis 8 entsprechen, gibt aber mit Proteinstoffen oder deren Spaltungsprodukten Farbennuancen, welche die Messung ganz vereiteln. Alizarinsulfonsäure (Natriumsalz, die Handelsware, Schultz Nr. 531) ist früher erwähnt worden (siehe S. 218).

Für den ganzen großen Bereich von Wasserstoffionenkonzentrationen, über welchen die Phosphatmischungen sich erstrecken, bleiben somit nur 3 bis 4 brauchbare Indicatoren übrig: p-Nitrophenol für den sauersten Teil, Neutralrot oder Rosolsäure um den Neutralpunkt umher und p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol für den alkalischsten Teil; eine Ergänzung wäre hier sehr erwünscht.

4. Indicatoren der Phthalein-Gruppe ($p_{\text{H}} = 8,3$ bis 10,5). Diese Indicatorgruppe ist nach den zwei wichtigsten der hierher gehörigen Indicatoren: dem Phenol- und dem Thymolphthalein, genannt worden. Außer diesen beiden gibt es wohl mehrere Farbstoffe, welche einen Farbenwechsel innerhalb der Umschlagszone dieser Gruppe haben, keiner derselben gibt aber einen so scharfen und deutlichen Übergang wie die beiden obengenannten, und außerdem geben sie in Gegenwart von Proteinstoffen oder von Spaltungsprodukten derselben oft fremde Farbennuancen, welche die Messung schwierig oder gar unmöglich machen. In der Tabelle XIV sind eine Reihe von vergleichenden Messungen zusammengetragen, bei welchen als Indicatoren teils Phenol- und Thymolphthalein gedient haben, teils als Beispiel mäßiger Indicatoren Alkanin, Naphthol-Benzoin und Phenylneutralblau zur Verwendung kamen; die Zahl dieser letzteren ließ sich aber leicht vergrößern.

a) Phenolphthalein (die Handelsware), ($p_{\text{H}} = 8,3$ bis 10,0); 0,5 g wurden in 500 ccm Alkohol + 500 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 20 Tropfen gegeben.

b) Alkanin („fettlösliches Rot“ von Grübler & Co.), ($p_{\text{H}} = 8,3$ bis 10); 1 g wurde mit 1 l Alkohol im Laufe von 24 Stunden zu wieder-

holten Malen geschüttelt und dann filtriert, Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

c) Naphthol-Benzoin a (E. Merck, Darmstadt), ($p_H = 8,5$ bis $9,8$); 0,2 g wurden in 1 l Alkohol gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 20 Tropfen gegeben.

d) Thymolphthalein (Grübler & Co.; die Firma hat mir weder die Zusammensetzung noch die Darstellungsweise des Körpers angeben können; da es bei ca. 240° (Bl. M.) schmilzt, muß es von dem von P. Jakimowicz¹⁾ dargestellten Thymolphthalein, dessen Schmelzpunkt zu 84 bis 85° angegeben wird, verschieden sein), ($p_H = 9,3$ bis $10,5$); 0,4 g wurden in 500 ccm Alkohol + 500 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 3 bis 10 Tropfen gegeben.

e) Phenylneutralblau (L. Cassella & Co., Schultz Nr. 605), ($p_H = 9,3$ bis $10,2$); 0,2 g wurden in 600 ccm Alkohol + 400 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 8 bis 16 Tropfen gegeben.

Man ersieht aus der Tabelle XIV, daß sowohl Phenolals auch Thymolphthalein bei den Versuchen, wo nur Proteinspaltungsprodukte gegenwärtig waren, vorzügliche Resultate gegeben haben, während genuine Proteinstoffe (Eialbumin und in noch höherem Maße Casein) bedeutende Fehler bei der Messung verursachen können.

5. Indicatoren des alkalischen Wendepunktes ($p_H = 10,1$ bis $12,7$). Diese Gruppe umfaßt eine Reihe Indicatoren, deren Umschlagszonen den in einem früheren Abschnitte (siehe S. 182) erwähnten Wendepunkt für Gemische von Natriumhydroxyd und schwachen Säuren enthalten. Da das gemeinsame Merkmal dieser Indicatoren ihr Gehalt an einer oder mehreren Phenolgruppen bildet, so wird man geneigt sein, anzunehmen, daß die Neutralisation der schwach sauren Phenolgruppen die direkte oder indirekte Ursache des Indicatorumschlages ist.

Unter den hierher gehörigen Indicatoren gibt es nur einzelne, welche einen einigermaßen guten Umschlag besitzen; da enzymatische Spaltungen aber nur sehr selten in so stark alkalischen Lösungen stattfinden wie diejenigen, von welchen hier die Rede ist, so macht sich das Bedürfnis nach diesen Indicatoren bei enzymatischen Studien nur wenig geltend. Wir haben uns deshalb auch nur wenig mit dieser Indicatorengruppe beschäftigt. Außer den vier unten näher besprochenen Indicatoren, welche einen einigermaßen guten Umschlag geben, umfaßt die Gruppe

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 1876, 1895.

Tabelle XIV. Indicatoren

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. pH
2 ^o / _o ige Leimlösung + Phosphat + Natrium- hydroxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein 1 Tr. Bismarckbraun	8,24
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	8,82
2 ^o / _o ige Leimlösung + Natriumhydroxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	do.	9,54
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	9,81
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	10,41
2 ^o / _o ige Lösung von Witte-Pepton + Natrium- hydroxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbraun 2 Tr. Helianthin II	8,30
do. (0,08 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbraun, 1 Tr. Tro- paeolin 00, 2 Tr. Methylviolett	9,34
2 ^o / _o ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Phosphat + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II 1 Tr. Bismarckbraun	8,54
do. + Natriumhydroxyd + Phosphat + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Helianthin II	9,11
do. + Natriumhydroxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1/2 Tr. Bismarckbraun	9,44
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	9,44
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	10,10
2 ^o / _o ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Glykokoll + Natriumhydroxyd + NaCl (0,18 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbraun	8,58
do. (0,18 n-Chlorid)	do.	8,88
do. (0,15 n-Chlorid)	do.	10,10
do. (0,15 n-Chlorid)	do.	11,01
2 ^o / _o ige Lösung von Casein + Glykokoll + Natrium- hydroxyd + NaCl (0,14 n-Chlorid)	1 Tr. Bismarckbraun 1 Tr. BaSO ₄	8,63
do. (0,14 n-Chlorid)	do.	9,30
do. (0,14 n-Chlorid)	1 1/2 Tr. Bismarckbraun	10,20
do. (0,14 n-Chlorid)	1 Tr. BaSO ₄	10,20
do. (0,14 n-Chlorid)	do.	10,36

der Phthaleingruppe.

Phenol- phthalein (8,3 bis 10,0)		Alkanin (8,3 bis 10,0)		Naphthol- Benzein (8,5 bis 9,8)		Thymol- phthalein (9,3 bis 10,5)		Phenylneutral- blau (9,3 bis 10,2)	
p_H	Bemerkung	p_H	Bemerk.	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung	p_H	Bemerkung
8,24	Ein wenig saurer als der gute Um- schlag	—	—	—	—	—	—	—	—
8,82	Vorzüglicher Umschlag	>9,1	Ließ sich nicht ein- fügen	9,00	Mäßiger Umschlag	—	—	—	—
9,57	do.	Nicht meßbar	—	9,55	Ziemlich gut. Umschlag	9,56	Vorzüglicher Umschlag	8,93	Ziemlich gut. Umschlag
9,71	do.	Nicht meßbar	—	9,79	do.	9,85	do.	9,37	do.
—	—	—	—	—	—	10,59	Ein wenig alka- lischer als der beste Umschlag	—	—
8,33	Guter Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
9,33	Vorzüglicher Umschlag	9,54	Anderer Farbton	—	—	9,33	An der Grenze der Umschlags- zone	—	—
8,34	Guter Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
8,90	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
9,23	do.	—	—	—	—	9,44	Recht guter Umschlag	—	—
—	—	—	—	—	—	9,76	Vorzüglicher Umschlag	—	—
8,51	Vorzüglicher Umschlag	9,29	Anderer Farbton	7,86	Mäßiger Umschlag	—	—	—	—
8,81	do.	9,47	do.	8,14	do.	—	—	—	—
9,79	Guter Umschlag	—	—	—	—	9,71	Vorzüglicher Umschlag	9,81	Anderer Farbton
—	—	—	—	—	—	10,14	do.	10,30	do.
8,10	Etwas saurer als der gute Um- schlag	—	—	—	—	—	—	—	—
8,75	Vorzüglicher Umschlag	—	—	—	—	—	—	—	—
9,91	Guter Umschlag	—	—	—	—	9,45	Vorzüglicher Umschlag	—	Nicht meßbar
10,30	Alkalischer als der gute Um- schlag	—	—	—	—	9,98	do.	—	Nicht meßbar

Tabelle XV. Indicatoren des

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Versuchsflüssigkeiten	Elektro- metrisch gefund. p_{H}
0,05 mol. Lösung von normalem Natrium- carbonat	Keine Färbung	11,39
2%ige Leimlösung + Natriumhydroxyd + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Curcumein 1 Tr. Bismarckbraun	10,41
do. (0,1 n-Chlorid)	do.	11,68
2%ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + Glykokoll + Natriumhydroxyd + NaCl (0,15 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbraun	11,01

übrigens eine ganze Reihe andere Farbstoffe mit mehr oder weniger mäßigen Umschlägen, z. B: p-Benzolsulfonsäure-azo- β -naphthol (Natriumsalz, Tropäolin 000 Nr. 2, Grübler & Co., Schultz Nr. 103), Benzol-azo-2-naphthol-6-sulfonsäure (Natriumsalz, Ponceau 4 GB, Grübler & Co., Schultz Nr. 23), p-Nitrobenzol-azo- β -resorcylsäure (Natriumsalz, Prager Alizarin gelb GG, Grübler & Co., Schultz Nr. 38) und Chrysinamin G (die Handelsware, Schultz Nr. 253).

a) Alizarin (p_{H} = 10,1 bis 12,1) (siehe übrigens S. 241).

b) p-Nitrobenzol-azo-salicylsäure (Natriumsalz, Alizarin gelb R, Grübler & Co., Schultz Nr. 37), (p_{H} = 10,1 bis 12,1); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

c) p-Benzolsulfonsäure-azo-resorcin (Natriumsalz, Tropäolin 0, Grübler & Co., Schultz Nr. 101), (p_{H} = 11,1 bis 12,7); 0,1 g in 1 l Wasser. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 5 bis 10 Tropfen gegeben.

d) α -Naphthylaminsulfonsäure-azo- β -naphthol (Natriumsalz, Echtrot, Grübler & Co., Schultz Nr. 121), (p_{H} = 10,5 bis 12,1); 0,1 g wurde in 500 ccm Alkohol + 500 ccm Wasser gelöst. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit werden 20 Tropfen gegeben.

Es erhellt aus Tabelle XV, daß, während Alizarin unbrauchbar ist, die drei anderen Indicatoren in den wenigen untersuchten Fällen brauchbare Resultate geben; bei der Messung von Lösungen genuinen Hühnereiweißes ist der Fehler wie gewöhnlich am größten. Der Umschlag ist am besten bei p-Nitrobenzol-azo-salicylsäure und p-Benzolsulfon-

alkalischen Wendepunktes.

Alizarin (10,1 bis 12,1)		p-Nitrobenzol- azo-salicylsäure (10,1 bis 12,1)		p-Benzolsulfon- säure-azo-resorcin (11,1 bis 12,7)		α-Naphthylamin- sulfonsäure-azo- β-naphthol (10,5 bis 12,1)	
p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung	p _H	Bemerkung
—	—	11,45	Guter Umschlag	11,45	Guter Umschlag	11,52	Recht guter Umschlag
11,31	Guter Umschlag	10,40	Recht guter Umschlag	—	—	—	—
12,40	Ziemlich guter Umschlag	11,56	Vorzüglicher Umschlag	11,90	Guter Umschlag	11,56	Guter Umschlag
11,56	Guter Umschlag	10,72	Etwas anderer Farbton	11,31	Recht guter Umschlag	—	—

säure-azo-resorcin, welche wir deshalb benutzt haben in den übrigens wenig zahlreichen Fällen, in welchen wir mit so stark alkalischen Flüssigkeiten gearbeitet haben.

Auf Grund des im vorhergehenden Abschnitte Auseinandergesetzten glaube ich nun, den Gebrauch der folgenden Indicatoren empfehlen zu können:

Tab. VIII.	{	Nr. 1, Methylviolett	p _H = 0,1— 3,2
		„ 2, Mauvein	„ = 0,1— 2,9
		„ 3, Benzol-azo-diphenylamin	„ = 1,2— 2,1
Tab. IX.	{	„ 4, p-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin	„ = 1,4— 2,6
		„ 5, m-Benzolsulfonsäure-azo-diphenylamin	„ = 1,2— 2,3
Tab. X.	{	„ 6, Benzol-azo-benzylanilin	„ = 2,3— 3,3
		„ 7, p-Benzolsulfonsäure-azo-benzylanilin	„ = 1,9— 3,3
Tab. XI.	{	„ 8, p-Benzolsulfonsäure-azo-metachlordiäthylanilin	„ = 2,6— 4,0
		„ 9, Benzol-azo-dimethylanilin	„ = 2,9— 4,0

Tab. XI.	{	Nr. 10, p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin . $p_H = 3,1-4,4$
		„ 11, Benzol-azo- α -naphthylamin „ = 3,7-5,0
		„ 12, p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin . „ = 3,5-5,7
Tab. XII.	„ 13, p-Nitrophenol „ = 5,0-7,0	
Tab. XIII.	{	„ 14, Neutralrot „ = 6,8-8,0
		„ 15, Rosolsäure „ = 6,9-8,0
		„ 16, p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthol . . . „ = 7,6-8,9
Tab. XIV.	{	„ 17, Phenolphthalein . . . „ = 8,3-10,0
		„ 18, Thymolphthalein . . . „ = 9,3-10,5
Tab. XV.	{	„ 19, p-Nitrobenzol-azo-salicylsäure „ = 10,1-12,1
		„ 20, p-Benzolsulfonsäure-azo-resorcin „ = 11,1-12,7

Wie aus den vorhergehenden Abschnitten ersichtlich ist, sind diese Indicatoren nicht sämtlich gleich scharf, und zwar besonders nicht unter allen Umständen gleich anwendbar. Auch unter diesen auserlesenen Indicatoren muß die Wahl mit Kritik getroffen und dabei auf folgende Verhältnisse Rücksicht genommen werden:

a) Die Indicatoren der Methylviolettgruppe (die Nummern 1 und 2) sind Neutralsalzen gegenüber besonders empfindlich (S. 209). Ferner wird ihre Farbstärke beim Stehen geändert; die Änderung geschieht um so schneller, je saurer die Versuchsflüssigkeit ist.

b) Die basischen Indicatoren (die Nummern 3, 6, 9, 11 und 14) werden durch Toluol oder Chloroform gelöst (S. 212); ferner scheiden sich bei längerem Stehen der Versuchsflüssigkeit die vier erstgenannten zum Teil aus (S. 215).

c) In Gegenwart von reichlichen Mengen genuiner Proteinstoffe sind die meisten Indicatoren unbrauchbar; einzelne sind jedoch bisweilen mit Vorteil zu be-

nutzen: Nr. 1 und 2 (S. 228), Nr. 13 (S. 219), Nr. 16 (S. 247), Nr. 17 und 18 (S. 249).

d) In Gegenwart von selbst ziemlich großen Mengen von Abbauprodukten der Proteinstoffe kann die ganze Reihe von Indicatoren gebraucht werden; jedoch kann der Gebrauch einzelner der sauren Azoindicatoren auch unter diesen Umständen zu bedeutenden Fehlern Anlaß geben (die Nummern 4, 5, 7, 8 und 10, siehe S. 240, und die Tabellen IX, X und XI), in diesem Falle bedient man sich der entsprechenden basischen Verbindungen.

e) Sind nur kleine Mengen von Proteinstoffen oder von Abbauprodukten derselben zugegen, so leisten die sauren Azoindicatoren gewöhnlich bessere Dienste als die basischen, weil die ersteren weder durch Toluol oder Chloroform beeinflußt werden, noch beim Stehen der Lösung sich ausscheiden.

f) In allen zweifelhaften Fällen, z. B. bei colorimetrischer Messung von Lösungen, deren Wirkung dem betreffenden Indicator gegenüber unbekannt ist, muß mandie elektrometrische Messung als Standardmethode verwenden, und die Brauchbarkeit des Indicators mittels einer vergleichenden elektrometrischen und colorimetrischen Messung feststellen.

C. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen.

In diesem Abschnitte beabsichtige ich nicht, der überwältigenden Literatur, welche in engerer oder weiterer Beziehung zur hier erörterten Frage steht, näher zu treten. Es besteht nur die Absicht, wie schon in der Einleitung erwähnt, durch einige Beispiele die große Rolle zu beleuchten, welche die Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen spielt.

Als erstes und ziemlich ausführlich betrachtetes Beispiel habe ich die so oft untersuchte, typische Enzymspaltung des Rohrzuckers mittels Invertins gewählt. Ich bitte Herrn E. Koefoed, der schon seit einiger Zeit mit Untersuchungen über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei diesem Prozesse hier im Laboratorium beschäftigt ist, meinen herzlichsten Dank für die Bereitwilligkeit empfangen zu wollen, mit

der er mir erlaubt hat, schon hier einen Teil des vorliegenden Materials zu veröffentlichen.

Ferner findet man im folgenden als Beispiele der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei anderen Enzymspaltungen einzelne Versuchsreihen mit Katalase (experimentell bearbeitet von Herrn H. Jessen-Hansen) und Pepsin (von Herrn E. Jürgensen bearbeitet). Es möge mir erlaubt sein, auch an dieser Stelle meinen oben genannten Mitarbeitern den besten Dank für das unermüdliche Interesse abzustatten, mit dem sie diese oft recht umständlichen Untersuchungen ausgeführt haben.

a) Invertin.

Schon Kjeldahl¹⁾ hat gezeigt, daß die Invertinspaltung von Rohrzucker durch Zufuhr ganz kleiner Mengen Schwefelsäure gefördert wird, während nur wenig größere Mengen den enzymatischen Prozeß in hohem Maße beeinträchtigen. Aus den Versuchen Kjeldahls geht hervor, daß die optimale Schwefelsäuremenge etwa 5 ccm 0,01 n-Schwefelsäure für ein Volum von 100 ccm beträgt.

O'Sullivan und F. W. Tompson²⁾ bestätigen in ihrer großen Arbeit über das Invertin die Beobachtungen Kjeldahls betreffs der Säurewirkung, bemerken aber ferner, daß die optimale Schwefelsäuremenge ziemlich stark mit der Versuchstemperatur und mit der Natur und Menge des angewandten Enzyms variiert, indessen können sie, wie sie zu verschiedenen Malen betonen, den Grund dieser Variationen nicht erklären.

Da eine Invertinlösung Stoffe enthält, welche sich mit Säuren zu vereinigen fähig sind, so ist es natürlich, daß die optimale Schwefelsäuremenge sich sowohl nach der Menge der angewandten Enzymlösung als auch nach dem größeren oder kleineren Gehalt derselben an säurebindenden Stoffen richtet. Eine genaue Bestimmung dieser letzteren ist nicht möglich, und es wird deshalb auch nicht möglich sein, die optimale Schwefelsäuremenge bei sonst konstanten Versuchsbedingungen anzugeben.

Zieht man dagegen das in der Einleitung dieser Abhandlung erwähnte Verhältnis zwischen Säuregrad und Wasserstoffionen-

¹⁾ Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1, 337, 1881.

²⁾ Journ. of the Chem. Soc. London 57, 854, 1890;

konzentration in Betracht, dann wird man Grund haben, zu erwarten, daß die optimale Konzentration der Wasserstoffionen, unter sonst gleichen Versuchsbedingungen, dieselbe sein wird, unabhängig von der Art und Menge des Invertins. Daß diese Annahme wirklich richtig ist, geht aus zahlreichen hier im Laboratorium ausgeführten Versuchen hervor. Von diesen mögen einige Reihen beispielsweise angeführt werden, welche mit drei Invertinlösungen von verschiedener Zusammensetzung und besonders von sehr verschiedenem Stickstoffgehalt ausgeführt wurden.

Aus Unterabschnitt 2, wo diese Versuchsreihen beschrieben werden, wird hervorgehen, daß, während die optimale Schwefelsäuremenge, was diese drei Enzymlösungen betrifft, sehr verschieden ist, die optimale Konzentration der Wasserstoffionen, wie es deutlich aus Fig. 3 (S. 268) hervorgeht, in allen drei Fällen dieselbe gewesen ist.

Die nächste Frage, welche wir einer Prüfung unterzogen haben, ist die, ob die optimale Wasserstoffionenkonzentration unabhängig von der bei den Versuchen zugegebenen Säure ist. Von vornherein mag es wahrscheinlich erscheinen, daß auch das Anion der Säure auf die Geschwindigkeit des Prozesses Einfluß haben kann; andererseits aber erscheint die Annahme nicht weniger natürlich, daß es die Ionen des für das Zustandekommen irgend eines biologischen Prozesses notwendigen Lösungsmittels, des Wassers, sind, welche — bei der Invertinspaltung die Wasserstoffionen, bei verschiedenen anderen enzymatischen Prozessen die Hydroxylionen — eine weit größere und vielleicht eine ganz andere Rolle als die übrigen in biologischen Flüssigkeiten gegenwärtigen Ionen spielen. Gemäß dieser letzteren Anschauungsweise hat es sich denn auch gezeigt, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration beinahe dieselbe ist, gleichgültig, ob durch Schwefelsäure, Phosphorsäure oder Citronensäure angesäuert wird. Daß wir für unsere Versuche die beiden letzteren oder richtiger gesagt, passende Mischungen von Phosphaten oder Citraten gewählt haben, liegt daran, daß solche Mischungen, wie schon früher (siehe S. 149) erwähnt, als vorzügliche Puffer wirken. Im Unterabschnitte 3 mit zugehöriger Fig. 4 (S. 269) finden einige der hierher gehörigen Versuchsreihen eine nähere Erwähnung.

Bereits in der Einleitung (siehe S. 136) ist, bei der allgemeinen Erwähnung des Verlaufes der Wasserstoffionenkonzentrationskurven, die Möglichkeit angedeutet worden, daß das Absteigen dieser Kurven auf der einen, oder — in gewissen Fällen — vielleicht auf beiden Seiten der Optimalzone auf einen Zerfall des Enzyms bei der betreffenden Ionenkonzentration zurückzuführen sei. Wenn diese Annahme richtig ist, so wird es einleuchtend, daß die Kenntnis sowohl von der Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit, als auch von der Stabilität des Enzyms unter diesen Verhältnissen von größter Wichtigkeit bei Studien über die Reaktionskinetik der Enzyme ist, indem ein Prozeß, welcher bei konstantem Enzymgehalt z. B. monomolekular verläuft, selbstverständlich eine stetige Abnahme der Reaktionskonstante zeigen wird in dem Falle, daß das Enzym während des Versuches nach und nach zerstört wird. Im Unterabschnitt 4 findet man einige Versuchsreihen zusammengestellt, welche sich auf dieses Verhältnis betreffs der Invertinspaltung beziehen.

1. Die Darstellung des Invertins und die Versuchsanordnung. Zur Darstellung der verwendeten Invertinlösungen wurde frische Brauerei-Unterhefe benutzt, welche gut gewaschen und gewässert, zuletzt ein paar Male mit destilliertem Wasser, und nachher abgepreßt wurde. Aus der so vorbereiteten halbtrockenen Hefemasse wurde dann die Invertinlösung in drei verschiedenen Weisen dargestellt.

a) Die Hefemasse wurde mit ihrem gleichen Gewicht Wasser von 15° angerührt, 5 Tage unter wiederholtem Umschütteln im Eisschrank aufbewahrt und dann die Hefe abfiltriert. Die so erhaltene, klare Invertinlösung wurde mit $\frac{1}{4}$ ihres Gewichts Kaolin geschüttelt¹⁾ und wieder filtriert. Das klare, gelbe Filtrat wurde mit Toluol gesättigt und im Eisschrank aufbewahrt; vor dem Gebrauch wurde mit einer passenden Menge von destilliertem Wasser verdünnt.

Die im folgenden erwähnte Invertinlösung B ist aus einer auf diese Weise erhaltenen Lösung durch Verdünnung mit 3 Raumteilen Wasser dargestellt.

Wird eine solche Invertinlösung auf ca. 52° während etwa 1 Stunde erwärmt, dann scheidet sich etwas Niederschlag ab,

¹⁾ L. Michaelis, diese Zeitschr. 7, 489, 1907.

und gleichzeitig wird das Inversionsvermögen etwas abgeschwächt. Zum Ersatz erreicht man, daß die Versuchsflüssigkeit bei Inversion mittels einer solchen vorgewärmten und filtrierten Invertinlösung nicht getrübt wird.

Invertinlösung A ist eine in dieser Weise behandelte, mit 1 Raumteil Wasser verdünnte Lösung.

β) Die Hefemasse wurde bei 35 bis 40° 4 bis 5 Stunden mit Wasser behandelt, im übrigen ganz wie unter a) beschrieben.

Invertinlösung D ist aus einer in dieser Weise erhaltenen Lösung durch Verdünnung mit 1 Raumteil Wasser dargestellt; Invertinlösung E ist eine ähnliche Lösung, mit 3 Raumteilen Wasser verdünnt.

γ) Die Hefemasse wurde bei Zimmertemperatur mit $\frac{4}{5}$ ihres Gewichts 95%igen Alkohols verrührt.¹⁾ Nach 24 Stunden wurde filtriert und die Hefe abgepreßt. Die abgepreßte Hefemasse wurde mit ihrem doppelten Gewicht Wasser verrieben, während 5 Tagen im Eisschrank aufbewahrt und dann filtriert. Das schön hellgelbe Filtrat wurde mit Kaolin geschüttelt, im Vakuum bei niedriger Temperatur bis auf die Hälfte eingengt — um den letzten Rest des Alkohols zu entfernen — wonach die Flüssigkeit mit Toluol gesättigt und im Eisschrank aufbewahrt wurde.

Invertinlösung C ist aus einer so dargestellten Lösung durch Verdünnung mit 7 Raumteilen Wasser, Invertinlösung F aus einer ähnlichen Lösung durch Verdünnung mit $6\frac{1}{2}$ Raumteilen Wasser hergestellt.

Die Versuchsmethode. Nachdem durch vorläufige Versuche ermittelt war, wie stark die betreffende Enzymlösung verdünnt werden mußte, um in passender Zeit eine passende Inversion zu geben, und nachdem durch vorläufige colorimetrische Messungen die Menge von Schwefelsäure oder bei anderen Versuchen von Phosphat- bzw. Citratmischung festgestellt war, welche den Versuchsflüssigkeiten zuzugeben wäre, um ihnen die gewünschte Konzentration der Wasserstoffionen zu erteilen, wurden die unter Abschnitt 2 und 3 beschriebenen Versuche in folgender Weise ausgeführt.

In eine Anzahl 100 ccm-Kolben wurden je 50 ccm einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung nebst der durch die orientierenden Versuche ermittelten Menge Schwefelsäure, Phosphat- oder Citratmischung genau abgemessen und schließlich soviel Wasser zu-

¹⁾ W. A. Osborne, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 408, 1899 und B. Hafner, *ibid.* 42, 3, 1904.

gegeben, daß das Volum nach später erfolgtem Invertinzusatz 95 ccm betrug. Die Invertinlösung wurde in eine Reihe kleiner Kolben verteilt und jede der zubereiteten Mischungen nebst der für sie bestimmten Portion Invertin in einem Wasserbad bei 52° während 10 Minuten vorgewärmt. Zu einer bestimmten Stunde wurde dann die Rohrzuckerlösung mit der geplanten, genau abpipettierten Menge Invertin unter sorgsamem Schütteln versetzt und in ein mit Rührer und Ostwaldschem Regulator versehenes Wasserbad gestellt. Um Verdampfung zu verhindern, war das Wasser des letzteren mit einer Ölschicht bedeckt. Die Temperatur wurde konstant auf 52,5° gehalten. Genau nach einer Stunde wurden 2 ccm 3%ige Mercurichloridlösung zu jeder Probe gegeben, wodurch die Inversion augenblicklich zum Aufhören gebracht wird. Der Kolben wurde dann in kaltes Wasser gestellt und im Dunkel oder zerstreuten Tageslicht aufbewahrt, bis die Polarisation ausgeführt werden konnte; es wurde vorher genau auf 100 ccm aufgefüllt und die Flüssigkeit wenn nötig filtriert. Die polarimetrische Messung wurde — wegen der Multirotation — niemals früher als 4 Stunden und selten später als 30 Stunden nach Zugabe der Mercurichloridlösung ausgeführt.¹⁾

¹⁾ C. S. Hudson, Journ. of the Amer. Chem. Soc. 30, 1160 und 1564, 1908, hat zweifelsohne recht, wenn er viele der früheren Untersuchungen als verfehlt betrachtet, weil nicht genügend Rücksicht auf die Multirotation des gebildeten Invertzuckers und speziell auf die der Glucose genommen worden ist. Hudson empfiehlt deshalb, die Inversion durch Zusatz von ein wenig Kalilauge zu unterbrechen, wie es O'Sullivan und Tompson (l. c.) getan haben, oder noch besser, durch Zugabe einiger Tropfen starker Sodalösung. Durch Alkalischemachen der Flüssigkeit erreicht man nämlich nicht nur die Abbrechung der Inversion, sondern auch, daß die Drehung im Laufe von einigen Minuten konstant wird. Wir haben das Verfahren Kjeldahls (l. c.), nach welchem die Inversion durch Mercurichloridzusatz abgebrochen wird, befolgt, weil wir gefunden haben, daß die Multirotation nach 3 bis 4 Stunden praktisch gesprochen nicht mehr merkbar ist, und weil wenigstens einige der von uns untersuchten, mit Mercurichlorid behandelten Lösungen sich bei tageweiser Aufbewahrung als stabiler erwiesen als entsprechende Lösungen nach Hudson behandelt. Wir beabsichtigen indessen, mehrere diesbezügliche vergleichende Kontrollversuche auszuführen und werden später in einer ausführlichen Abhandlung über die Invertinspaltung auch diese Seite der Sache erörtern.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen mit aktivem Invertin wurden, wie aus den folgenden Tabellen hervorgehen wird, einige Versuche mit passivem Invertin (d. h. eine während 1 Stunde in siedendem Wasser erwärmte und dann filtrierte Invertinlösung) vorgenommen. Wir erzielten dadurch Auskunft über die invertierende Wirkung, welche von den Wasserstoffionen der Versuchsflüssigkeit ohne Gegenwart des Invertins herrührte, und zwar haben wir die Enzymwirkung als die Differenz zwischen der gesamten und andererseits der durch die Wasserstoffionen bewirkten Inversion berechnet.¹⁾

Aus diesen Versuchen mit passivem Invertin ging hervor, daß in Lösungen mit einer geringeren Wasserstoffionenkonzentration als $10^{-3,7}$ bis $10^{-3,8}$ (d. h. somit einem p_H größer als 3,7 bis 3,8 entsprechend) keine meßbare von den Wasserstoffionen lediglich herrührende invertierende Wirkung vor sich ging.²⁾ Wir haben deshalb für alle Lösungen einer Versuchsreihe die Anfangsdrehung (α) gleich der Mitteldrehung sämtlicher passiven Lösungen der Reihe, deren Wasserstoffionenexponent größer als 3,8 war, gesetzt.³⁾

¹⁾ Wir sind uns wohl bewußt, daß diese Berechnungsweise nur dann ganz korrekt sein würde, wenn von der Differenz der Geschwindigkeitskonstanten die Rede wäre; in dem hier erwähnten Zusammenhang ist aber dieser kleine Fehler belanglos.

²⁾ In den Fällen, wo die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit so groß gewesen ist, daß die Wasserstoffionen allein eine Inversion hervorrufen konnten, haben wir so gut wie immer sowohl aktive als auch passive Versuche gemacht; wenn das in Ausnahmefällen nicht geschehen ist, haben wir die invertierende Wirkung der Wasserstoffionen durch graphische Interpolation ermittelt. In den Tabellen sind derartige graphisch bestimmte Werte eingeklammert.

³⁾ Durch Kontrollversuche mit reinen Lösungen von Rohrzucker, Glucose oder Fructose, welche teils mit reinem Wasser, teils mit den bei den Invertierungsversuchen gebrauchten Lösungen (Invertinlösung, Mercurichloridlösung, verdünnter Schwefelsäure, Phosphaten- bzw. Citratmischungen) verdünnt wurden, haben wir uns vergewissert, daß die Zugabe kleiner Mengen dieser Stoffe keinen meßbaren Einfluß auf das Drehungsvermögen ausübte, und daß selbst solche Mengen von Phosphat- bzw. Citratmischungen wie diejenigen, welche bei ein paar der im Unterabschnitt 3 beschriebenen Versuche zur Verwendung kamen, das Drehungsvermögen so wenig beeinflussten, daß wir in Anbetracht des Zweckes, welchen die Versuche verfolgten, es nicht für notwendig gehalten haben, darauf Rücksicht zu nehmen.

Bei der Berechnung der invertierten Zuckermenge ist für eine etwa 5%ige Rohrzuckerlösung $[\alpha]_D^{20}$ gleich $+66,62^\circ$ gesetzt¹⁾ und für eine Invertzuckerlösung ähnlicher Stärke gleich $-19,81^\circ$.

Für eine etwa 2,5%ige Lösung von Glucose ist $[\alpha]_D^{20} = +52^\circ,55^2)$ und für eine etwa 2,5%ige Fructoselösung $= -92^\circ,17^3)$;

$$\frac{1}{2} (+52,55 - 92,17) = -19,81.$$

Da 342,18 g Rohrzucker 360,20 g Invertzucker geben, so wird eine Rohrzuckermenge, welche einer Drehung von $+\alpha^\circ$ entspricht, nach vollständiger Inversion eine Drehung gleich $-\alpha \frac{19,81 \times 360,20}{66,62 \times 342,18} = -\alpha \times 0,313$ geben. Die gesamte Drehungsänderung bei vollständiger Inversion bekommt man somit durch Multiplikation von α , dessen Wert über jeder der folgenden Tabellen angegeben ist, mit 1,313.

Die unter Abschnitt 4 beschriebenen 6 Versuche wurden nach ganz demselben Prinzip wie die oben erwähnten ausgeführt. Für jeden Versuch wurden angewendet 150 ccm Rohrzuckerlösung, 30 ccm einer passenden Citratmischung und 75 ccm Wasser, welche in einen 300 ccm-Jenakolben gegeben wurden. Der Kolben war durch einen mit einer geeichten 25 ccm-Pipette versehenen Stöpsel verschlossen. Nach Erwärmen auf 52° in gegebener Weise und in gegebener Zeit wurden 30 ccm einer ebenfalls durch die gegebene Zeit vorgewärmten Invertinlösung zugefügt und der Kolben nach gutem Schütteln in das vorerwähnte Wasserbad, dessen Temperatur während der ganzen Versuchsdauer $52,1$ bis $52,2^\circ$ betrug, gestellt. 2 Minuten nach der Zugabe der Enzymlösung wurde die erste Probe von 25 ccm entnommen, und danach die folgenden in Zwischenräumen von einer oder mehreren Viertelstunden. Die Proben wurden in Reagenzgläser, welche in kaltem Wasser standen und je 1 ccm 3%ige Mercurichloridlösung enthielten, abpipettiert. Im übrigen war das Verfahren und die Berechnung des Umfanges der Inversion ganz wie oben.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde in getrennt dargestellten Lösungen derselben Zusammensetzung wie die eigent-

1) H. Landolt, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 197, 1888.

2) B. Tollens, ibid. 17, 2238, 1884.

3) H. Ost, ibid. 24, 1638, 1891.

lichen Versuchsfüssigkeiten ermittelt. Die Bestimmung wurde in der oben (S. 205) angegebenen Weise colorimetrisch ausgeführt. Im letzten Stab der Tab. XVI bis XXIII und am Kopfe der Tab. XXIV bis XXIX findet sich die Art der benutzten Vergleichsfüssigkeiten sowie die Nummer, welche der angewandte Indicator im früher (S. 253) gegebenen Indicatorverzeichnis führt, angegeben. Gewöhnlich ließ sich in der Wasserstoffionenkonzentration ein Unterschied zwischen der mittels aktiven und der entsprechenden mittels passiven Invertins dargestellten Lösungen nicht nachweisen. Auch war, wenigstens in den Lösungen, welche Puffer (Phosphat- oder Citratmischungen) enthielten, ein Unterschied in der Wasserstoffionenkonzentration vor und nach der Inversion nicht zu beobachten.

Noch ist zu bemerken, daß, während die Konzentration der Wasserstoffionen sich sowohl in den phosphat- bzw. citrathaltigen als auch in den nur einigermaßen schwefelsäurereichen Lösungen mit großer Genauigkeit ermitteln läßt, dasselbe nicht der Fall ist in betreff der sehr schwefelsäurearmen oder gar schwefelsäurefreien Mischungen von Enzym- und Rohrzuckerlösungen. Eine colorimetrische Messung solcher Lösungen, welche nur ganz geringfügige Mengen schwacher Elektrolyten enthalten, schließt nämlich die Möglichkeit nicht aus, daß der Gehalt der angewandten Indicatorlösung an Wasserstoffionen hinreichend sein kann, um die Ionenkonzentration der fast keine „Puffer“ enthaltenden Flüssigkeit zu verschieben.¹⁾ Auf der anderen Seite läßt auch die elektrometrische Messung an Schärfe zu wünschen übrig, weil der Gehalt der Flüssigkeit an Elektrolyten und damit ihr Leitvermögen nur sehr gering ist.

2. Versuche mit Zusatz von Schwefelsäure. In den folgenden Tab. XVI bis XIX finden sich die Ergebnisse einer Reihe Inversionsversuche mit Zusatz verschiedener Mengen 0,02 n-Schwefelsäure und unter Anwendung der drei verschiedenen Invertinlösungen A, B und C, zusammengestellt. Das Verfahren beim Ausführen der Versuche ist oben (S. 259) beschrieben, und übrigens geben die Tabellen selbst alle notwendigen Aufklärungen. Hier soll nur darauf aufmerksam gemacht werden,

¹⁾ Vgl. H. Friedenthal, Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 117, 1904. — Bruno Fels, *ibid.* 10, 214. — Ed. Salm, *ibid.* 10, 345.

daß, während die gesamte Sulfationmenge innerhalb jeder der drei ersten Versuchsreihen variiert, sie unverändert dieselbe geblieben ist in allen Versuchen der letzten Versuchsreihe (Tab. XIX), welche sonst in jeder Beziehung ganz wie die vorletzte Reihe (Tab. XVIII) ausgeführt wurde.

Tabelle XVI.

50 ccm Rohrzuckerlösung + a ccm 0,02 n-Schwefelsäure + (35 - a) ccm Wasser + 10 ccm Invertinlösung A (13,75 mg N)
($\alpha = + 6,30$).

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Die ange- wandte Menge 0,02 n- Schwe- felsäure (in ccm) a	Die beobach- tete Dre- hungs- änderung (Grad:)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad:)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Die Wasser- stoffionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad:)	Inver- sion (% der ges. Rohr- zucker- menge)	pH	Be- merkungen
1	akt.	0	4,16	—	4,16	50,3	6,81	Phosphat- misch.; Nr. 14
2	do.	2	5,54	—	5,54	67,0	6,37	Phosphat- misch.; Nr. 13
3	do.	3,5	6,22	—	6,22	75,2	5,86	do.
4	pass.	3,5	0,00	—	—	—	5,86	do.
5	akt.	6	6,59	—	6,59	79,7	5,19	Citrat- misch.; Nr. 12
6	do.	9	6,67	—	6,67	80,6	4,62	do.
7	do.	14	6,58	—	6,58	79,5	4,00	Citr.- u. Gly- kokollmisch.; Nr. 10
8	do.	18	6,49	0,03	6,46	78,1	3,61	do.
9	pass.	18	0,03	0,03	—	—	3,61	do.
10	akt.	26	5,55	0,14	5,41	65,4	3,22	Glykokoll- misch.; Nr. 8
11	pass.	26	0,14	0,14	—	—	3,22	do.
12	akt.	35	1,75	0,28	1,47	17,8	2,89	do.
13	pass.	35	0,28	0,28	—	—	2,89	do.

Es geht aus diesen Tabellen hervor, daß die optimale Schwefelsäuremenge für die verschiedenen Enzymlösungen weit verschieden ist, und, wie es zu erwarten war, wachsend mit dem Stickstoffgehalt der Enzymlösung. Es ist bemerkenswert, daß diejenige Säuremenge, 9 ccm, welche bei der ersten Versuchsreihe mit der stickstoffreichen Invertinlösung die beste Inversion gegeben hat (Tabelle XVI, Versuch Nr. 6), in den beiden

Tabelle XVII.

50 ccm Rohrzuckerlösung + α ccm 0,02 n-Schwefelsäure + (35 - α) ccm Wasser + 10 ccm Invertinlösung B (7,15 mg N)
($\alpha = + 6,43$).

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Die ange- wandte Menge 0,02 n- Schwe- felsäure (in ccm) α	Die beobach- tete Dre- hungs- änderung (Grad:)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad:)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Die Wasser- stoffionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad:)	Inver- sion her- rüh- rende Dre- hungs- änderung (% der ges. Rohr- zucker- menge)	p_{H^+}	Be- merkungen
14	akt.	0	4,82	—	4,82	57,1	6,90	Phosphat- misch.; Nr. 14
15	do.	1,5	7,03	—	7,03	83,3	6,10	Phosphat- misch.; Nr. 13
16	do.	3	7,55	—	7,55	89,4	5,23	Citrat- misch.; Nr. 12
17	pass.	3	0,00	—	—	—	5,23	do.
18	akt.	4,5	7,64	—	7,64	90,5	4,76	do.
19	do.	6	7,65	—	7,65	90,6	4,36	do.
20	do.	8	7,50	—	7,50	88,8	3,86	Glykokoll- misch.; Nr. 10
21	do.	12	7,44	0,16	7,28	86,2	3,37	do.
22	pass.	12	0,16	0,16	—	—	3,37	do.
23	akt.	20	4,34	0,29	4,05	48,0	3,02	Glykokoll- misch.; Nr. 8
24	pass.	20	0,29	0,29	—	—	3,02	do.
25	akt.	35	0,86	0,58	0,28	3,3	2,55	Glykokoll- misch.; Nr. 7
26	pass.	35	0,58	0,58	—	—	2,55	do.

letzten Reihen mit der stickstoffarmen Invertinlösung hinreicht, um die Inversion beinahe völlig zu hemmen (Tabelle XVIII, Versuch Nr. 39; Tabelle XIX, Versuch Nr. 53).

Dagegen ersieht man aus den Tabellen sowie aus der Fig. 3 (S. 268), welche die Versuchsergebnisse graphisch wiedergibt, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration in allen Versuchsreihen dieselbe ist, $p_{H^+} = 4,4$ bis 4,6 entsprechend.

Es folgt von selbst, daß man aus diesen Versuchen nur folgern darf, daß die Invertinspaltung des Rohrzuckers unter den eben beschriebenen Umständen (Rohrzuckerkonzentration, Versuchstemperatur und Versuchsdauer)

Tabelle XVIII.

50 ccm Rohrzuckerlösung + a ccm 0,02 n-Schwefelsäure + $(35 - a)$ ccm Wasser + 10 ccm Invertinlösung C (3,3 mg N)
 $(\alpha = + 6,91)$.

Versuch Nr.	Art des Invertins	Die angewandte Menge 0,02 n-Schwefelsäure (in ccm) a	Die beobachtete Drehungsänderung (Grad:)	Die von der invertierenden Wirkung der Wasserstoffionen herrührende Drehungsänderung (Grad:)	Die von der Wirkung des Enzyms herrührende		Die Wasserstoffionenkonzentration	
					Drehungsänderung (Grad:)	Inversion (% der ges. Rohrzucker- menge)	p_H	Bemerkungen
27	akt.	0	6,68	—	6,68	73,6	6,34	Phosphatmisch.; Nr. 13
28	do.	0,5	7,55	—	7,55	83,2	6,03	do.
29	do.	1,0	7,79	—	7,79	85,9	5,54	Citratmisch.; Nr. 12
30	pass.	1,0	0,00	—	—	—	5,54	do.
31	akt.	1,5	7,93	—	7,93	87,4	5,13	do.
32	do.	2,0	7,95	—	7,95	87,6	4,65	do.
33	do.	2,5	7,95	—	7,95	87,6	4,45	do.
34	do.	3,0	7,93	—	7,93	87,4	4,32	do.
35	do.	4,0	6,66	—	6,66	73,4	3,86	Citr.- u. Glykokollmisch.; Nr. 10
36	do.	5,0	2,77	—	2,77	30,5	3,68	do.
37	do.	6,0	0,93	0,05	0,88	9,7	3,43	Glykokollmisch.; Nr. 10
38	pass.	6,0	0,05	0,05	—	—	3,43	do.
39	akt.	9,0	0,43	0,17	0,26	2,9	3,15	Glykokollmisch.; Nr. 8
40	pass.	9,0	0,17	0,17	—	—	3,15	do.

in solchen Lösungen am weitesten geht, deren Wasserstoffionenkonzentration bei 18° dem $p_H = 4,4$ bis $4,6$ entspricht. Man darf indessen nicht voraussetzen, daß die Änderung der Dissoziations- und Hydrolyseverhältnisse bei Erwärmung von 18° bis auf die Versuchstemperatur $52,5^\circ$ in allen untersuchten Lösungen einen parallelen Verlauf nimmt, und es ist deshalb auch unsere Absicht, die endgültigen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration nach dem genauesten Verfahren, dem elektrometrischen, und zwar nicht bei 18° , sondern bei der Versuchstemperatur, auszuführen. Wenn wir auch somit die hier mitgeteilten Versuche als vorläufige

Tabelle XIX.

50 ccm Rohrzuckerlösung + a ccm 0,02 n-Schwefelsäure + $(35 - a)$ ccm
 0,02 n-Natriumsulfatlösung + 10 ccm Invertinlösung C (3,3 mg N)
 ($\alpha = + 6,91$).

Versuch Nr.	Art des In- ver- tins	Die ange- wandte Menge 0,02 n- Schwe- felsäure (in com) a	Die be- obach- tete Dre- hungs- änderung (Grad:)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad:)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Die Wasser- stoffionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad:)	Inver- sion (% der ges. Bohr- zucker- menge)	$P_{H'}$	Be- merkungen
41	akt.	0	6,74	—	6,74	74,3	6,37	Phosphat- misch.; Nr. 13
42	do.	0,5	7,40	—	7,40	81,6	6,03	do.
43	do.	1,0	7,57	—	7,57	83,4	5,54	Citrat- misch.; Nr. 12
44	pass.	1,0	0,02	—	—	—	5,54	do.
45	akt.	1,5	7,63	—	7,63	84,1	5,31	do.
46	do.	2,0	7,82	—	7,82	86,2	4,74	do.
47	do.	2,5	7,87	—	7,87	86,7	4,54	do.
48	do.	3,0	7,85	—	7,85	86,5	4,32	do.
49	do.	4,0	7,47	—	7,47	82,3	3,95	Citr.- u. Gly- kokollmisch.; Nr. 10
50	do.	5,0	5,07	—	5,07	55,9	3,81	do.
51	do.	6,0	2,07	0,17	1,90	20,9	3,54	Glykokoll- misch.; Nr. 10
52	pass.	6,0	0,17	0,17	—	—	3,54	do.
53	akt.	9,0	0,49	0,32	0,17	1,9	3,20	Glykokoll- misch.; Nr. 8
54	pass.	9,0	0,32	0,32	—	—	3,20	do.

ansehen, müssen wir jedoch das angewandte Verfahren für hinreichend genau halten, um einen vollauf zuverlässigen Eindruck von den hier erwähnten Verhältnissen zu geben. Die Genauigkeit der Messungen wird übrigens veranschaulicht, wenn man bemerkt, wie schön die stark absteigenden Äste der zwei Kurven, welche den beiden letzten unter beinahe denselben Bedingungen ausgeführten Versuchsreihen entsprechen, zusammenfallen, wenngleich die zusammengehörigen Versuche (weil bei der einen Reihe mit Wasser, bei der anderen mit Natriumsulfatlösung verdünnt worden ist) eine etwas verschiedene Konzentration der Wasserstoffionen und eine daraus folgende etwas verschiedene Inversion zeigen. So gaben:

Versuch Nr. 49 (Tabelle XIX):	$p_H = 3,95$;	Inversion: 82,3%
„ „ 35 („ XVIII):	„ = 3,86;	„ 73,4%
„ „ 50 („ XIX):	„ = 3,81;	„ 55,9%
„ „ 36 („ XVIII):	„ = 3,68;	„ 30,5%
„ „ 51 („ XIX):	„ = 3,54;	„ 20,9%
„ „ 37 („ XVIII):	„ = 3,43;	„ 9,7%
„ „ 53 („ XIX):	„ = 3,20;	„ (1,9%)
„ „ 39 („ XVIII):	„ = 3,15;	„ (2,9%)

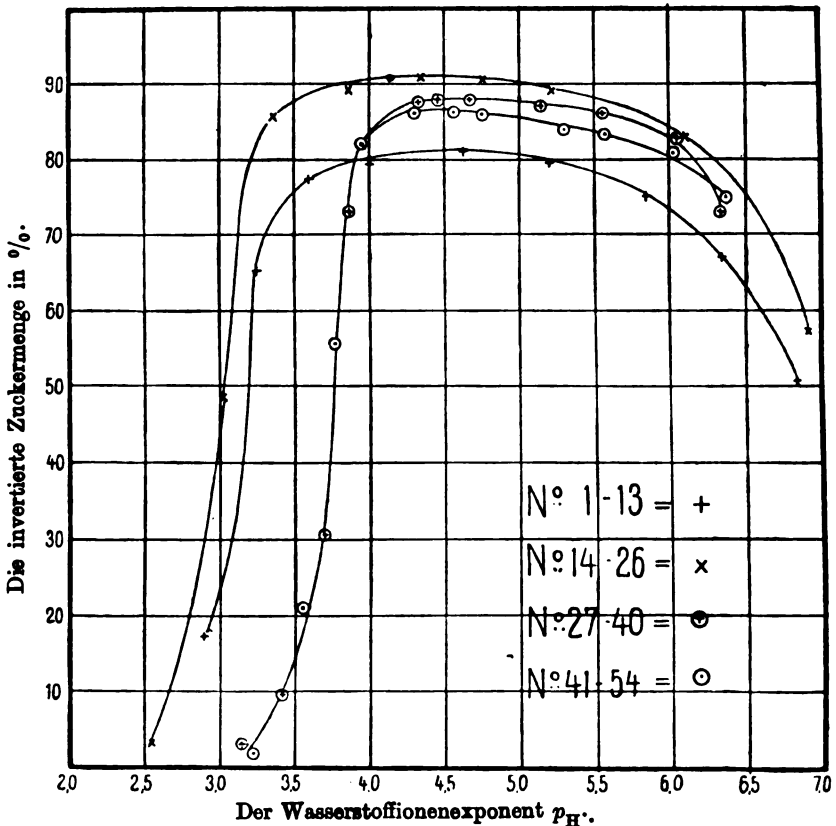


Fig. 3.

Mit Anschluß an das schon in der Einleitung (siehe S. 136) Angeführte, möchte ich es nicht unterlassen, auf die Übereinstimmung aufmerksam zu machen, welche zwischen den auf Fig. 3 dargestellten Wasserstoffionenkonzentrationskurven und den gewöhnlichen Enzym-Temperaturkurven besteht. Als

typische Beispiele dieser letzteren kann ich die Temperaturkurven Kjeldahls für Malzdiastase und für Invertin¹⁾ anführen, welche beide einen langsam absteigenden Teil für Temperaturen unter dem Optimalpunkte und einen schroffer abfallenden Teil für Temperaturen über demselben haben, ganz den auf der Fig. 3 dargestellten Kurven entsprechend.

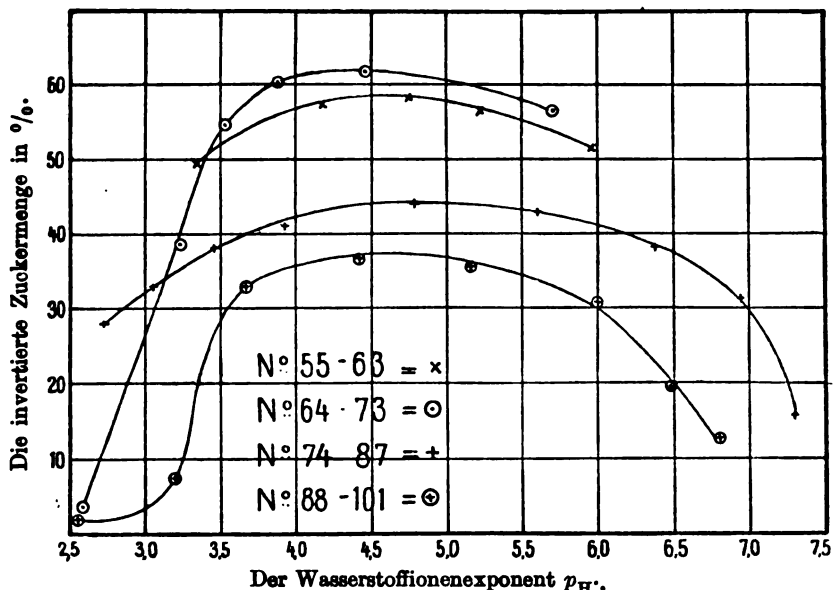


Fig. 4.

3. Versuche mit Zugabe von Phosphat- oder Citratmischung. In den Tabellen XX bis XXIII und graphisch auf der Fig. 4 finden sich die Ergebnisse von zwei Versuchereihen mit Zugabe von Phosphaten und von zwei Reihen mit Citratzusatz zusammengestellt.

Während die erste und die dritte Reihe in 95 ccm nur 10 ccm $\frac{\text{mol.}}{15}$ Phosphat- bzw. Citratmischung enthielten, so enthielten die zweite und die vierte Reihe in demselben Volum 10mal soviel Phosphat- bzw. Citratmischung.

Aus diesen Tabellen und besonders aus der Fig. 4 geht hervor, daß sowohl die Phosphatversuche als auch die Versuche mit Zugabe von Citraten ihren

¹⁾ Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1, 139 und 334, 1879 und 1881.

Tabelle XX.

50 ccm Rohrzuckerlösung + 30 ccm Wasser + 10 ccm Phosphatmischung (ein Gemisch von $\frac{\text{mol.}}{15}$ sek. Natriumphosphat und $\frac{\text{mol.}}{15}$ Phosphorsäure) + 5 ccm Invertinlösung D

(1,8 mg N).

($\alpha = + 6,24$)

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Zusammen- setzung der Phos- phat- mischung	Die be- obach- tete Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad.)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Wasserstoff- ionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Inver- sion (% der ges. Bohr- zucker- menge)	p_{H}	Bemerkung
55	akt.	5,5 ccm sek. 4,5 " Säure	4,25	—	4,25	51,9	5,99	Phosphat- misch.; Nr. 13
56	pass.	do.	— 0,02	—	—	—	do.	do.
57	akt.	5,05 ccm sek. 4,95 " Säure	4,68	—	4,68	57,1	5,22	Citrat- misch.; Nr. 12
58	do.	4,85 ccm sek. 5,15 " Säure	4,77	—	4,77	58,2	4,74	do.
59	pass.	do.	0,01	—	—	—	do.	do.
60	akt.	4,60 ccm sek. 5,40 " Säure	4,72	—	4,72	57,6	4,16	Citrat- misch.; Nr. 10
61	pass.	do.	0,01	—	—	—	do.	do.
62	akt.	3,75 ccm sek. 6,25 " Säure	4,24	0,16	4,08	49,8	3,34	Glykokoll- misch.; Nr. 8
63	pass.	do.	0,16	0,16	—	—	do.	do.

Optimalpunkt bei nahezu derselben Wasserstoffionen-
konzentration haben wie die Schwefelsäureversuche
($p_{\text{H}} = 4,4$ bis $4,6$), und zwar gleichgültig ob wenig oder
viel der Puffermischungen zur Anwendung kommt.

4. Reaktionskinetische Versuche. Es liegt nicht in
meiner Absicht, hier der reichhaltigen Literatur betreffend die
Reaktionskinetik der Invertinspaltung näher zu treten; des
Verständnisses wegen aber mögen ein paar Hauptpunkte an-
geführt werden:

Seit der großen Arbeit O'Sullivan's und Tompson's
über das Invertin¹⁾ nahm man gewöhnlich an, daß die Invertin-
spaltung des Rohrzuckers wie eine monomolekulare Reaktion

¹⁾ Journ. of the Chem. Soc. London 57, 834, 1890.

Tabelle XXI.

50 ccm Rohrzuckerlösung + 20 ccm Wasser + 20 ccm Phosphatmischung (ein Gemisch von $\frac{\text{mol.}}{3}$ sek. Natriumphosphat und $\frac{\text{mol.}}{3}$ Phosphorsäure) + 5 ccm Invertinlösung D (1,8 mg N).

$$(\alpha = + 6,31)$$

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Zusammen- setzung der Phos- phat- mischung	Die be- obach- tete Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad.)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Wasserstoff- ionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Inver- sion (% der ges. Rohr- zucker- menge)	p _H	Bemerkung
64	akt.	11 ccm sek. 9 " Säure	4,68	—	4,68	56,5	5,68	Phosphat- misch.; Nr. 13
65	pass.	do.	0,00	—	—	—	do.	do.
66	akt.	10,1 ccm sek. 9,9 " Säure	5,07	—	5,07	61,2	4,45	Citrat- misch.; Nr. 12
67	do.	10 ccm sek. 10 " Säure	4,98	—	4,98	60,1	3,88	Citr.- u. Glykokoll- misch.; Nr. 10
68	do.	9,7 ccm sek. 10,3 " Säure	4,55	0,04	4,51	54,4	3,55	Glykokoll- misch.; Nr. 10
69	pass.	do.	0,04	0,04	—	—	do.	do.
70	akt.	9,2 ccm sek. 10,8 " Säure	3,36	0,14	3,22	38,9	3,22	Glykokoll- misch.; Nr. 8
71	pass.	do.	0,14	0,14	—	—	do.	do.
72	akt.	7,5 ccm sek. 12,5 " Säure	0,79	0,48	0,31	3,7	2,58	Glykokoll- misch.; Nr. 7
73	pass.	do.	0,48	0,48	—	—	do.	do.

verlaufe, derart, daß die Geschwindigkeitskonstante durch die folgende Gleichung bestimmt wurde:

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$$

oder für $t_1 = 0, x_1 = 0$

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{A}{A - x} \quad (a)$$

wo A die ursprüngliche Menge von Rohrzucker und x die nach Verlauf der Zeit t gespartene Menge bedeutet.

Später hat indessen V. Henri¹⁾ gefunden, daß die Spaltung schneller als eine monomolekulare Reaktion verläuft, was sich

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 39, 194, 1902.

Tabelle XXII.

50 ccm Rohrzuckerlösung + 30 ccm Wasser + 10 ccm Citratmischung (ein Gemisch von $\frac{\text{mol.}}{10}$ sek. Natriumcitrat und $\frac{\text{mol.}}{10}$ Citronensäure oder $\frac{\text{mol.}}{10}$ Natriumhydroxyd) + 5 ccm Invertinlösung E (2 mg N).

$$(\alpha = + 6,69)$$

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Zusammen- setzung der Citrat- mischung	Die be- obach- tete Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad.)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Wasserstoff- ionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad.)	Inver- sion (% der ges. Rohr- zucker- menge)	pH.	Bemerkung
74	akt.	5,15 ccm sek. Citr. 4,85 ccm NaOH	1,39	—	1,39	15,8	7,30	Phosphat- misch.; Nr. 14
75	pass.	do.	0,00	—	—	—	do.	do.
76	akt.	5,40 ccm sek. Citr. 4,60 ccm NaOH	2,77	—	2,77	31,5	6,94	do.
77	pass.	do.	0,01	—	—	—	do.	do.
78	akt.	6,0 ccm sek. Citr. 4,0 ccm NaOH	3,37	—	3,37	38,4	6,34	Phosphat- misch.; Nr. 13
79	do.	9,0 ccm sek. Citr. 1,0 ccm NaOH	3,79	—	3,79	43,1	5,59	Citrat- misch.; Nr. 12
80	do.	8,0 ccm sek. Citr. 2,0 ccm Citronens.	3,88	—	3,88	44,2	4,78	do.
81	pass.	do.	0,00	—	—	—	do.	do.
82	akt.	5,0 ccm sek. Citr. 5,0 ccm Citronens.	3,62	—	3,62	41,2	3,92	Citr.- u. Glykokoll- misch.; Nr. 10
83	do.	2,8 ccm sek. Citr. 7,2 ccm Citronens.	3,46	(0,08)	3,38	38,5	3,47	Glykokoll- misch.; Nr. 8
84	do.	1,0 ccm sek. Citr. 9,0 ccm Citronens.	3,11	0,28	2,83	32,2	3,05	do.
85	pass.	do.	0,28	0,28	—	—	do.	do.
86	akt.	10 ccm Citronen- säure	3,04	0,55	2,49	28,3	2,72	Glykokoll- misch.; Nr. 7
87	pass.	do.	0,55	0,55	—	—	do.	do.

dadurch bekundet, daß k , nach obenstehender Gleichung (α) berechnet, mit steigenden Werten von t anwächst; Henri findet konstante Werte für k , indem er folgende empirisch ermittelte Gleichung benutzt:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{A+x}{A-x} \quad (\beta)$$

Tabelle XXIII.

50 ccm Rohrzuckerlösung + 30 ccm Wasser + 10 ccm Citratmischung (ein Gemisch von mol. sek. Natriumcitrat und mol. Citronensäure bzw. mol. Natriumhydroxyd) + 5 ccm Invertinlösung E (2 mg N).

$$(\alpha = + 6,82)$$

Versuch Nr.	Art des In- vertins	Zusammen- setzung der Citrat- mischung	Die be- obach- tete Dre- hungs- ände- rung (Grad:)	Die von der inver- tierenden Wirkung der Wasser- stoffionen her- rührende Drehungs- änderung (Grad:)	Die von der Wir- kung des Enzyms herrührende		Wasserstoff- ionen- konzentration	
					Dre- hungs- ände- rung (Grad:)	Inver- sion (% der ges. Rohr- zucker- menge)	pH	Bemerkung
88	akt.	5,15 ccm sek. Citr. 4,85 ccm NaOH	1,11	—	1,11	12,4	6,81	Phosphat- misch.; Nr. 14
89	pass.	do.	0,02	—	—	—	do.	do.
90	akt.	5,4 ccm sek. Citr. 4,6 ccm NaOH	1,75	—	1,75	19,5	6,47	Phosphat- misch.; Nr. 13
91	pass.	do.	0,01	—	—	—	do.	do.
92	akt.	6,0 ccm sek. Citr. 4,0 ccm NaOH	2,76	—	2,76	30,8	6,01	do.
93	do.	9,0 ccm sek. Citr. 1,0 ccm NaOH	3,19	—	3,19	35,6	5,15	Citrat- misch.; Nr. 12
94	do.	8,0 ccm sek. Citr. 2,0 ccm Citronens.	3,29	—	3,29	36,7	4,41	do.
95	pass.	do.	0,02	—	—	—	do.	do.
96	akt.	5,0 ccm sek. Citr. 5,0 ccm Citronens.	2,99	(0,04)	2,95	32,9	3,65	Glykokoll- misch.; Nr. 10
97	do.	2,8 ccm sek. Citr. 7,2 ccm Citronens.	0,92	(0,25)	0,67	7,5	3,20	Glykokoll- misch.; Nr. 8
98	do.	1 ccm sek. Citr. 9 ccm Citronens.	1,11	0,92	0,19	2,1	2,53	Glykokoll- misch.; Nr. 7
99	pass.	do.	0,92	0,92	—	—	do.	do.
100	akt.	10 ccm Citronen- säure	2,33	2,18	0,15	1,7	2,07	do.
101	pass.	do.	2,18	2,18	—	—	do.	do.

Ferner ist zu bemerken, daß E. F. Armstrong¹⁾ bei Untersuchungen über die Spaltung des Milchzuckers mittels Kefirlactase oder Emulsin und über die Spaltung der Maltose mittels Maltase, im Gegensatz zu den Ergebnissen Henris, ab-

¹⁾ Proc. Roy. Soc. 73, 500, 1904.

steigende Werte für k gefunden hat, wenn die obenstehende Gleichung (a) bei der Berechnung benutzt wurde.

Schließlich kann noch hinzugefügt werden, daß C. S. Hudson¹⁾ in jüngster Zeit feststellen zu können glaubt, daß die Invertinspaltung des Rohrzuckers wirklich, wie von O'Sullivan und Tompson angegeben, monomolekulär verlaufe, und daß die von Henri und anderen Forschern gefundenen abweichenden Resultate davon herrühren, daß die Multirotation des Invertzuckers, und ganz besonders die der Glucose, bei diesen Untersuchungen nicht gebührend berücksichtigt worden sei.

Hudson hat in seiner Kritik früherer Untersuchungen gewiß recht, mißt aber wahrscheinlich doch der von ihm nachgewiesenen Fehlerquelle zu große Bedeutung bei, und weder er noch irgendein anderer der früheren Forscher ist darauf aufmerksam geworden, welche Rolle die Wasserstoffionenkonzentration bei der enzymatischen Reaktionskinetik spielt.

In den folgenden Tabellen XXIV bis XXIX findet sich eine Zusammenstellung der Ergebnisse einer Reihe Versuche, welche zwecks Aufklärung der hier erörterten Frage angestellt wurden. Das Versuchsverfahren ist oben (S. 262) beschrieben, und die Tabellen enthalten die meisten für das Verständnis notwendigen Daten, welche nur noch mit ein paar Bemerkungen ergänzt werden sollen.

Für jeden Versuch wurden 30 ccm der Enzymlösung F mit einem gesamten Stickstoffgehalt von 10,5 mg gebraucht.

Als Puffer dienten bei jedem Versuch 30 ccm einer Citratmischung von folgender Zusammensetzung:

Versuch a, Tabelle XXIV: 16,2 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
13,8 ccm 0,1 n-NaOH,

Versuch b, Tabelle XXV: 18 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
12 ccm 0,1 n-NaOH,

Versuch c, Tabelle XXVI: 24 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
6 ccm 0,1 mol. Citronensäure,

Versuch d, Tabelle XXVII: 19,5 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
10,5 ccm 0,1 mol. Citronensäure,

Versuch e, Tabelle XXVIII: 15 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
15 ccm 0,1 mol. Citronensäure,

Versuch f, Tabelle XXIX: 12 ccm 0,1 mol. sek. Natriumcitr. +
18 ccm 0,1 mol. Citronensäure.

¹⁾ Journ. of the Amer. Chem. Soc. 30, 1160 und 1564, 1908.

Am Kopfe jeder Tabelle ist die Anfangsdrehung, α_0 , der Lösung (mittels eines Parallelversuchs mit passivem Invertin gefunden) nebst der daraus berechneten Drehungsänderung bei vollständiger Inversion angeführt. Nur beim Versuch f (Tabelle XXIX) ist die Wasserstoffionenkonzentration so groß gewesen, daß die Wasserstoffionen als solche eine, wenn auch geringfügige invertierende Wirkung ausgeübt haben. In diesem Falle ist deshalb α_0 nicht dem passiven Versuche entnommen, sondern gleich dem entsprechenden Wert in dem gleichzeitig ausgeführten Versuch d (Tabelle XXVII) gesetzt, und da die Wasserstoffionen vielleicht während des Vorwärmens eine geringe Wirkung gehabt haben können, ist die Messung nach 2 Minuten eingeklammert.

Die Versuche a, b und c wurden zu gleicher Zeit, e für sich allein, und d und f gleichzeitig ausgeführt.

Bei der Berechnung der Reaktionskonstante habe ich die erste der oben (S. 271) unter (α) angeführten Gleichungen benutzt, weil sie schärfer als die zweite den „Gang“ der Reaktionskonstante zum Ausdruck bringt.

Tabelle XXIV.

$p_H = 6,68$ (Phosphatmischungen; Nr. 13).

$\alpha_0 = + 6,41; A = 6,41 \times 1,313 = 8,416.$

Marke der entnommenen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verflossene Zeit (in Minuten)	Die nach Ablauf der Zeit t beobachtete Drehungsänderung (Grad:)	$\frac{x}{A}$	$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$ $4343 \times k$
	t	x		
a_1	2	0,25	0,0297	91
a_2	17	2,45	0,2911	103
a_3	32	4,24	0,5038	111
a_4	47	5,57	0,6618	127
a_5	62	6,58	0,7818	147
a_6	92	7,75	0,9208	230
a_7	122	8,28	0,9838	

Tabelle XXV.

 $p_{\text{H}} = 6,30$ (Phosphatmischungen; Nr. 13). $\alpha_0 = +6,44; A = 6,44 \times 1,313 = 8,456.$

Marke der entnommenen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verfllossene Zeit (in Minuten) t	Die nach Ablauf der Zeit t beobachtete Drehungsänderung (Grad:) x	$\frac{x}{A}$	$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$ $4343 \times k$
b_1	2	0,30	0,0355	94
b_2	17	2,57	0,3039	115
b_3	32	4,50	0,5322	130
b_4	47	5,93	0,7013	148
b_5	62	6,94	0,8208	148
b_6	92	7,91	0,9355	128
b_7	122	8,23	0,9733	

Tabelle XXVI.

 $p_{\text{H}} = 4,80$ (Citratmischungen; Nr. 12). $\alpha_0 = +6,43; A = 6,43 \times 1,313 = 8,442.$

Marke der entnommenen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verfllossene Zeit (in Minuten) t	Die nach Ablauf der Zeit t beobachtete Drehungsänderung (Grad:) x	$\frac{x}{A}$	$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$ $4343 \times k$
c_1	2	0,41	0,0486	133
c_2	17	3,37	0,3992	165
c_3	32	5,57	0,6598	191
c_4	47	6,96	0,8244	185
c_5	62	7,66	0,9073	219
c_6	92	8,27	0,9796	125
c_7	122	8,37	0,9914	

Aus dem letzten Stabe dieser Tabellen geht hervor, daß in den am wenigsten sauren Lösungen (die Tabellen XXIV, XXV und XXVI) k mit wachsendem t ansteigt; in den etwas saureren Lösungen (Tabelle XXVII) wächst k langsamer und wird bei passender Wasserstoffionenkonzentration (Tabelle XXVIII) beinahe konstant, um endlich, wenn die Flüssigkeit hinreichend sauer wird (Tabelle XXIX), mit wachsendem t abzunehmen.

Tabelle XXVII.

 $p_H = 4,40$ (Citratmischungen; Nr. 12). $\alpha_0 = + 6,66; A = 6,66 \times 1,313 = 8,744.$

Marke der ent- nomme- nen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verflossene Zeit (in Minuten)	Die nach Ablauf der Zeit t be- obachtete Dre- hungsänderung (Grad:)	$\frac{x}{A}$	$\left(k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}\right)$ $4343 \times k$
	t	x		
d_1	2	0,55	0,0629	131
d_2	17	3,54	0,4048	155
d_3	32	5,70	0,6518	168
d_4	47	7,04	0,8051	180
d_5	62	7,83	0,8954	133
d_6	92	8,38	0,9583	36
d_7	122	8,46	0,9675	

Tabelle XXVIII.

 $p_H = 3,92$ (Citrat- und Glykokollmischungen; Nr. 10). $\alpha_0 = + 6,62; A = 6,62 \times 1,313 = 8,692.$

Marke der ent- nomme- nen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verflossene Zeit (in Minuten)	Die nach Ablauf der Zeit t be- obachtete Dre- hungsänderung (Grad:)	$\frac{x}{A}$	$\left(k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}\right)$ $4343 \times k$
	t	x		
e_1	2	0,54	0,0621	127
e_2	17	3,44	0,3958	127
e_3	32	5,30	0,6098	132
e_4	47	6,54	0,7524	135
e_5	62	7,34	0,8445	149
e_6	92	8,21	0,9445	126
e_7	122	8,49	0,9768	

Es ist in diesem Zusammenhange interessant, die verschiedenen Methoden zu beachten, mit welchen die früher genannten Forscher auf dem Gebiete der Invertinspaltung gearbeitet haben.

In der Abhandlung Henris wird nicht angegeben, ob er seine Versuchsflüssigkeiten mit Säuren oder sauren Salzen versetzt hat, und man darf wohl deshalb annehmen, daß er mit

reinen Mischungen von Enzym- und Zuckerlösungen gearbeitet hat. Solche Mischungen können, wie es die Tabellen XVI bis XIX (die Versuche Nr. 1, 14, 27 und 41) dartun, eine etwas verschiedene Wasserstoffionenkonzentration haben, entsprechen aber sicher immer am meisten den am wenigsten sauren (a und b) der oben erwähnten Lösungen. Es zeigt sich denn auch, daß, wenn die Versuche a und b nach der Formel Henris [Gleichung (β), S. 272] berechnet werden, man ein einigermaßen konstantes k bekommt. Versucht man andererseits den Versuch d nach der Formel Henris zu berechnen, bekommt man ein sinkendes k , was natürlich in noch höherem Maße bei den Versuchen e und f der Fall ist.

Tabelle XXIX.

$p_H = 3,68$ (Glykokollmischungen; Nr. 10).

$\alpha_0 = +6,66$; $A = 6,66 \times 1,313 = 8,744$.

Marke der entnommenen Probe	Die nach Zugabe der Enzymlösung verfllossene Zeit (in Minuten) t	Die nach Ablauf der Zeit t beobachtete Drehungsänderung (Grad:) x	$\frac{x}{A}$	$\left(k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2} \right)$ $4343 \times k$
f_1	2	(0,58)	(0,0663)	53,6
f_2	17	1,96	0,2241	39,3
f_3	32	2,82	0,3225	26,1
f_4	47	3,33	0,3808	18,2
f_5	62	3,66	0,4186	15,3
f_6	92	4,17	0,4769	11,2
f_7	122	4,51	0,5158	4,8
f_8	182	4,78	0,5466	

O'Sullivan und Tompson haben mit Lösungen gearbeitet, zu welchen so viel verdünnte Schwefelsäure gegeben war, daß der Säuregrad dem optimalen gleich oder sehr nahe kam, während C. S. Hudson die Inversion in schwach essigsäuren Lösungen untersucht. Es ist daher verständlich, daß diese Forscher ähnliche, langsam wachsende Werte von k (nach der monomolekulären Formel berechnet) erhielten, wie wir sie in betreff der mittelsauren Lösungen (Versuch d und besonders Versuch e)

bekommen haben. Zur weiteren Beleuchtung habe ich in Tabelle XXX die Ergebnisse eines der Versuche O'Sullivan's und Tompsons¹⁾ mitgeteilt, welche in derselben Weise wie unsere oben erwähnten Versuchsreihen berechnet sind, und in Tabelle XXXI habe ich die in Hudsons letzter Abhandlung gegebene Versuchsreihe ebenso berechnet, welche als Beweis dafür, daß der Prozeß monomolekulär verläuft, angeführt wird.

Tabelle XXX.

O'Sullivan und Tompson, Journal of the Chem. Soc. 57, 844, 1890.

100 g Rohrzucker + 4 ccm 0,1 mol. Schwefelsäure + Enzymlösung
+ Wasser bis 500 ccm.

Temperatur während der Inversion 15,5°.

Die nach Zugabe der Enzymlösung verflossene Zeit (in Minuten)	Die nach Ablauf der Zeit t invertierte Rohrzuckermenge im Verhältnis zur gesamten Menge	$\left(k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2} \right)$ 4343 \times k
t	$\frac{x}{A}$	
5	0,031	31,1
15	0,098	31,9
30	0,192	31,6
57	0,336	26,7
90	0,458	38,7
120	0,585	34,9
150	0,674	33,3
182	0,745	36,1
210	0,798	37,4
240	0,844	29,8
270	0,873	26,2
381	0,935	25,0
430	0,951	15,6
508	0,963	6,9
1470	0,992	

¹⁾ Eben derselbe Versuch wird in der Abhandlung C. S. Hudsons (l. c. S. 1162) als ein Beweis für den monomolekulären Verlauf der Invertinspaltung und in der Abhandlung Henris (l. c. S. 197) als Beweis für das Gegenteil abgedruckt.

Tabelle XXXI.

C. S. Hudson, Journal of the Amer. Chem. Soc. 80, 1573, 1908.
100 com Rohrzuckerlösung (1 l enthielt 46 g Zucker und 5 Tropfen Eis-
essig) wurden mit wenigen Kubikzentimetern starker Invertinlösung bei
30° invertiert.

$\alpha_0 = +12,20$; $A = 15,92$ (dem Faktor 1,305 entsprechend).

Die nach Zugabe der Enzymlösung verflossene Zeit (in Minuten) t	Die nach Ablauf der Zeit t beobachtete Drehungs- änderung (Grad:) x	$\frac{x}{A}$	$\left(k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}\right)$ $4343 \times k$
5	2,63	0,1652	141
15	6,31	0,3964	157
25	9,23	0,5798	167
35	11,37	0,7142	168
50	13,37	0,8398	157
65	14,44	0,9070	96
90	15,07	0,9466	

Es ist aus dem letzten Stabe der Tabellen XXX und XXXI zu ersehen, daß es bei diesen Versuchen sich in der Tat um ganz ähnliche Verhältnisse wie bei unserem Versuche¹⁾ gehandelt hat.

¹⁾ Bei der Berechnung der Geschwindigkeitskonstante spielt der Wert von A — welcher wiederum von dem Faktor abhängt, mit welchem die Anfangsdrehung α_0 multipliziert wird —, selbstverständlich eine große Rolle, und es ist daher sehr zu bedauern, daß viele Forscher nur die Prozentmenge des invertierten Rohrzuckers angeben, aber keine Zahlengrößen, aus welchen der hier erwähnte Faktor sich berechnen ließe.

Kjeldahl (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1, 342, 1881), hat bei der Berechnung seiner Versuche den Faktor 1,339 benutzt, und aus der Abhandlung O'Sullivan's und Tompson's geht hervor, daß diese Forscher den Faktor 1,349 gebraucht haben. Dagegen geben die von C. S. Hudson angeführten Werte der Anfangsdrehung und der Drehung bei vollständiger Inversion den Faktor 1,305, während wir, wie früher erwähnt, bei unseren Berechnungen den Faktor 1,313 benutzen.

Um die Rolle zu beleuchten, welche die Größe dieses Faktors spielt, will ich nur anführen, daß, während die Berechnung von k beim Versuche e mit Anwendung des Faktors 1,313 die Werte (s. Tabelle XXVIII)

127—127—132—135—149—126

gibt, man bei ganz derselben Rechnungsweise bei demselben Versuche, aber mit Anwendung des Kjeldahl'schen Faktors: 1,339, die folgenden, vollständig konstanten Werte für k :

124—122—124—122—122—81

erhält.

Es erübrigen noch die Versuche Armstrongs, bei welchen mit wachsendem t abnehmende Werte von k gefunden wurden. Es würde von großem Interesse sein, Aufklärung darüber zu erhalten, ob nicht die Versuchsflüssigkeiten Armstrongs ziemlich stark sauer gewesen sind, etwa unserem Versuche f entsprechend, welcher auch abnehmende Werte von k gegeben hat. Die Versuche Armstrongs betreffen freilich nicht das Invertin, sondern andere disaccharidhydrolysierende Enzyme, und der Verfasser sagt in seiner Abhandlung nichts über die Reaktion derjenigen Flüssigkeiten, mit welchen er gearbeitet hat; es scheint uns aber doch nicht widersinnig, zu vermuten, daß z. B. der Kefiratzug etwas Milchsäure enthalten habe.

Ogleich wir natürlich nicht der Ansicht sind, daß Wasserstoffionenkonzentrationsmessungen uns befähigen werden, alle dunklen Punkte, welche die Reaktionskinetik der Enzyme in sich birgt, aufzuklären, so meinen wir jedoch, durch die eben mitgeteilten Versuchsreihen die Notwendigkeit einer Berücksichtigung der Wasserstoffionenkonzentration bei reaktionskinetischen Studien klargelegt zu haben.

Auf der Fig. 5 (S. 282) sind die Ergebnisse der Versuche a bis f graphisch dargestellt, indem die Inversionszeit in Minuten als Abszisse und die Prozentmenge des invertierten Rohrzuckers als Ordinate benutzt sind. Es geht aus der Tafel deutlich hervor (und kann selbstredend aus den zweiten und vierten Stäben der Tabellen XXIV bis XXIX abgelesen werden), daß die Kurve f , welche der sauersten der Versuchsflüssigkeiten entspricht, in den ersten paar Minuten stark ansteigt, dann aber schnell einen verhältnismäßig flachen Verlauf nimmt, was unverkennbar in einer zunehmenden Zerstörung des Invertins seinen Grund hat. Schon bei der Kurve e ist dies Verhältnis weit weniger ausgeprägt; ihre Neigung aber, von c und d sich zu entfernen und sich b zu nähern, geht jedoch aus der Figur deutlich hervor, während es wegen des kleinen Maßstabes der Zeichnungen kaum möglich ist, zu ersehen, daß e nach Verlauf einiger Minuten c schneidet. Was endlich die Kurve d betrifft, so verläuft sie in den ersten ca. 25 Minuten mit größeren Ordinaten als c , schneidet aber dann diese letztere, welche von nun an der Optimalinversion entspricht.

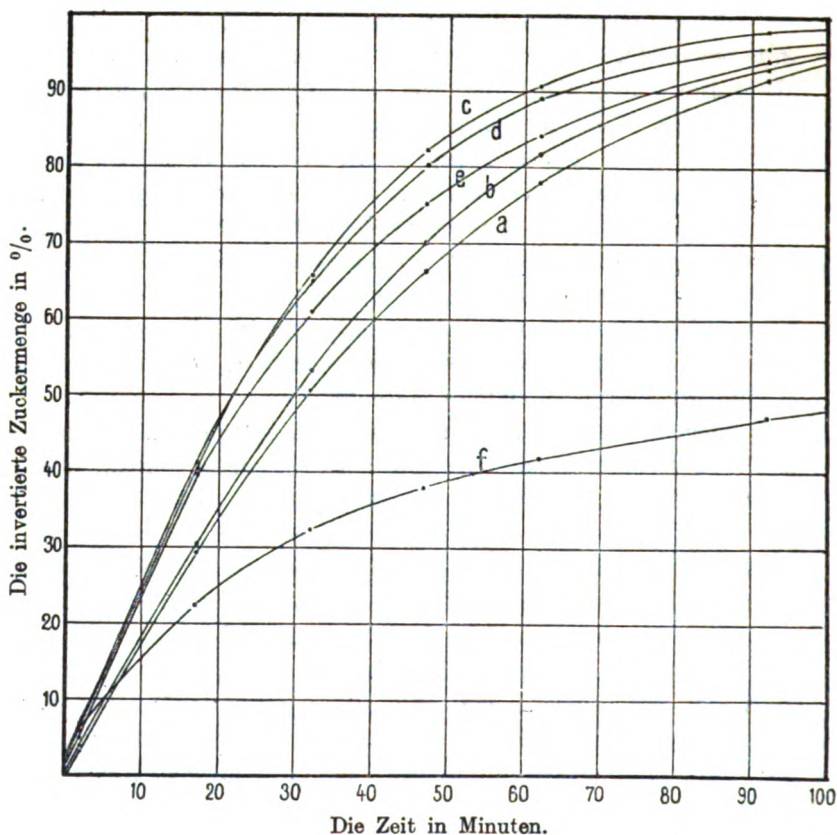


Fig. 5.

Man möchte vielleicht glauben, daß die kleinen Unterschiede in der Menge invertierten Rohrzuckers, welche diese Kreuzungen der Zeitkurven bedingen, nur auf Versuchsfehler zurückzuführen seien; daß ist aber gewiß nicht der Fall. In einem folgenden kleinen Abschnitt über die Pepsinspaltung wird ein Beispiel (siehe S. 299) angeführt werden, in welchem dieses interessante Verhältnis besonders deutlich zutage tritt. Dasselbe hat wahrscheinlich, wie schon mehrere Male angedeutet, seinen Grund in der verschiedenen Zerstörungsgeschwindigkeit des Enzyms bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen.

Es ist infolgedessen einleuchtend, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration einer Enzymspaltung unter sonst gleichen Umständen von der Versuchsdauer abhängig ist, und daß die

in den zwei vorhergehenden Abschnitten gefundene optimale Wasserstoffionenkonzentration der Invertinspaltung ($p_{\text{H}} = 4,4$ bis $4,6$) deshalb nur unter den bei diesen Versuchen benutzten Versuchsbedingungen (darunter 1 stündige Versuchsdauer) Gültigkeit behält. Betrachtet man also die Tabellen XXIV bis XXIX und die Fig. 5, dann ersieht man gleich, daß während der zwei ersten Minuten in den drei sauersten Lösungen ($f: p_{\text{H}} = 3,68$; $e: p_{\text{H}} = 3,92$ und $d: p_{\text{H}} = 4,4$) der Rohrzucker am stärksten invertiert worden ist, und man würde deshalb, wenn diese Versuchsdauer gewählt würde, finden, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration einem p_{H} niedriger als $4,4$ bis $4,6$ entspräche. Nach dem Verlauf von 17 Minuten liegt der Optimalpunkt noch bei der Wasserstoffionenkonzentration in Flüssigkeit d ($p_{\text{H}} = 4,4$), und erst nach 32 Minuten hat die Lösung c den Vorsprung gewonnen, und es ist aus den Tabellen leicht ersichtlich, daß der Optimalpunkt, sowohl was $t = 32$ als auch was $t = 47$ und 62 betrifft, zwischen der Wasserstoffionenkonzentration c' und d' ($p_{\text{H}} = 4,4$ und $4,8$) liegt.

Zieht man ferner mit in Betracht, daß O'Sullivan und Tompson in ihrer schon öfters zitierten Arbeit gezeigt haben, daß die für die Invertinspaltung des Rohrzuckers optimale Menge Schwefelsäure in nicht unbedeutendem Maße von der Temperatur abhängig ist — eine Tatsache, welche wir einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen noch nicht Gelegenheit gehabt haben —, so sieht man, wie die drei Faktoren, die Temperatur, die Wasserstoffionenkonzentration und die Zeit, miteinander verknüpft sind. Die optimale Wasserstoffionenkonzentration einer Enzymspaltung variiert — wenn auch vielleicht innerhalb einigermaßen enger Grenzen — mit der Versuchstemperatur und der Versuchsdauer, und ebenso wird gewiß das Temperatur-optimum — wenn auch vielleicht, übereinstimmend mit dem für die Zerstörungsgeschwindigkeit der Enzyme gefundenen außerordentlich großen Temperaturkoeffizienten¹⁾ innerhalb recht enger Grenzen — mit der Versuchsdauer und mit der Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit variieren.

¹⁾ Siehe die früher (S. 135) angeführten Abhandlungen von Th. Madson und seinen Mitarbeitern.

Eine genaue Angabe der optimalen Temperatur oder Wasserstoffionenkonzentration einer Enzym-spaltung muß deshalb auch die Versuchsbedingungen enthalten.

b) Katalase.

Die bei den Versuchen angewandte Katalaselösung wurde aus Kalbsleber dargestellt. $\frac{1}{2}$ kg Leber wurde mit Sand und Kieselgur in einem Mörser gut zerrieben und mit ca. 300 ccm 93%igen Alkohols verrührt. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde wurde die Masse mittels der Buchnerschen Presse ausgepreßt; der alkoholische Extrakt zeigte nur schwaches, katalytisches Vermögen. Der Preßkuchen wurde mit etwa 300 ccm Wasser verrührt, von neuem ausgepreßt und dieselbe Operation noch einmal wiederholt. Die beiden wässrigen Preßsäfte, welche Hydroperoxyd stark spalteten, wurden zusammengegossen, mit Toluol gesättigt und im Eisschrank aufbewahrt. Unter diesen Umständen schied sich nach und nach ein Niederschlag aus, welcher sich leicht abfiltrieren ließ; 5 ccm des wasserhellen, gelblichen Filtrates enthielten 7,3 mg Stickstoff. Das katalytische Vermögen der Lösung war so groß, daß wir bei unseren Versuchen diese Urflüssigkeit, welche sich monatelang, ohne merkbar abgeschwächt zu werden, aufbewahren ließ, immer stark verdünnen mußten; für die unten beschriebenen Versuche wurde eine Enzymlösung verwendet, welche in 100000 Volumeinheiten nur 3 Volumeinheiten der Urflüssigkeit enthielt.

Die Versuchsreihe, welche hier als Beispiel mitgeteilt wird, wurde in folgender Weise ausgeführt und kann als Norm der von uns gewöhnlich befolgten Versuchsanordnung dienen.

In eine Reihe Meßkolben von 200 ccm Größe wurden 40 ccm einer angemessenen Phosphatmischung (s. Tab. XXXII, Stab 2) abgemessen, welche bei den Versuchen als Puffer dienten; nach Eiskühlung wurde mit Wasser bis auf die Marke verdünnt, wonach die Flüssigkeiten in eine Reihe Jenakolben von je $\frac{1}{2}$ l, welche in Eiswasser standen, übergeführt wurden. Die Urlösung der Katalase wurde mittels eisgekühlten Wassers verdünnt und zu bestimmten Zeiten 100 ccm der verdünnten Enzymlösung zu jeder der Versuchsflüssigkeiten gegeben, worauf wieder zu bestimmten Zeiten zu denselben Flüssig-

keiten noch je 100 ccm einer etwa 0,04 n-Hydroperoxydlösung gefügt wurden. Die Versuchsflüssigkeiten standen während der ganzen Versuchsdauer in Eiswasser und, soweit als möglich, im Dunkeln. 40, 80, 160 und 320 Minuten nach Zugabe des Hydroperoxyds wurden Proben von je 30 ccm entnommen und aus der Pipette in kleine, mit 5 ccm 2 n-Schwefelsäure beschickte Kolben gegossen. Die Kolben mit den entnommenen Proben standen in Eiswasser bis zur Titrierung mit Kaliumpermanganat, welche so bald als möglich ausgeführt wurde. Die verwendete Kaliumpermanganatlösung war 0,0112 n, und um den Endpunkt der Titrierung möglichst genau feststellen zu können, wurden zwei gleiche Kolben, welche je 60 ccm Wasser + 5 ccm 2 n-Schwefelsäure enthielten, und wozu 1 Tropfen Kaliumpermanganat gesetzt war, zum Vergleich bei der Titrierung herangezogen.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen mit aktiver Katalaselösung wurde eine Reihe von Versuchen mit passiver (d. h. auf dem Drahtnetze zum Sieden erhitzter und 5 Minuten im Sieden erhaltener) Katalaselösung ausgeführt. Es stellte sich heraus, daß 30 ccm dieser „passiven Lösungen“ gleich nach dem Vermischen beinahe dieselbe Menge und durchschnittlich 26,62 ccm der Permanganatlösung verbrauchten; wir haben deshalb angenommen, daß die aktiven Proben gleich nach Zugabe des Hydroperoxyds sich in derselben Weise verhalten haben.

Im übrigen ergab es sich, daß auch die passiven Lösungen sich nach und nach, wenn auch nur ganz wenig änderten und um so stärker, je alkalischer die Flüssigkeit war. Und zwar brauchte die sauerste ($p_{\text{H}} = 3,47$) der passiven Proben nach 320 Minuten nicht 26,62 ccm, sondern nur 26,50 ccm, während die alkalische ($p_{\text{H}} = 8,31$) nur 26,26 ccm Permanganatlösung erforderte; die Menge zerlegten Hydroperoxyds entspricht somit 0,12 ccm bzw. 0,36 ccm der Kaliumpermanganatlösung. Die Selbstzersetzung des Hydroperoxyds schreitet also mit verschiedener Geschwindigkeit bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration vor; es handelt sich aber hier nur um so kleine Werte, daß wir gemeint haben, sie unberücksichtigt lassen zu können; nur vollständigkeithalber haben wir sie angeführt. Die in den vier letzten Stäben der Tabelle XXXII mitgeteilten Zahlen stellen deshalb einfach die Differenzen zwischen 26,62

Tabelle XXXII.

40 ccm Phosphatmischung (s. Stab 2) + Wasser bis 200 ccm
 + 100 ccm Katalaselösung (verdünnt im Verhältnis 3:100000)
 + 100 ccm ca. 0,04 n-Hydroperoxydlösung. Versuchstemperatur 0°.
 30 ccm der Mischungen verbrauchten sogleich 26,82 ccm 0,0112 n-Kalium-
 permanganatlösung.

Versuchs-Nummer	Zusammensetzung des angewandten Puffers	Wasserstoffionen- konzentration der Lösung		Die nach Ablauf der Zeit t (in Minuten) gespaltene Hydroperoxydmenge, ausgedrückt in Kubik- zentimetern 0,0112 n- Kaliumpermanganat- lösung			
		p _H	Bemerkung	40'	80'	160'	320'
1	36 ccm mol./15 prim. Phosphat 4 ccm mol./15 Phosphor- säure	3,47	Glykokoll- mischungen; Nr. 10	0,24	0,41	0,62	1,47
2	38,8 ccm mol./15 prim. Phosphat 1,2 ccm mol./15 Phos- phorsäure	3,95	Citratmischungen; Nr. 10	0,46	0,63	1,44	2,62
3	40 ccm mol./15 prim. Phosphat	4,89	Citratmischungen; Nr. 12	1,62	2,73	4,75	7,89
4	36 ccm mol./15 prim. Phosphat 4 ccm mol./15 sek. Phosphat	6,06	Phosphat- mischungen; Nr. 13	5,49	8,77	13,99	19,80
5	28 ccm mol./15 prim. Phosphat 12 ccm mol./15 sek. Phosphat	6,73	do.	5,74	9,54	14,82	20,74
6	20 ccm mol./15 prim. Phosphat 20 ccm mol./15 sek. Phosphat	7,10	Phosphat- mischungen; Nr. 14	5,83	9,49	14,52	20,30
7	12 ccm mol./15 prim. Phosphat 28 ccm mol./15 sek. Phosphat	7,41	do.	5,57	8,91	14,06	20,06
8	4 ccm mol./15 prim. Phosphat 36 ccm mol./15 sek. Phosphat	7,65	Phosphat- mischungen; Nr. 16	5,33	8,65	13,62	19,46
9	40 ccm mol./15 sek. Phosphat	7,97	do.	4,70	7,58	12,13	16,97
10	40 ccm mol./15 sek. Phosphat	8,04	do.	4,65	7,42	11,51	15,40
11	0,2 ccm 0,1 n-NaOH 40 ccm mol./15 sek. Phosphat 0,6 ccm 0,1 n-NaOH	8,31	Glykokoll- mischungen; Nr. 17	3,65	5,82	7,47	—

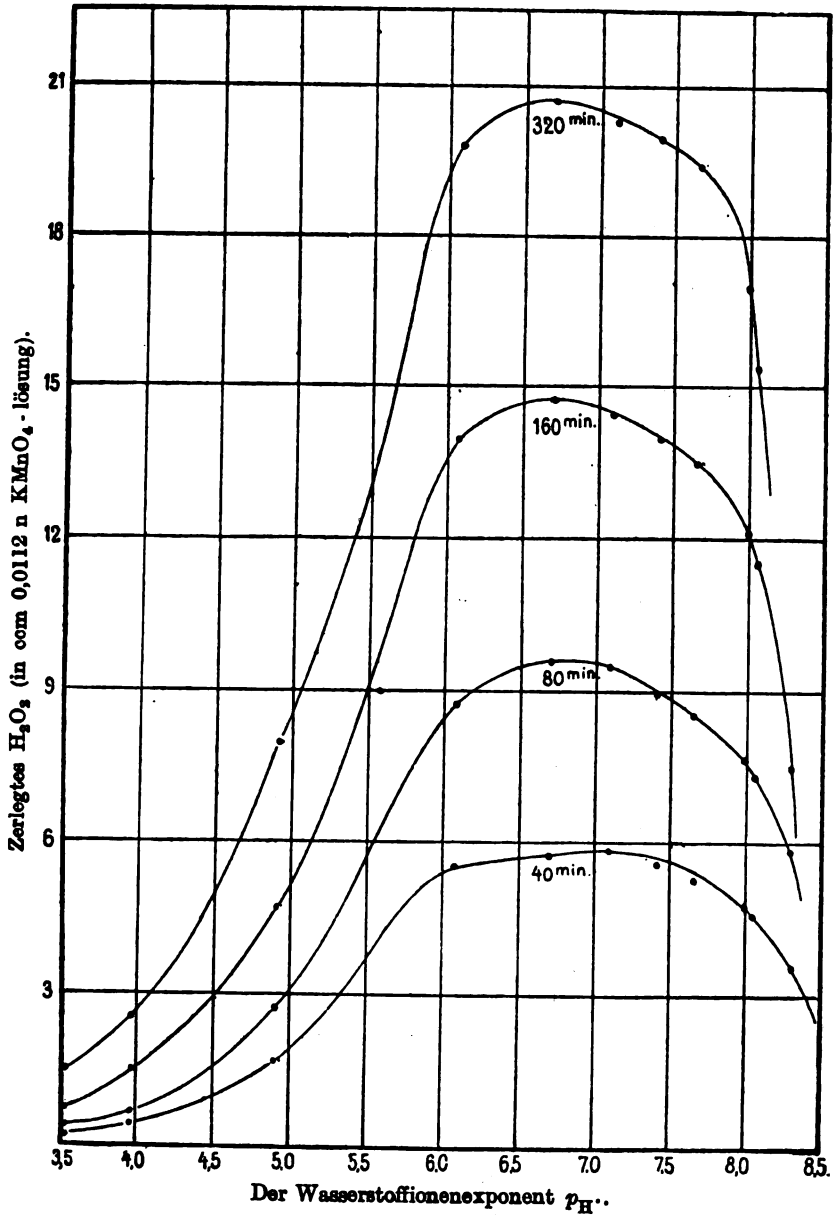


Fig. 6.

und der bei jeder einzelnen Titrierung verbrauchten Menge Kaliumpermanganatlösung dar.

Beim Schluß des Versuches wurde die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeiten colorimetrisch gemessen; in der Tabelle XXXII, dritter und vierter Stab, wird man teils den Wert von p_H ; teils die bei der Messung benutzten Vergleichsflüssigkeiten und die Nummer des angewandten Indicators in dem früher (S. 253) mitgeteilten Indicatorverzeichnis angegeben finden. Wir können hinzufügen, daß, wie wir bei anderen Versuchsreihen gefunden haben, die Wasserstoffionenkonzentration während der Spaltung des Hydroperoxyds nicht oder nur unwesentlich verändert wird.

Es erhellt aus der Tab. XXXII und noch deutlicher aus der Fig. 6 (S. 287), welche die Versuchsergebnisse in graphischer Darstellung wiedergibt — indem die Wasserstoffionenexponenten als Abszissen und die Menge des in gegebenen Zeiten zerlegten Hydroperoxyds als Ordinaten benutzt sind —, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen die Katalasewirkung ihre optimale Wasserstoffionenkonzentration in der Nähe des Neutralpunktes hat und sowohl mit steigender als auch mit sinkender Wasserstoffionenkonzentration abnimmt. Übrigens scheint aus den Kurven hervorzugehen, daß die Lage des Optimalpunktes hier ebenso wie bei der Invertinspaltung von der Versuchsdauer abhängt, und zwar daß das Optimum mit wachsender Versuchsdauer ein wenig gegen die saure Seite hin verschoben wird.

c) Pepsin.

Während die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für solche enzymatischen Prozesse wie die Invertin- und Katalase-Spaltung sich verhältnismäßig leicht systematisch studieren läßt, bietet eine ähnliche Untersuchung über die proteolytischen Enzymprozesse in mehreren Beziehungen Schwierigkeiten. Diese Schwierigkeiten sind bei den verschiedenen Enzymen von etwas verschiedener Art, wie es aus der unten mitgeteilten Beschreibung einiger Verdauungsversuche mit Pepsin, und aus der kurzgefaßten Erwähnung einiger ähnlichen Versuche mit Pankreatin hervorgehen wird.

Pepsin. In einer früheren Abhandlung¹⁾ habe ich die Tatsache hervorgehoben, daß die herkömmlichen Methoden zur quantitativen Messung von proteolytischen Spaltungen mit wesentlichen Mängeln behaftet sind, und zugleich Anweisung für ein neues rationelles Verfahren, die Formoltitrierung, gegeben, welche die früher gekannten Methoden, wenn auch nicht ersetzen, so doch ergänzen sollte. In derselben Abhandlung wird indessen ebenfalls darauf hingewiesen,²⁾ daß eben bei der Pepsinspaltung verhältnismäßig wenige „Peptidbindungen“ gelöst werden, infolgedessen der Umfang der Proteolyse, durch Formoltitrierung gemessen, sich als nur sehr geringfügig erweist. Wegen dieses an und für sich interessanten Verhältnisses ist bei Studien, wie die hier in Rede stehenden, die Formoltitrierung zur Messung des Umfanges der Pepsinverdauung nicht zweckdienlich. Wir sind deshalb genötigt gewesen, ein paar der üblichen Fällungsmethoden — die Stannochlorid- und die Gerbsäure-Fällung — zu benutzen, haben aber nicht, wie man es so oft tut, Proportionalität zwischen der Enzymwirkung und der Menge des „nicht fällbaren Stickstoffs“, vorausgesetzt. Dagegen haben wir diese Schwierigkeit zu umgehen gesucht durch Benutzung des auch von anderen Forschern und jüngst von S. G. Hedin³⁾ empfohlenen Verfahrens, welches darin besteht, daß man die Zeit bestimmt, welche unter den verschiedenen Versuchsbedingungen vergeht, ehe die Zerlegung einen gewissen Umfang erreicht hat; und zwar nehmen wir an, daß, wenn die Proteolyse (gemessen z. B. nach dem Stannochloridverfahren) in einer Reihe von Versuchen, welche mit gleich großen Enzymmengen, aber unter verschiedenen Bedingungen angestellt worden sind, nach dem Verlaufe von verschiedenen Zeiten denselben Umfang erreicht hat, man das enzymatische Vermögen unter den verschiedenen Umständen als umgekehrt proportionell der Versuchszeit setzen darf. Es ist klar, daß, wie S. G. Hedin⁴⁾ hervorhebt, diese Voraussetzung nur dann zutrifft, wenn die Spaltung trotz der verschiedenen Versuchsbedingungen bei allen Versuchen auf demselben Wege vor sich geht.

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 45, 1907.

²⁾ l. c. S. 64.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 468, 1908.

⁴⁾ l. c. S. 470.

Auch die Messung der Wasserstoffionenkonzentration ist mit Schwierigkeiten verknüpft, und zwar weil die für die Pepsinverdauung besonders geeigneten Substrate (Lösungen genuiner Proteinstoffe oder Acidalbumine) colorimetrisch kaum genau meßbar sind. Wir sahen uns deshalb genötigt, die umständlichere elektrometrische Methode bei den endgültigen Messungen der Wasserstoffionenkonzentrationen zu benutzen; bei der Planung der Versuche aber (Feststellung der Zusammensetzung der Versuchsflüssigkeiten) hat, wie schon früher bemerkt (siehe S. 228) die colorimetrische Methode uns vorzügliche Dienste geleistet, ungeachtet der Mängel, die unter diesen Umständen den benutzten Indicatoren anhaften.

Noch ein Umstand verdient Erwähnung: Bei einem Teil unserer Versuche, auch den unten beschriebenen, haben wir als Substrat eine Lösung von Hühnereiweiß, nicht im genuinen Zustand, sondern erst nach Umbildung in Acidalbumin, benutzt. Es haben sich nämlich bei der Anwendung genuinen Hühnereiweißes Unregelmäßigkeiten in den Versuchsergebnissen gezeigt, welche zweifelsohne dadurch zu erklären sind, daß die Flüssigkeit im ersten Teil der Versuchszeit nach und nach ihren Charakter änderte, indem Acidalbumin gebildet wurde. Auch bei Versuchen mit einer aufgekochten, somit unwirksamen Pepsinlösung ließ sich eine solche Umbildung des genuinen Hühnereiweißes in Acidalbumin nachweisen, indem das Stannochlorid, wenn alles übrige gleich bleibt, mehr Stickstoff nach der Acidalbuminbildung fällt als vor derselben. Beispielsweise werde ich die Zahlen eines solchen „passiven“ Versuchs ($p_H = 1,04$) anführen. Die Fällung mittels Stannochlorid wurde vorgenommen, ganz wie es später (S. 292) beschrieben wird. In einem gegebenen Volum des Filtrats vom Stannochloridniederschlag wurde gefunden, wenn die Probe entnommen wurde

gleich nach dem Vermischen der Versuchsflüssigkeit	5,66 mg N
nach $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37°	4,80 „ „
„ $\frac{1}{2}$ „ „ „	4,56 „ „
„ $\frac{3}{4}$ „ „ „	4,40 „ „
„ 1 „ „ „	4,40 „ „
„ 2 „ „ „	4,40 „ „
„ 3 „ „ „	4,40 „ „

Wurde dagegen eine Lösung von Hühnereiweiß, welche durch Stehenlassen mit einer passenden Menge Salzsäure einige Stunden hindurch bei 37° in Acidalbumin verwandelt war, als Substrat gebraucht, dann zeigte das Filtrat vom Stannochloridniederschlag, was die „passiven Proben“ anbelangt, entweder einen konstanten oder gewöhnlich einen mit der Zeit schwach ansteigenden Gehalt an Stickstoff, was natürlich einer langsamen Zerlegung des Substrats zu verdanken ist.

Betreffs der für die unten als Beispiel beschriebene Versuchsreihe gebrauchten Stoffe sowie der beifolgenden Versuchsanordnung im ganzen sei noch folgendes bemerkt:

Die Pepsinlösung wurde durch Auflösung von 4 g Pepsin (Langebek) in 500 ccm 0,01 n-Salzsäure dargestellt; 10 ccm der Lösung enthielten 9,31 mg Stickstoff.

Die benutzte etwa 1 $\frac{1}{4}$ °ige Acidalbuminlösung wurde in folgender Weise dargestellt: 1600 ccm einer neutralen, etwa 4°igen Lösung von genuinem Hühnereiweiß¹⁾ wurde mit 2640 ccm Wasser und 800 ccm $\frac{n}{1}$ -Salzsäure zusammengegossen und die Mischung 22 Stunden hindurch bei 37° gestellt; dann wurden 30 ccm 5 n-Salzsäure zugegeben und 4 Stunden später noch 50 ccm 5 n-Salzsäure, wonach die Mischung noch 23 Stunden der Temperatur von 37° ausgesetzt wurde. Die so erhaltene Acidalbuminlösung war opaleszierend und von etwas gelatinöser Konsistenz, enthielt aber keinen eigentlichen Niederschlag und ließ sich leicht genau abpipettieren.²⁾

Für jeden Versuch wurden, wie aus der Tabelle XXXIII hervorgeht, 360 ccm der Acidalbuminlösung, 50 ccm Pepsinlösung und 40 ccm einer passenden Mischung von Natriumhydroxyd und Wasser vermischt. Die Versuchsflüssigkeiten hatten mithin alle dieselbe Chloridkonzentration (eine einfache Rechnung ergibt, daß sie etwa 0,19 n beträgt), wogegen, wie es aus dem zweiten und dritten Stabe der Tabelle XXXIII hervorgeht, die Menge des Natriumhydroxyds und damit die Wasserstoffionenkonzentration in den verschiedenen Versuchsflüssigkeiten verschieden war.

¹⁾ Siehe diese Zeitschr. 7, 90, 1907.

²⁾ Würde dagegen für die Acidalbumindarstellung dieselbe Menge Salzsäure, aber eine stärkere Eiweißlösung als die oben erwähnte in Anwendung gebracht, so bekam die Mischung eine ausgeprägt gelatinöse Konsistenz und enthielt bisweilen einen wirklichen Niederschlag.

Das Prinzip der Versuchsanordnung war dasselbe wie das bei der Invertinspaltung befolgte (siehe S. 259), da die Pepsinlösung erst nach Vorwärmen während ganz bestimmter Zeit zugegeben wurde, wonach die Versuchsfüssigkeiten in ein Wasserbad gestellt wurden, dessen Temperatur in der früher beschriebenen Weise konstant auf 37 bis 37,1° erhalten wurde. Zu bestimmten Zeiten und nach unmittelbar vorhergehendem Umschütteln wurden Proben von je 30 ccm entnommen, welche in 100 ccm-Kolben, die in Eiswasser standen, eingegossen wurden. Die Kolben, welche die für die Gerbsäurefällung bestimmten Proben empfangen sollten, enthielten 40 ccm einer wässrigen, natriumacetathaltigen Lösung der Menge Natriumhydroxyd, welche zu der Neutralisation der in 30 ccm Versuchsfüssigkeit enthaltenen Menge Salzsäure erforderlich war; und die für die Stannochloridproben bestimmten Kolben enthielten 30 ccm einer ähnlichen, aber zugleich calciumchloridhaltigen¹⁾ Lösung.

Die für die dem Versuche 1 entnommenen Proben bestimmten Meßkolben enthielten somit:

Stannochloridfällung:		Gerbsäurefällung:	
5 ccm	$\frac{2}{1}$ -Natriumhydroxydlös.	5 ccm	$\frac{2}{1}$ -Natriumhydroxydlös.
6,6 "	0,1 n- "	6,6 "	0,1 n- "
2 "	$\frac{2}{1}$ -Natriumacetatlösung	2 "	$\frac{2}{1}$ -Natriumacetatlösung
1,4 "	Wasser	26,4 "	Wasser
15 "	10 ⁰ / ₁₀ ige Calciumchloridlös.		
<u>30 ccm</u>		<u>40 ccm</u>	

Die für die übrigen Versuche bestimmten Meßkolben enthielten ähnliche, aber weniger natriumhydroxydreiche Mischungen (vgl. Tabelle XXXIII, Stab 2).

Durch die Neutralisation der Salzsäure sowie durch die Abkühlung wurde die Pepsinverdauung in den entnommenen Proben abgebrochen. Übrigens wurden die Proben so bald wie möglich, spätestens 1 Stunde nach der Entnahme, durch Zugabe von 20 ccm 15⁰/₁₀iger Gerbsäurelösung bzw. 30 ccm nach H. Schjerning²⁾ dargestellter Stannochloridlösung unter gutem Schütteln gefällt. Die Meßkolben standen nach der Fällung bis zum nächsten Tag, wurden dann mit Wasser bis auf die Marke nachgefüllt und nach gutem und wiederholtem Schütteln wieder über Nacht dahin gestellt. Jetzt wurde filtriert und in einem gegebenen Volum, gewöhnlich 50 ccm, des Filtrates der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Aus der gefundenen

¹⁾ Siehe H. Schjerning, Zeitschr. f. analyt. Chem. **37**, 416, 1898.

²⁾ l. c. S. 414.

Stickstoffmenge ist die gesamte in den entnommenen 30 ccm anwesende Menge durch Gerbsäure bzw. Stannochlorid nicht fällbaren Stickstoffs, ohne das Volum des Niederschlages zu berücksichtigen, berechnet.

Die Wasserstoffionenkonzentration wurde elektrometrisch gemessen und änderte sich während der Verdauung kaum merkbar; nur in den am wenigsten sauren Lösungen zeigten die Messungen vor und nach der Verdauung, daß die Wasserstoffionenkonzentration, wie es zu erwarten war, während der Verdauung ein ganz wenig kleiner geworden war.

Gleichzeitig mit den oben erwähnten Proben mit aktivem Pepsin wurde eine Reihe in ganz derselben Weise angestellte Versuche mit passiver (d. h. durch Erwärmung auf siedendem Wasserbade während 1 Stunde zerstörter) Pepsinlösung ausgeführt. Aus diesen Versuchen ging hervor, daß die Menge des durch Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoffes sich während der ganzen Versuchsdauer und unangesehen der Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit konstant erhielt. 30 ccm der passiven Versuchsflüssigkeiten enthielten sowohl beim Anfang als auch am Ende des Versuches 3,14 mg durch Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoff; die in den letzten 6 Stäben der Tabelle XXXIII angeführten Zahlen sind demzufolge dadurch entstanden, daß 3,14 mg von den bei den aktiven Versuchen im Filtrate vom Gerbsäureniederschlage gefundenen Mengen Stickstoff subtrahiert sind.

Dagegen zeigte es sich, daß die Menge des durch Stannochlorid nicht fällbaren Stickstoffs ganz schwach und einigermaßen proportionell der Zeit zunahm, und daß die Zunahme ungefähr gleich groß in allen Versuchsflüssigkeiten, unangesehen der verschiedenen Wasserstoffionenkonzentration, war. Deshalb haben wir mit den unten aus sämtlichen Versuchen gezogenen Mittelwerten gerechnet:

Die Zeit t in Stunden	0	$\frac{1}{2}$	1	2	4	8	13	20	49
Die nach Verlauf der Zeit t in 30 ccm der passiven Versuchsflüssigkeiten anwesenden Mengen durch Stannochlorid nicht fällbaren Stickstoffes in mg	4,10	4,10	4,30	4,56	4,72	4,80	4,98	5,08	5,42

Tabelle XXXIII.

360 ccm ca. 1 $\frac{1}{4}$ %iger Acidalbuminlösung + 40 ccm wässriger Natriumhydroxydlösung + 50 ccm Pepsinlösung.
 30 ccm dieser Mischungen enthielten im ganzen 44,04 mg Stickstoff, wovon zu Anfang des Versuches 4,10 mg
 Stickstoff durch Stannochlorid und 3,14 mg Stickstoff durch Gerbsäure nicht gefällt wurden.
 Versuchstemperatur 37°.

Versuchs-Nr.	Zusammensetzung der verwendeten 40 ccm wässriger Natriumhydroxydlösung	Wasserstoff-ionenkonzentration d. Lösung elektrometrisch gemessen pH.	Zuwachs (in mg) der Menge des mit Stanno-chlorid nicht fällbaren Stickstoffes nach t = stündiger Verdauung					Zuwachs (in mg) der Menge des mit Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoffes nach t = 1 $\frac{1}{2}$ stündiger Verdauung									
			t = 1 $\frac{1}{2}$	1	2	4	8	13	20	29	49	t = 1 $\frac{1}{2}$	3	6	12	24	48
I	40 ccm Wasser	0,76	6,04	8,50	13,24	19,34	22,80	25,60	—	—	—	—	—	—	—	—	—
II	25 ccm n-NaOH	0,99	6,62	9,32	14,34	21,02	24,10	25,72	28,42	30,28	4,22	6,60	9,58	13,22	15,46	18,26	
	8,7 " 0,1 n- "																6,3 " Wasser
III	20 ccm 2 n-NaOH	1,22	9,04	12,26	17,74	—	27,50	27,74	28,80	31,32	5,08	7,46	10,46	13,92	16,22	18,94	
	7 " n- "																2,5 " 0,1 n- "
IV	33 ccm 2 n-NaOH	1,63	11,00	15,24	18,70	24,76	27,86	28,45	28,94	30,92	5,06	7,32	10,22	13,38	15,86	18,66	
	7 " Wasser																1,2 " 0,1 n- "
V	37 ccm 2 n-NaOH	2,26	10,82	15,00	17,50	22,06	25,14	26,42	27,08	28,08	4,22	6,20	8,86	11,64	14,62	17,32	
	40 ccm 2 n-NaOH																7,84
VI	40 ccm 2 n-NaOH	4,09	7,84	10,80	12,42	13,30	—	13,58	—	16,12	0,94	1,48	2,52	3,86	5,62	8,04	

Die in der Tabelle XXXIII, in den Stäben 4 bis 12 aufgeführten Zahlen werden dann als die Differenz zwischen den bei den aktiven Versuchen in den Filtraten von den Stannochloridniederschlägen gefundenen Stickstoffmengen und andererseits den oben angeführten, von den passiven Versuchen herührenden Zahlen erhalten.

Wenn auch, wie schon früher (S. 289) berührt worden ist, die in der Tabelle XXXIII mitgeteilten Zahlen, welche den Zuwachs der Menge des durch Stannochlorid bzw. Gerbsäure nicht fällbaren Stickstoffes repräsentieren, nicht als ein direktes und absolutes Maß der Größe der enzymatischen Wirkung aufgefaßt werden dürfen, so ermöglicht doch eine unmittelbare Betrachtung der Zahlen ein Urteil über die Lage des Optimalpunktes der Wasserstoffionenkonzentration.

Betrachtet man zuerst die mittels der Gerbsäurefällung erhaltenen Zahlen, so ersieht man, daß bei einer Versuchsdauer von $1\frac{1}{2}$ Stunden die Versuche III ($p_{\text{H}} = 1,22$) und IV ($p_{\text{H}} = 1,63$) die Optimalzone repräsentieren, und daß der Optimalpunkt eben in diesem Zwischenraum zu suchen ist. Man ersieht ferner, wenn auch nicht besonders deutlich, daß der Optimalpunkt mit anwachsender Versuchsdauer gegen die saure Seite hin verschoben wird, und bei 12stündiger oder noch längerer Versuchsdauer muß Versuch III ($p_{\text{H}} = 1,22$) als die Optimalwirkung darstellend angesehen werden.

Diese Verschiebung der Lage des Optimalpunktes tritt indessen bei den durch Stannochlorid gefundenen Ergebnissen weit schärfer zutage. Bei $\frac{1}{2}$ - oder 1stündiger Versuchsdauer findet man die Optimalwirkung im Versuch IV ($p_{\text{H}} = 1,63$); betrachtet man aber gleichzeitig die bei den Versuchen III und V gefundenen Werte, so wird man wohl eher zwischen $p_{\text{H}} = 1,63$ (Versuch IV) und $p_{\text{H}} = 2,26$ (Versuch V) den Optimalpunkt suchen. Erst bei einer Versuchsdauer von vollen 2 Stunden repräsentiert Versuch IV ($p_{\text{H}} = 1,63$) vollauf die Optimalwirkung, und bei noch längerer Versuchsdauer rückt der Optimalpunkt, wie aus den Zahlen deutlich zu ersehen ist, weiter und weiter gegen die durch den Versuch III ($p_{\text{H}} = 1,22$) repräsentierte saure Seite hin.

Ein genaueres Bild der Sachlage bekommt man, wenn man, wie früher (S. 289) erwähnt, mittels der in Tabelle XXXIII

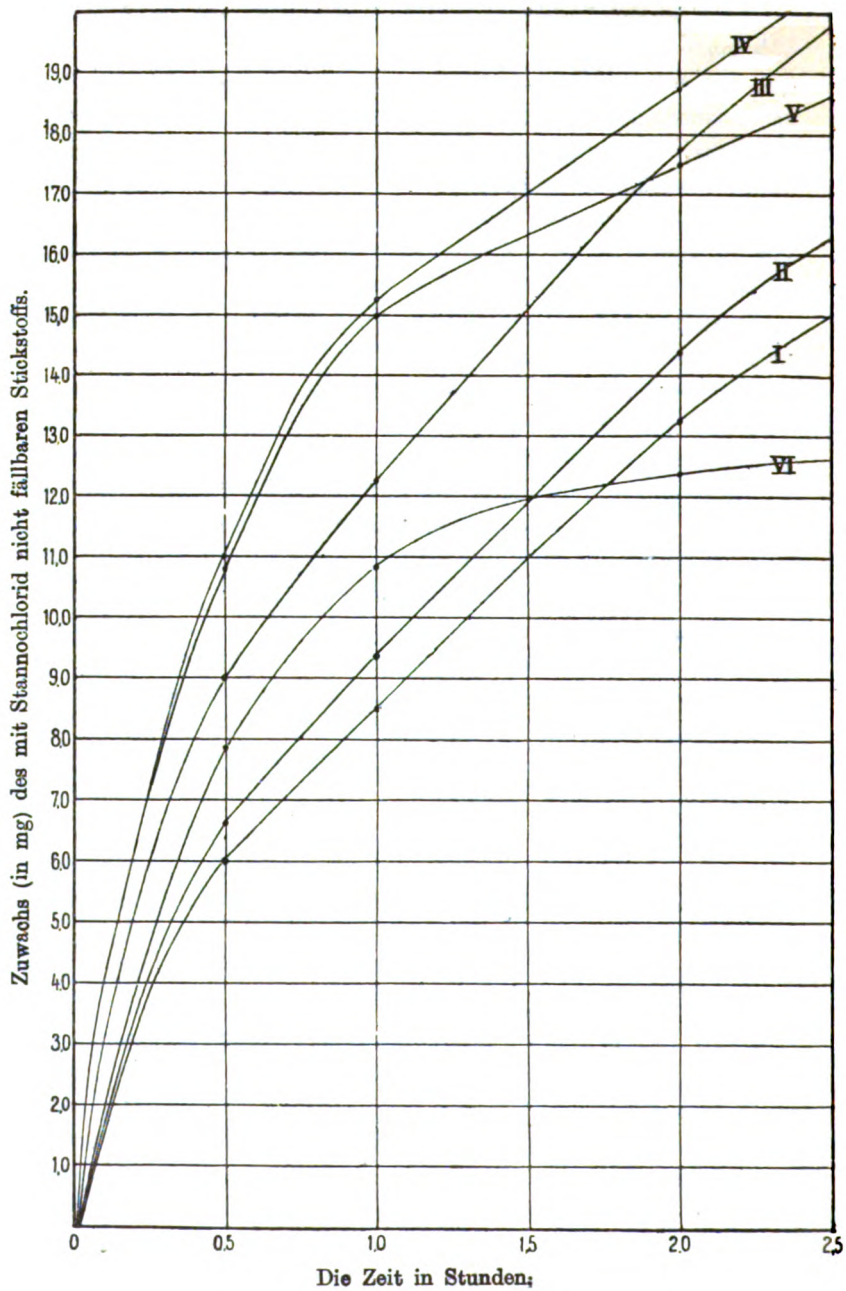


Fig. 7.

gegebenen Zahlen die verschiedene Zeit graphisch bestimmt, welche verlaufen ist, ehe die Verdauung einen gegebenen Umfang erreicht hat. Mit diesem Ziel im Auge haben wir aus den Versuchsergebnissen der Stannoehloridfällungen Zeitkurven gezeichnet, und zwar haben wir als Abszissen die Versuchsdauer in Stunden benutzt, während als Ordinaten die umgebildete Menge Stickstoff in Milligramm (d. h. der Zuwachs in Milligramm der Menge von durch Stannoehlorid nicht fällbarem Stickstoff) gediect hat.

Werden auf dieser Zeitkurventafel — von welcher ein kleiner Teil auf der Fig. 7, auf die ich später zurückkommen werde, wiedergegeben ist —, mit der Abszissenachse parallele und z. B. den Ordinaten 12, 18 und 24 entsprechende Geraden gezogen, so werden die Abszissen der Durchkreuzungspunkte dieser Geraden und der Zeitkurven diejenigen Zeiten angeben, welche verlaufen sind, bis die Umbildung bei den verschiedenen Versuchen einen Umfang von bzw. 12, 18 oder 24 mg Stickstoff erreicht hat. Die auf diese Weise erhaltenen Zahlen sind in der Tabelle XXXIV zusammengestellt, während die Fig. 8 (S. 298) die Abhängigkeit der Wasserstoffionenkonzentration und der Zeit untereinander graphisch zeigt.

Tabelle XXXIV.

Abhängigkeit zwischen Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit und andererseits der Zerlegungsgeschwindigkeit gemessen mittels der Stannoehloridfällung.

Nummer der Versuchsflüssigkeit	Wasserstoffionenkonzentration der Lösung elektrometrisch bestimmt p_H	Versuchsdauer (in Stunden), nach deren Verlauf der Zuwachs des mit Stannoehlorid nicht fällbaren Stickstoffs betrug		
		12 mg	18 mg	24 mg
I	0,76	1,73	3,47	11,00
II	0,99	1,52	2,98	7,63
III	1,22	0,95	2,08	3,75
IV	1,63	0,57	1,78	3,70
V	2,26	0,59	2,20	5,50
VI	4,09	1,60	mehr als 49 Stunden	mehr als 49 Stunden

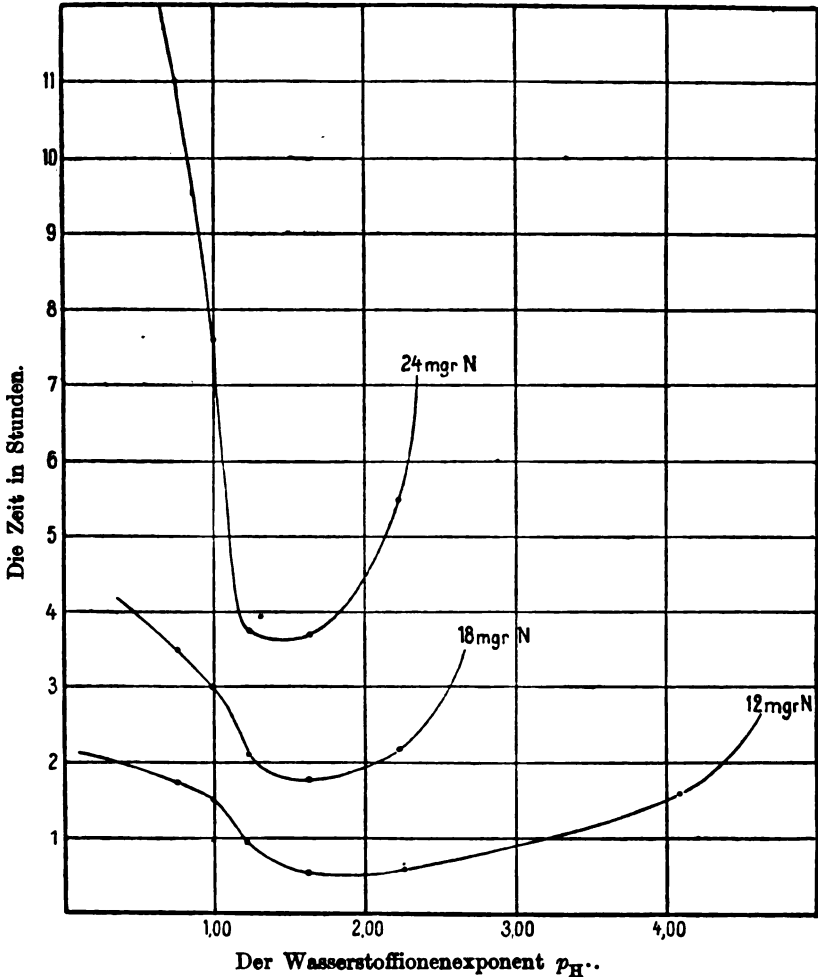


Fig. 8.

Es erhellt aus der Tabelle XXXIV und noch deutlicher aus der Fig. 8, daß der Optimalpunkt der Wasserstoffionenkonzentration, welcher hier natürlich der Minimumsordinate der Kurven entspricht, was die 12-Milligramm-Kurve betrifft (d. h. bei kurzer Versuchsdauer), bei einer Wasserstoffionenkonzentration liegt, welche einem Wasserstoffionenexponenten etwas kleiner als 2 entspricht. Betrachtet man dagegen die 18- und 24-Milligramm-Kurven (d. h. diejenigen, welche einer längeren Ver-

suchsdauer entsprechen), dann fällt es einem sogleich in die Augen, daß der Optimalpunkt der Wasserstoffionenkonzentration nicht mehr dem $p_H = \text{etwa } 2$, sondern $p_H = \text{etwa } 1,5$ entspricht; der Optimalpunkt wird somit bei anwachsender Versuchsdauer gegen die saure Seite hin verschoben.

In diesem Zusammenhang ist es interessant, auf der Fig. 7 (S. 296) den verschiedenen Verlauf der Zeitkurven zu betrachten. Während die Kurve, welche dem Versuche VI (d. h. der am wenigsten sauren Versuchsflüssigkeit, $p_H = 4,09$) entspricht, im Anfang größere (d. h. einer lebhafteren Enzymwirkung entsprechende) Ordinaten hat als die Kurven I und II (den sauersten Flüssigkeiten entsprechend), so biegt sie doch bald ab, schneidet sowohl II als auch I und nimmt danach einen der Abszissenachse beinahe parallelen Verlauf (d. h. einer ganz schwachen Enzymwirkung entsprechend).

Weniger ausgeprägt, aber doch immer noch sehr deutlich, zeigt sich dasselbe Verhältnis bei der Kurve V ($p_H = 2,26$); auf der Fig. 7 sieht man, wie die Kurve V nach Verlauf von etwa $1\frac{3}{4}$ Stunden III schneidet, wobei noch hinzugefügt werden kann (vgl. Tabelle XXXIII), daß sie nach Verlauf von 20 Stunden auch noch II geschnitten haben wird.

Selbst die Kurve IV zeigt eine unverkennbare Neigung abwärts gegen die Kurve III, und aus der Tabelle XXXIII wird man ersehen, daß sie nach 49 Stunden III gekreuzt hat.

Es scheint uns in hohem Maße wahrscheinlich, daß die Erklärung dieser charakteristischen Verhältnisse, wie es bereits beim Invertin (siehe S. 283) ausführlich erwähnt worden ist, in der verschiedenen Geschwindigkeit, mit welcher die Zerstörung des Enzyms bei den verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen vor sich geht, zu suchen ist. Während die Selbstspaltung des Invertins besonders bei Wasserstoffionenkonzentrationen, welche größer als die optimale waren, hervortrat, zeigt die eben beschriebene Versuchsreihe, daß das Pepsin sich umgekehrt verhält, indem die Selbstzerstörung, welche sich in der Neigung der Zeitkurven gegen die Abszissenachse ausdrückt, um so deutlicher hervortritt, je alkalischer die Versuchsflüssigkeit ist.

Pankreatin. Die Schwierigkeiten, welche uns beim Studium der Pankreatinspaltung begegneten, waren von etwas anderer Natur als die obenerwähnten. Durch die Pankreatinverdauung werden nämlich so viele „Peptidbindungen“ gelöst, daß die Formoltitrierung sich bei der quantitativen Messung des Umfanges der Proteolyse sehr gut anwenden läßt. Da ferner das Pankreatin auf solche zum Teil abgebauten Proteinstoffe wie Wittepepton und ähnliche Stoffe stark spaltend wirkt, so kann folglich die Messung der Wasserstoffionenkonzentration, wenigstens bei vorläufigen orientierenden Versuchen, mit hinlänglicher Genauigkeit colorimetrisch ausgeführt werden.

Die Hauptschwierigkeit beim Studium der Abhängigkeit des Pankreatinprozesses von der Wasserstoffionenkonzentration liegt in dem bereits in einer früheren Abhandlung¹⁾ berührten Umstand, daß die Konzentration der Wasserstoffionen sich während der Pankreatinverdauung stark ändert. Es ist zwar möglich gewesen, diese Konzentrationsänderungen durch Zugabe reichlicher Mengen passender Puffermischungen zu den Versuchsflüssigkeiten bedeutend zu beschränken; da es sich aber hier häufig um denjenigen Bereich der Ionenkonzentrationen handelt, in welchem die bei der Formoltitrierung benutzten Indikatoren ihren Umschlag haben, so ist es klar, daß die Zugabe eines für diesen Bereich angemessenen Puffers die Formoltitrierung schwierig, ja bisweilen (z. B. wenn Boratmischungen als Puffer benutzt werden) ganz unmöglich machen wird.

Da außerdem die bisher erhaltenen Ergebnisse darauf hindeutenscheinen, daß das von uns angewandte Pankreatinpräparat (Rhenania, Aachen) mehr als ein Enzym enthält — reiner Pankreassaft ist uns nicht zur Verfügung gewesen —, so haben wir es für richtiger gehalten, vorläufig noch nichts von unseren diesbezüglichen Versuchsergebnissen zu veröffentlichen.

Kurze Übersicht.

1. Zwischen Säuregrad und Wasserstoffionenkonzentration ist scharf zu unterscheiden, nur die letztere spielt bei enzymatischen Spaltungen eine Rolle.

¹⁾ Diese Zeitschr. 7, 98, 1907; siehe außerdem diese Abhandlung S. 193.

2. Wird der Normalitätsfaktor einer Lösung in bezug auf Wasserstoffionen durch die Größe 10^{-p} angegeben, so wird für den numerischen Wert des Potenzexponenten der Name Wasserstoffionenexponent und die Schreibweise p_{H} vorgeschlagen.

3. Bei enzymatischen Spaltungen spielt die Wasserstoffionenkonzentration der Versuchslösung eine ähnliche Rolle wie die Versuchstemperatur. Unter der Wasserstoffionenkonzentrationskurve eines Enzyms wird die Kurve verstanden, welche man erhält, wenn die bei gegebenen Versuchsbedingungen während der Zeiteinheit gespaltenen Substratmengen als Ordinaten benutzt werden, während die Wasserstoffionenexponenten der Versuchslösungen als Abszissen fungieren. Die Wasserstoffionenkonzentrationskurven haben einen ähnlichen Verlauf wie die Temperaturkurven.

4. Bei der Messung der Wasserstoffionenkonzentration einer Flüssigkeit sind solche Methoden, bei welchen die Konzentration der Wasserstoffionen während der Messung geändert wird, sämtlich unbrauchbar; die üblichen acidimetrischen und alkalimetrischen Titriermethoden sind daher für den hier erwähnten Zweck immer unanwendbar. Gewöhnlich eignen sich auch nicht die „katalytischen“ Meßmethoden für die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen, und in den seltenen Fällen, wo man diese Methoden anwenden kann, darf es nur unter Beobachtung der schärfsten Kontrolle und Kritik geschehen.

5. Die Methoden, welche für die Messung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen zu empfehlen sind, sind die zwei folgenden, einander ergänzenden Verfahren: die genaue, aber umständliche elektrometrische und die weniger genaue, in der Ausführung aber außerordentlich einfache colorimetrische Methode.

6. Die elektrometrische Methode. —

a) Bezeichnet π die elektromotorische Kraft bei 18° eines Elements, welches einerseits aus einer Quecksilber-Kalomel-Elektrode in einer 0,1 n-Kaliumchloridlösung und andererseits aus einer Platin-Wasserstoffelektrode in einer Elektrodenflüssigkeit besteht, deren Wasserstoffionenexponent p_{H} ist, so bekommen wir die folgende Gleichung:

$$\pi = 0,3377 + 0,0577 \times p_{\text{H}}$$

als Ausdruck für die gegenseitige Abhängigkeit der elektromotorischen Kraft des Elementes und der Wasserstoffionenkonzentration der Elektrodenflüssigkeit bei 18° ; für $p_{\text{H}} = 0$ wird $\pi_0 = 0,3377$.

b) Auf der die Abhandlung begleitenden Hauptkurventafel findet man die Gerade, welche den graphischen Ausdruck dieser Gleichung bildet, mit dem Namen „Exponentiallinie“ bezeichnet. Mittels dieser Geraden kann man ohne jegliche Rechnung einen gemessenen Wert von π in den entsprechenden Wert von p_{H} , und umgekehrt, rein graphisch umsetzen.

c) Durch elektrometrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration verdünnter Natriumhydroxydlösungen ist die Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° gleich $0,72 \times 10^{-14} = 10^{-14,14}$ gefunden worden.

d) Aus einer Reihe einfach zusammengesetzter Körper, deren Reinheit leicht zu kontrollieren ist, und die in garantiert reinem Zustand im Handel (C. A. F. Kahlbaum, Berlin) zu haben sind, lassen sich durch Auflösung in Wasser Standardlösungen darstellen, deren Vermischung in gegebenen Proportionen es ermöglicht, Lösungen von irgendeiner, aber stets im voraus auf elektrometrischem Wege genau ermittelter Wasserstoffionenkonzentration von etwa 10^{-1} bis zu etwa 10^{-13} herzustellen. Auf der die Originalabhandlung (siehe S. 176) begleitenden Hauptkurventafel ist der Wasserstoffionenexponent einer jeden dieser Mischungen bequem graphisch abzulesen.

Bei der Wahl der für die Standardlösungen benutzten Verbindungen ist besonders auf solche Körper Rücksicht genommen, welche im lebenden Organismus als natürliche Schutzwehr gegen zu schroffe Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration dienen. Es wird zu wiederholten Malen auf die Bedeutung der Gegenwart solcher „Puffer“ bei enzymatischen Prozessen aufmerksam gemacht.

e) Es wurde eine Reihe spezieller Fälle angeführt, in welchen die elektrometrische Messung solcher Flüssigkeiten, welche bei enzymatischen Prozessen vorkommen können, Schwierigkeiten bietet.

7. Die colorimetrische Methode.

a) Das Verfahren bei der colorimetrischen Messung, wenn man Mischungen der oben erwähnten Standardlösungen als Vergleichsflüssigkeiten benutzen will, wird beschrieben.

b) Es wird eine Reihe von Fehlerquellen bei der Methode angeführt. Die wichtigsten derselben haben ihre Ursache in der Neigung der Proteinstoffe und ihrer am wenigsten abgebauten Spaltungsprodukte, sich mit den Indicatoren zu verbinden, wodurch die colorimetrische Messung in gewissen Fällen schwierig oder gar unmöglich gemacht wird. Mit Rücksicht auf diese Fehlerquellen war es notwendig gewesen, die Brauchbarkeit jedes einzelnen Indikators unter verschiedenen Bedingungen durchzuprüfen, um die unbrauchbaren zu verwerfen und die Genauigkeit zu ermitteln, welche mit den brauchbaren zu erreichen war. Bei diesen Kontrollmessungen hat die elektrometrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration als Fundamentalmethode gedient.

c) Die untersuchten Indicatoren, von welchen einige früher nicht bekannt waren, werden in 5 Gruppen geteilt, hauptsächlich nach der Lage des Umschlagspunktes, und für jede Gruppe wird eine passende Auswahl der mit den wichtigsten und besten von den zu ihr gehörenden Indicatoren ausgeführten Kontrollmessungen angeführt.

d) Einige der am häufigsten angewandten Indicatoren, z. B. das Kongorot, sind als bei Messungen der hier erwähnten Art ganz unbrauchbar zu betrachten.

e) Auf Grund sämtlicher ausgeführten Kontrollmessungen werden 20 Indicatoren als anwendbar empfohlen. Da diese indessen nicht unter allen Umständen gleich brauchbar sind, so ist es bei der Wahl des für den einzelnen Fall am besten geeigneten Indicators notwendig, eine Reihe von Tatsachen, welche in der Abhandlung ausführlich hervorgehoben werden (siehe S. 254), mit in Betracht zu ziehen.

8. Die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei der Invertin-, der Katalase- und der Pepsinspaltung wird durch Beispiele nachgewiesen.

a) Es wird nachgewiesen, daß die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Invertinspaltung bei sonst gleichen Versuchsbedingungen beinahe dieselbe ist, unangesehen der Art und Menge des Invertins, und

unangesehen des bei den Versuchen angewandten Säuerungsmittels. Bei den gewählten Versuchsbedingungen entspricht die optimale Wasserstoffionenkonzentration $p_{\text{H}} = 4,4$ bis 4,6.

b) Durch eine Reihe Versuche über Invertin wird dargetan, daß es bei reaktionskinetischen Studien über Enzyme notwendig ist, die Wasserstoffionenkonzentration mit in Betracht zu ziehen, und es wird die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, daß die von früheren Forschern geäußerten, sehr abweichenden Auffassungen der Reaktionskinetik bei der Invertinspaltung wenigstens zum Teil darauf zurückzuführen sind, daß die Wasserstoffionenkonzentration bisher keine genügende Berücksichtigung gefunden hat.

c) Es wird auf die Bedeutung der Selbstzerstörung der Enzyme bei Studien der hier erwähnten Natur sowie auf die daraus folgende gegenseitige Abhängigkeit der Versuchsdauer, der Versuchstemperatur und der Wasserstoffionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit aufmerksam gemacht. Beim Invertin verschiebt sich der Optimalpunkt der Wasserstoffionenkonzentration mit wachsender Versuchsdauer ein wenig gegen die alkalische Seite hin.

d) Bei der Versuchstemperatur 0° liegt die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Katalasespaltung dem Neutralpunkte sehr nahe, scheint aber mit zunehmender Versuchsdauer ein wenig gegen die saure Seite hin verschoben zu werden.

e) Bei der Versuchstemperatur 37° ist die optimale Wasserstoffionenkonzentration der Pepsinspaltung deutlich von der Zeit abhängig; bei kurzen Versuchszeiten entspricht der Optimalpunkt einem Wasserstoffionenexponenten, der etwas kleiner als 2 ist, wird aber mit zunehmender Versuchsdauer gegen die saure Seite hin verschoben.

Zur Kenntnis der hämolytischen Organextrakte.

Von

J. Morgenroth und P. Schäfer.

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

(Eingegangen am 19. Juli 1909.)

Levaditi¹⁾, später Noguchi²⁾ und Tallquist³⁾ haben vermutet und bis zu einem gewissen Grade durch chemische Untersuchungen wahrscheinlich gemacht, daß das wirksame Agens der von Korschun und Morgenroth⁴⁾ studierten hämolytischen Organextrakte aus Seifen oder seifenartigen Verbindungen bestehe.⁵⁾

Bei der Hämolyse durch Organextrakte, speziell durch die zuerst erforschten wässerigen Extrakte aus Pankreas, Magen, Darm, Nebenniere, Milz, Lymphdrüsen tritt es als ganz charakteristische Besonderheit hervor, daß das hämolytische Agens an corpusculäre Elemente gebunden erscheint. Dies ist

1) Annales de l'Inst. Pasteur 17, 187, 1903.

2) Diese Zeitschr. 6, 185, 1907.

3) Zeitschr. f. klin. Med. 61, Heft 5/6.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 37.

5) Friedemann (Arch. f. Hygiene 69, 105, 1909), der geneigt ist, die alkohollöslichen, aus Magen und Darm gewonnenen Hämolsine als Seifen anzusprechen, trennt dieselben vollkommen ab von den aus Pankreas extrahierten alkohollöslichen Hämolsinen, die er auf Grund eingehender Untersuchungen — er stellt auch Phosphorgehalt derselben fest — als Toxolecithide ansieht. Falls die Anschauungen Friedemanns zutreffen sollten, erführen unsere weiterhin zu schildernden synthetischen Versuche in ihren Konsequenzen insofern eine Einschränkung, als sie direkt nur zur Hämolyse durch Magen- und Darmextrakte Beziehung hätten. Andererseits könnte dann der Parallelismus, den wir für den Mechanismus der Hämolyse durch Organextrakte und durch Seifen feststellen, auch auf Toxolecithide ausgedehnt werden.

seit Korschun und Morgenroth vollständig außer acht gelassen worden und zugleich auch die keineswegs unwichtige Frage, ob sich hiermit die Annahme verträgt, daß eine Hämolyse durch Seifen vorliegt. Mußte man sich doch sagen, daß jede Körperklasse, die man für die Organextrakthämolyse in Anspruch nehmen wollte, vor allem die Befähigung zu erweisen hatte, nach den nämlichen Gesetzen, wie sie jener zukommen, zu wirken. Es muß hier wie dort das hämolytische Agens durch einen Vorgang, wie er von Korschun und Morgenroth mit dem „Abbluten“ der Farbstoffe verglichen wurde, auf die Blutkörperchen übergehen.

Der Name „Organextrakte“ hat sich vielleicht insofern nicht als glücklich gewählt erwiesen, als er die Aufmerksamkeit von diesem Punkte ablenkte. Es ist heute wohl nicht mehr zweckmäßig, die eingebürgerte Bezeichnung zu verlassen, man soll sich aber klar sein, daß den hier in Frage kommenden Präparaten, soweit sie durch Verreibung der Organe mit Kochsalzlösung gewonnen sind, dieser Name nicht ganz mit Recht zukommt.

Es ist selbstverständlich und schon früher hervorgehoben worden, daß die hämolytisch wirksamen Substanzen, wenn auch in noch so geringem Grade, in der Kochsalzlösung, mit welcher die „Organextrakte“ hergestellt sind, löslich sein müssen, aber der jeweils gelöste Anteil ist sicher außerordentlich geringfügig. Es handelt sich hier um Stoffe (besonders charakteristische Typen sind die wenig löslichen Seifen, wie das palmitinsäure Natron), welche die Oberflächenspannung des wässrigen Lösungsmittels stark erniedrigen und offenbar aus geringster Lösungskonzentration an den Grenzflächen, speziell an der Grenzfläche der zwei flüssigen Phasen, wie sie hier durch das Lösungsmittel und die Blutkörperchen repräsentiert werden, angereichert werden. Dasselbe Moment kommt übrigens auch für andere Hämolytine, z. B. für die Saponine in Betracht, vielleicht auch für die hämolytischen Amboceptoren. Jedenfalls wäre es korrekter, schon auf Grund des von Korschun und Morgenroth richtig geschilderten Verhaltens von hämolytischen Suspensionen zu sprechen. Denn in den in der üblichen Weise hergestellten wässrigen Extrakten ist, wie schon erwähnt, die hämolytische Fähigkeit nicht an gelöste, sondern praktisch an

suspendierte Bestandteile gebunden, die, nachdem die größeren Teilchen durch Zentrifugieren oder Filtrieren entfernt sind, sich nicht oder nur äußerst langsam zu Boden senken. Befreit man die Flüssigkeit auch von diesen feinsten Teilchen durch Filtration mittels poröser Filter, so bleibt kein praktisch nachweisbarer Rest hämolytischer Wirkung zurück. Am schlagendsten tritt dieses Verhalten hervor beim Erhitzen der wässrigen Organextrakte. Es fallen dann die in reichlicher Menge vorhandenen Eiweißsubstanzen in Flocken aus, zurück bleibt eine vollkommen klare Flüssigkeit, von der eine hämolytische Wirkung nicht mehr festzustellen ist. Dagegen ist die hämolytische Wirkung nun an die Flocken gebunden, welche offenbar das Hämolysin in derselben Form enthalten, wie die vorher in der Flüssigkeit enthaltenen feinen suspendierten Teilchen. Dieses Phänomen diene uns als Grundlage für die späterhin zu besprechenden synthetischen Versuche.

Die Alkohollöslichkeit des in diesen wässrigen Organextrakten enthaltenen hämolytischen Agens wurde schon von Korschun und Morgenroth¹⁾ festgestellt und ist später mehrfach bestätigt worden. Es ist nicht zu bezweifeln, daß auch bei direkter Extraktion der Organe mit Alkohol Lösungen erhalten werden, welche die in Frage stehenden Organhämolsine enthalten.

Daß hier mehrere Seifen in Frage kommen, ist höchst wahrscheinlich, und es ist keineswegs auszuschließen, daß auch andere Körperklassen, wie freie Fettsäuren, in Betracht zu ziehen sind. Mit Levaditi an Amidosäuren zu denken, die zudem kaum hämolytisch wirken,²⁾ liegt wohl keine Veranlassung vor.

Nachdem es uns jetzt gelungen ist, reichliches gleichmäßiges und leicht zu bearbeitendes Ausgangsmaterial zu beschaffen, haben wir neuerdings diese Fragen auch auf chemischem Wege in Angriff genommen, verhehlen uns aber von vornherein die großen Schwierigkeiten nicht, die vor allem darin liegen, daß die in Betracht kommenden Substanzen sich in ihrer Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln beeinflussen und sich gegenseitig in Lösung, eventuell fester Lösung, halten. So nimmt z. B. das

¹⁾ Korschun und Morgenroth, l. c.

²⁾ Siehe T. Sasaki, diese Zeitschr. 16, 71, 1909.

palmitinsäure Natron, welches bei Zimmertemperatur in physiologischer Kochsalzlösung äußerst wenig löslich ist, kolloidal gelöstes ölsaures Natron beim Erkalten der heißen Lösung beider Seifen in erheblichem Maße auf; die Flocken der unlöslichen Seife, die sich nach dem Erkalten abscheiden, enthalten offenbar die lösliche Seife in fester Lösung, ein Vorgang, von dem ja die Technik bei der Herstellung der festen Seifen Gebrauch macht. Der folgende Versuch gibt ein Beispiel für dieses Verhalten.

Versuch 1.

1 g Natr. palmitinic. (Kahlbaum) wird durch kurzes Kochen in 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung klar gelöst. 1 ccm der heißen Lösung wird zu 9 ccm der Verdünnung 1:100 einer 1%igen Lösung von Natr. oleinic. (Merck) in Kochsalzlösung zugefügt. Beim Erkalten tritt zunächst Trübung ein, nach einem Tag Zimmertemperatur schwimmen weiße Flocken auf der Flüssigkeit, von denen durch Papier abfiltriert wird. Das klare Filtrat ist in Mengen von 1,0 bis 0,1 ccm ohne jede hämolytische Wirkung auf je 2 ccm 5%igen, einmal gewaschenen Ziegenblutes, während sonst 1 ccm der angewandten Verdünnung des oleinsauren Natrons komplette Hämolyse hervorbringt.¹⁾ Die feste Lösung enthält also mindestens 10% Natr. oleinic.

Also kann auch in den hämolytischen Organextrakten ein Seifengemenge vorliegen, in welchem schwer lösliche Seifen die löslichen Seifen gebunden halten; die gesamten Seifen ihrerseits können wieder in andersartigen, unlöslichen Bestandteilen der Suspensionen festgehalten werden, wie dies unsere Versuche noch veranschaulichen werden.

Daß die hämolytischen Pankreasextrakte zum guten Teil schwer lösliche Seifen nach Art des palmitinsäuren Natrons enthalten, und daß die Löslichkeitsverhältnisse hier recht kompliziert liegen, geht aus einigen Versuchen mit entsprechenden alkoholischen Extrakten hervor, bei denen es sich um echte, klare Lösungen handelt; erst beim Verdünnen mit Kochsalzlösung findet die Fällung der hämolytischen Substanzen statt.

Was zunächst die Gewinnung alkoholischer hämolytischer Extrakte aus Pankreas betrifft, so haben sich uns bis jetzt schwierige und noch keineswegs geklärte Verhältnisse

¹⁾ Ein analoger Versuch mit höher konzentrierter Lösung von Natr. oleinic. (1% $\frac{1}{10}$) scheiterte daran, daß sich dann das palmitinsäure Natron nicht in Flocken abscheidet und auch nach mehreren Tagen nur geringe Trübung mit Schlierenbildung eintritt.

ergeben. Auch U. Friedemann in seinen schon erwähnten, kürzlich erschienenen umfangreichen und wertvollen Untersuchungen „über die hämotoxischen Stoffe der Organe“ ist hier Schwierigkeiten begegnet und hat versucht, zu ihrer Klärung beizutragen. Ob mit völligem Erfolg, ist fraglich. Nachdem schon Korschun und Morgenroth auf die Möglichkeit hingewiesen hatten, daß die hämolytischen Substanzen ihrer wässrigen Organextrakte erst bei der Autolyse entstehen, nahm dies Levaditi auf Grund seiner Untersuchungen als gewiß an, und Friedemann nimmt denselben Faktor für die durch Alkohol extrahierten hämolytischen Substanzen des Pankreas in Anspruch. Die von ihm mitgeteilten Versuche — wir kommen auf eine nicht unwesentliche Differenz in der Technik noch zurück — schienen in der Tat dafür zu sprechen, daß in dem ganz frisch verarbeiteten Pankreas die in Frage kommenden Hämolysine nicht oder wenigstens nicht in extrahierbarer Form vorhanden sind, und daß dieselben erst nach einiger Zeit, die kurz sein kann, manifest werden. Außerdem mißt Friedemann dem Fütterungszustand der von ihm benutzten Hunde einen Einfluß zu; im Pankreas eines im Hunger getöteten Hundes trat auch nach längerer Zeit kein Hämolysin auf. Wie unsere im folgenden ausführlich mitgeteilten Versuchsprotokolle zeigen, tritt in manchen Fällen der von Friedemann beschriebene zeitliche Einfluß in markanter Weise hervor, während er wieder in anderen eine geringe, zuweilen auch gar keine Rolle spielt. Auch bei nicht vorher gefütterten Hunden vermessen wir keineswegs die Hämolysine. Offenbar sind die gesamten Bedingungen, die aufzuklären wir uns weiter bemühen, viel komplizierter, als es auch Friedemann annimmt.

Wir teilen im folgenden zunächst einige Fälle (Versuch 2 bis 5) mit, in denen der von Friedemann betonte zeitliche Einfluß in klarer Weise zutage zu treten scheint.

Versuch 2.

20 g Pankreas eines frisch geschlachteten Rindes (Schlachthof) werden 2 Stunden post mortem mit geglühtem Seesand unter allmählichem Zusatz von 20 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung und 120 ccm Alkohol absolut. im Mörser fein verrieben, 2 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, bis zum nächsten Morgen im Eisschrank bei 8° C aufbewahrt; dann wird die Lösung zweimal durch Papier klar filtriert.

25 g Pankreas desselben Rindes werden nach 24stündigem Stehen im Dunkeln bei Zimmertemperatur in demselben Verhältnis verrieben und in derselben Weise behandelt wie das vorhergehende. Prüfung mit Ziegenblut 5%ig, einmal gewaschen, 2 ccm.

Extrakt I, nach 2 Stunden hergestellt		Extrakt II, nach 24 Stunden hergestellt
0,25	komplett	komplett
1,0 ¹ / ₁₀	Spürchen	"
0,8	0	"
0,6	0	"
0,45	0	"
0,3	0	"
0,15	0	Spürchen, Kuppe
0,1	0	0
0	0	0

Hier ist die hämolytische Wirkung des alkoholischen Extraktes selbst einige Stunden nach der Entnahme des Pankreas sehr geringfügig, besonders, wenn man noch den die Hämolysie begünstigenden Einfluß des Alkohols in Betracht zieht. Nach 24stündigem Stehen des Pankreas bei Zimmertemperatur erhält man dagegen einen Extrakt, der 8 bis 9mal stärker hämolytisch wirkt und damit zu den wirksamsten gehört, die wir beobachtet haben. In dem folgenden Versuch 3 mit dem Pankreas eines gefütterten Hundes zeigen sich ganz analoge Verhältnisse, die vielleicht noch stärker hervortreten würden, wenn die Versuchsanordnung den zweiten Extrakt nicht in bezug auf die Gründlichkeit der Extraktion benachteiligt hätte.

Versuch 3.

Junger, ausgewachsener Hund erhält morgens 250 g rohes gehacktes Pferdefleisch und wird $\frac{1}{2}$ Stunde danach durch Entbluten getötet. Gewicht nach Entbluten 5300 g. Pankreas (20 g) sofort entfernt und in zwei gleiche Teile von je 10 g verteilt, von denen der eine sofort, der andere nach 1 Stunde verarbeitet wird. Je 10 g mit der Schere zerschnitten, mit geglühtem Seesand und unter allmählichem Zusatz von 10 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung und 60 ccm Alkohol. absol. in der Reibschale fein verrieben. Die erste Portion wird 5 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, dann durch Watte filtriert, bis zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt und zweimal durch Papier klar filtriert (Extrakt I). Die zweite Portion wird mit der Hand gut durchgeschüttelt, bei Zimmertemperatur (18 bis 19° C) im Dunkeln bis zum nächsten Morgen aufbewahrt; dann wird die oben stehende Flüssigkeit abgehoben und einmal durch Papier klar filtriert (Extrakt II). Prüfung mit Ziegenblut, 5%ig, einmal gewaschen, 2 ccm.

	Extrakt I	Extrakt II
0,25	komplett	komplett
0,2	stark	"
1,0 ¹ / ₁₀	0	"
0,8	0	"
0,6	0	"
0,45	0	"
0,3	0	"
0,25	0	fast komplett
0,15	0	stark Zone
0,1	0	0
0	0	0

Auch bei dem folgenden Versuch 4 ist der zeitliche Unterschied, vor allem angesichts des kurzen Intervalles, beachtenswert.

Versuch 4.

Ein etwa $1\frac{1}{2}$ Jahr alter Hund erhält morgens 250 g rohes Pferdefleisch, wird $\frac{1}{2}$ Stunde danach entblutet. Gewicht nach dem Entbluten 5500 g; Pankreas (17,5 g) sofort entfernt. Die Hälfte wird nach $\frac{1}{4}$ Stunde, die andere Hälfte nach $\frac{1}{2}$ Stunde in der üblichen Weise verarbeitet. Portion I wird 5 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, durch Watte filtriert, steht bis zum nächsten Morgen im Eisschrank und wird dann zweimal durch Papier klar filtriert (Extrakt I). Portion II wird mit der Hand mehrmals gut aufgeschüttelt, steht bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Morgen im Dunkeln. Dann wird die Flüssigkeit abgehoben und zweimal durch Papier klar filtriert (Extrakt II).

Prüfung mit 2 ccm 5%igem, einmal gewaschenem Ziegenblut.

	Extrakt I, nach $\frac{1}{4}$ Stunde	Extrakt II, nach $\frac{1}{2}$ Stunde
0,25	komplett	komplett
0,2	"	"
1,0 ¹ / ₁₀	fast komplett	"
0,8	stark	"
0,6	mäßig Zone	"
0,45	obere Hälfte gelblich	fast komplett
0,3	0	mäßig Zone
0,25	0	0
0	0	0

Im Versuch 5 werden hoch wirksame hämolytische Extrakte erzielt, und zwar von einem Hunde, der 24 Stunden gehungert hatte. Hier war die hämolytische Wirkung des sofort nach dem Entbluten hergestellten Extraktes erheblicher, als man sie sonst nach mehrstündiger Selbstverdauung des Pankreas erzielt. Aber auch die Zunahme nach Lagern des Organes tritt deutlich hervor. Beachtenswert ist eine geringe Verminderung der Ausbeute, die nach 24stündigem Aufenthalte des Organes bei Zimmertemperatur eintritt.

Versuch 5.

Ein ausgewachsener Hund hat 24 Stunden gehungert und wird morgens durch Entbluten getötet. Pankreas (18 g) sofort entfernt und in drei Teile geteilt; Teil I sofort, II nach 3 Stunden und III nach 24 Stunden Autodigestion bei Zimmertemperatur in gleicher Weise mit Seesand, Kochsalzlösung und Alkohol absol. fein verrieben, 2 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt, dann einmal klar filtriert.

	I	II	III
0,6 $\frac{1}{10}$	komplett	komplett	komplett
0,3	"	"	"
1,0 $\frac{1}{100}$	mäßig Kuppe	"	"
0,8	Spürchen Kuppe	"	Spur Kuppe, Zone
0,6	0	mäßig Kuppe, Zone	Spürchen Kuppe
0,45	0	0	0
0	0	0	0

Im Versuch 6 und 7 zeigte sich im Gegensatz zu den vorausgehenden bei sonst gleichartigen Verhältnissen ein Fehlen der Verstärkung der Hämolyse nach längerem Lagern der Organe. Einmal (Versuch 6) ist der aus dem frisch entnommenen Organ bereitete Extrakt sehr wirksam und gewinnt nur ganz unbedeutend durch 3stündiges Verweilen des Pankreas bei Zimmertemperatur. In Fall 7 ist der Extrakt trotz reichlicher Fütterung des Hundes von Anfang an schwach und bleibt es auch, wobei das merkwürdige Verhalten eintritt, daß nach 1stündigem Lagern das Ergebnis schlechter ist als bei sofortiger und späterer Verarbeitung.

Versuch 6.

Ein ausgewachsener Spitz wird abends gut gefüttert, erhält am Morgen 250 g gehacktes Pferdefleisch und wird $\frac{1}{2}$ Stunde danach durch Entbluten getötet. Gewicht des getöteten Hundes 5000 g. Pankreas (15 g) sofort entfernt, ein Teil sofort (Extr. I), ein Teil nach 3stündigem Stehen bei Zimmertemperatur in der üblichen Weise verarbeitet (Extr. II). Am nächsten Tage beide einmal klar filtriert.

	Extr. I	Extr. II
0,6 $\frac{1}{10}$	komplett	komplett
0,3	"	"
0,15	fast komplett	fast komplett
1,0 $\frac{1}{100}$	Spürchen Kuppe	stark, Zone
0,8	0	mäßig Kuppe
0,6	0	0
0	0	0

Versuch 7.

Ein etwa $1\frac{1}{2}$ Jahr alter Terrier hungert 18 Stunden, erhält dann 500 g rohes gehacktes Pferdefleisch und wird 1 Stunde darauf in Ather-

narkose durch Entbluten aus der Femoralis getötet. Gewicht des entbluteten Hundes 6800 g. Gewicht des Pankreas 18 g, 6 g werden sofort (I), 6 g nach 1stündigem Aufenthalt (II), 6 g nach 3stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C (III) in der gewohnten Weise verarbeitet, 2 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und bis zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt. Einmal klar filtriert:

	I.	II.	III.
0,25	komplett	komplett	komplett
1,0 ^{1/10}	"	Spürchen Kuppe	"
0,8	"	0	fast komplett
0,6	stark	0	stark
0,45	Kuppe Zone	0	"
0,3	Spürchen Kuppe	0	Spürchen Kuppe
0	0	0	0

Nachdem wir das wechselnde Verhalten der alkoholischen Pankreasextrakte so, wie wir es bei unseren verschiedenen Versuchen fanden, hier dargestellt haben, ist noch auf die eigenartigen Löslichkeitsverhältnisse der alkoholischen Extrakte und auf die wichtige Rolle, die der Alkohol als solcher hierbei spielt, einzugehen. Es ist selbstverständlich, daß man stets die hämolytische Wirkung, welche dem Alkohol als solchem zukommt, berücksichtigen muß. Der von uns verwandte absolute Alkohol brachte bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung unverdünnt in Mengen von 0,5 ccm noch komplette Hämolyse hervor, während 0,25 ccm keine Hämolyse oder nur Spuren verursachten. Es kann also überall da, wo mit $\frac{1}{10}$ -Verdünnungen der alkoholischen Extrakte gearbeitet wird, die Alkoholwirkung mit voller Sicherheit ausgeschlossen werden. Dagegen übt die Gegenwart der an und für sich unschädlichen Alkoholmengen einen entschieden begünstigenden Einfluß auf die Extrakthämolyse selbst aus. Es deckt sich dies mit ähnlichen Beobachtungen, die auch schon Arrhenius sowie neuerdings Sachs und Rondoni¹⁾ beschrieben haben. Dieser begünstigende Einfluß des Alkohols tritt am klarsten dann zutage, wenn man die alkoholischen Extrakte zuerst im Vakuum bei niedrigerer Temperatur einengt und dann den Rückstand mit wechselnden Mengen Alkohol aufnimmt oder einerseits mit Alkohol, andererseits unmittelbar mit Kochsalzlösung. Die folgenden Versuche zeigen diese methodisch nicht unwichtigen Verhältnisse.

¹⁾ S. Sachs und Rondoni, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1 Teil, 1, 132, 1908.

Versuch 8.

10 ccm alkoholischer Hundepankreasextrakt, der in der üblichen Weise hergestellt ist und von dem ursprünglich $0,8^{1/10}$ komplett hämolytisch wirkt, werden im Vakuum eingeengt. Temperatur bis zu 28° , Wasserbadtemperatur bis 41° . Der Rückstand, eben noch flüssig, von bräunlicher Farbe, wird in 10 ccm Alkohol abs. leicht aufgelöst. Lösung leicht opaleszierend, beim Stehen setzt sich ein schleierartiges Sediment ab.

0,25	komplett
$1,0^{1/10}$	"
0,8	"
0,6	"
0,45	mäßig Zone
0,35	Kuppe, oben gelblich
0,3	0
0	0

10 ccm desselben Extraktes werden im Vakuum eingeengt. Temperatur bis 32° , Wasserbad bis 42° . Der Rückstand wird in 2 ccm Alkohol abs. aufgelöst, löst sich leicht. Dann werden 8 ccm $0,85\%$ iger Kochsalzlösung zugesetzt. Es bildet sich eine milchige Trübung, die anfangs keine größeren Partikel unterscheiden läßt. Beim Stehen setzen sich aber größere Partikelchen ab, die sich beim Schütteln wieder fein verteilen.

0,5	Spur Kuppe
0,25	"
$1,0^{1/10}$	Spürchen Kuppe
0,8	0
0	0

Ein weiterer Versuch (Versuch 9) zeigt entsprechende Verhältnisse.

Versuch 9.

Ein großer Jagdhund, der zuletzt am Abend gefressen hat, wird morgens durch Entbluten getötet. Das Pankreas (37 g) wird sofort entfernt und steht bis zum nächsten Morgen bei Zimmertemperatur. Es wird mit Seesand und unter Zusatz des sechsfachen Volumens Alkohol fein zerrieben, 2 Stunden geschüttelt, bis zum Morgen im Eisschrank aufbewahrt und einmal klar filtriert. $0,25^{1/10}$ dieses Extraktes bewirken komplette Hämolyse.

I. 10 ccm dieses Extraktes werden im Vakuum eingeengt. Temperatur 30° , Wasserbad bis 41° . Rest von zäher Konsistenz, bräunlich gelblich, in 10 ccm Alkohol gelöst. Löst sich nicht vollständig. Am Boden feinstes Sediment beim Stehen. Aufgeschüttelt leichte Opalescenz.

II. Aus 10 ccm desselben Extraktes wird der Alkohol über dem kochenden Wasserbad vertrieben. Eben noch flüssiger gelblich-brauner Rückstand, der mit 10 ccm Alkohol abs. aufgenommen wird. Löst sich leicht, doch feinstes Sediment am Boden, das sich nach einigem Stehen absetzt. Flüssigkeit nach Aufschütteln leicht opaleszierend.

III. 10 ccm desselben Extraktes im Vakuum eingeengt. Temperatur bis 31°, Wasserbadtemperatur bis 43°. Der Rückstand zeigt dieselbe Beschaffenheit wie die vorigen. Beim Zufügen von 10 ccm Kochsalzlösung setzt sich am Rande des Gefäßes ein weißes Häutchen ab, das sorgfältig entfernt wird. Grobe Flocken, die im Mörser verrieben werden. Es entsteht eine ziemlich feine Emulsion, die nach einigem Stehen am oberen Rande der Flüssigkeit schwimmt.

	I.	II.	III.
0,25	komplett	komplett	stark
1,0 ¹ / ₁₀	„	„	Spürchen Kuppe
0,8	„	„	„
0,6	„	„	„
0,45	„	„	„
0,3	„	„	0
0,25	„	„	0
0,1	stark	stark	0
0	0	0	0

Diese begünstigende Wirkung des Alkohols ist vor allem beim Vergleich unserer Versuche mit den Ergebnissen Friedemanns in Betracht zu ziehen. Friedemann hat die alkoholischen Extrakte niemals als solche zur Hämolyse verwendet, sondern sie stets zunächst eingedampft und dann den Rückstand direkt in Kochsalzlösung wieder aufgenommen. Daß dabei die schlechtere Verteilung der die Hämolyse bedingenden Partikelchen auch noch von Einfluß sein kann, ist wohl klar. Es fiel uns auch von Anfang an auf, daß die hämolytische Wirkung unserer Extrakte weit stärker war als die in Friedemanns Versuchen, und wir dachten erst daran, daß etwa die Temperatur beim Einengen maßgebend wäre. Wie wir jedoch in II von Versuch 9 sehen, spielt dies keine Rolle.

Deshalb müssen im Vergleich zu den unsrigen die Versuche Friedemanns so beurteilt werden, daß das Fehlen der Hämolyse in jenen keineswegs auch ein Fehlen der hämolytisch wirksamen Substanzen bedeutet. Die Reaktion ist nur sozusagen weniger fein gegenüber der gesteigerten Empfindlichkeit, welche die Reaktion durch die Gegenwart des Alkohols erhält, und recht erhebliche Mengen hämolytischer Substanzen können bei Friedemanns Versuchsanordnung verborgen bleiben.

Das nächstliegende wäre nun gewesen, zu untersuchen, ob die Substanzen, welche man durch die geschilderte Alkohol-extraktion aus dem Pankreas erhält, sich wieder in eine Form

bringen lassen, die derjenigen entspricht, welche wir in den primär mit Kochsalzlösung erhaltenen Organextrakten vorfinden. Es hätte sich also darum gehandelt, die durch die Alkohol-extraktion gewonnenen Substanzen an feste Partikelchen zu binden, wie sie in den Kochsalzextrakten vorhanden sind und zu untersuchen, ob sie von diesen an Blutkörperchen abgegeben werden und die Hämolyse erzeugen. So wäre eine Grundlage gewonnen, um dann die entsprechenden Verhältnisse mit passend gewählten Seifen nachzuprüfen. Wir mußten aber von diesen Parallelversuchen, die ja auch für die Durchführung unseres Gedankenganges schließlich entbehrlich sind, absehen. Verdünnt man nämlich die klaren alkoholischen Extrakte mit Kochsalzlösung, so tritt, wie schon vorher erwähnt, eine flockige Ausfällung des hämolytischen Agens ein, die von vornherein verhindert, es in genügender Konzentration in wässriger Lösung zu erhalten.

Es zeigte sich aber bald, daß man von diesen Versuchen absehen durfte, um so mehr, als über die Verhältnisse, wie sie in den wässrigen Organextrakten vorliegen und wie wir sie bereits geschildert haben, kein Zweifel bestehen kann. Es gelingt nämlich leicht, wie die folgenden Versuche zeigen, künstliche Suspensionen vom Charakter der Organextrakte herzustellen, in denen das hämolytische Agens eine bekannte Seife ist.

Man kann sich für diese Versuche der Coagula bedienen, wie sie beim Erhitzen wässriger Extrakte der verschiedensten Organe leicht in der notwendigen feinen Verteilung herzustellen sind. In Versuchen, die der eine von uns gemeinschaftlich mit Wossidlo angestellt hat, und über die später berichtet werden soll, wurden diese Coagula mit Erfolg benutzt. Es läuft aber hier ein Übelstand mit unter, der die Versuchstechnik erschwert, nämlich die hämolytische Wirkung, welche dem Coagulum von vornherein zukommt. Da es uns nun hier vor allem doch darauf ankam, zu zeigen, daß Seifen in der Art wirken können, daß sie von einem Coagulum an Blutkörperchen übergehen, zogen wir eine Versuchsanordnung vor, welche reinere Resultate ergibt und welche vor allem auch in Zukunft ein quantitatives Studium dieser Verhältnisse gestatten wird. Es ist dies um so wichtiger, als wohl die Art der Wirkung, wie sie sich hier

bei den Seifen zeigt, einer ganzen Gruppe hämolytischer Substanzen zukommen dürfte.

Für die hämolytischen Coagula, welche wir auf einem sozusagen synthetischen Wege gewannen, wählten wir als Grundlage die hämolytisch indifferenten Eiweißflocken, die beim Erhitzen verdünnten Serums entstehen. Für das Pferdeserum, dessen wir uns in allen Versuchen bedienten, ließ sich leicht feststellen, daß eine Verdünnung mit Kochsalzlösung im Verhältnis 1:5 die besten Resultate ergab. Die Serumverdünnung wurde in Reagensgläsern in das Wasserbad von 70° eingesetzt, die Temperatur allmählich auf 80° gesteigert und dann noch 5 bis 10 Minuten beibehalten. Die entstehenden Coagula sind außerordentlich fein, während beim Erhitzen im kochenden Wasserbad grobe Flocken entstehen, die übrigens durch Abzentrifugieren und Verreiben in einer Reibschale brauchbar zu machen sind.

Wie die folgenden Versuche zeigen, sind diese Eiweißflocken in stände, oleinsaures Natron aus wässrigen Lösungen aufzunehmen und es dann wieder an Blutkörperchen abzugeben, so daß Hämolyse eintritt.

Versuch 10.

Die aus je 2 ccm Pferdeserum erhaltenen Flocken werden zu 10 ccm einer Lösung von oleinsaurem Natron zugesetzt, und zwar

- I. einer $\frac{1}{2}$ % igen,
 II. einer $\frac{1}{10}$ % igen.

Nach 2stündigem Schütteln im Schüttelapparat wird durch gehärtete Filter filtriert. Filtrat I = opaleszierend, Filtrat II = klar. Rückstand zweimal in je 10 ccm Kochsalzlösung gewaschen, dann in 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Prüfung statt wie gewöhnlich mit 2 ccm 5% igem Ziegenblut nur mit 1 ccm. Der Abguß von I löst in der Menge von 0,8 noch komplett, hatte also den weitaus größten Teil seiner ursprünglichen hämolytischen Fähigkeit — $0,1\frac{1}{10}$ müßte noch komplett lösen — verloren. Der Abguß von II zeigte in den größten noch anzuwendenden Mengen keine hämolytische Wirkung mehr. Die hämolytische Wirkung der Niederschläge geben die folgenden Tabellen I und II wieder.

	I.	II.
1,0 $\frac{1}{10}$	komplett	komplett
0,8	"	"
0,6	"	"
0,3	"	Spur Kuppe
1,0 $\frac{1}{100}$	Spur Kuppe	0
0,5	Spürchen	0
0,25	0	0
0	0	0

Zweifellos gelangt hier nicht das gesamte von den Niederschlägen gebundene ölsaure Natron zur Wirkung, sondern, wie sich leicht ersehen läßt, in Versuch I sicher nicht mehr als $\frac{1}{6}$, in Versuch II höchstens die Hälfte.

Es wird weiteren quantitativen Untersuchungen vorbehalten sein, die näheren Bedingungen der beschriebenen Vorgänge zu definieren. Einige weitere orientierende Versuche, die qualitativ stets in derselben Weise verliefen, zeigten uns, daß die quantitativen Verhältnisse erheblichen Schwankungen unterliegen. Wir teilen im folgenden noch einen weiteren Versuch mit.

Versuch 11.

Zu den aus 2 ccm Pferdeserum erhaltenen Flocken werden

I. 10 ccm einer $\frac{1}{2}\%$ igen Lösung von Natrium oleicum Merck in Kochsalzlösung,

II. 10 ccm einer $\frac{1}{10}\%$ igen Lösung von Natrium oleicum Merck in Kochsalzlösung

zugesetzt, die Suspensionen 2 Stunden geschüttelt. Am nächsten Morgen wurde durch gehärtete Filter filtriert. Filtrat I = leicht opaleszierend, Filtrat II = klar. Der Filtrerrückstand wird im Mörser fein verrieben, dreimal in je 10 ccm Kochsalzlösung gewaschen und auf 10 ccm mit Kochsalzlösung aufgefüllt und mit 2 ccm einmal gewaschenem 5% igen Ziegenblut geprüft.

	I.	II.
	komplett	komplett
1,0	komplett	komplett
0,5	„	„
0,25	„	Spur Kuppe
$1,0\frac{1}{10}$	„	0
0,5	Zone Kuppe, gelblich	0
0,25	Kuppe gelblich	0
$1,0\frac{1}{100}$	Spur Kuppe, gelblich	0
0,5	0	0
0	0	0

Diese quantitativen Differenzen können von den verschiedensten Momenten abhängen. Die Beschaffenheit der Flocken, ihre größere oder geringere Feinheit mag hierbei eine Rolle spielen. Von zweifelloser Bedeutung sind ferner die zeitlichen Verhältnisse der Hämolyse. Auch hierin zeigt sich die Ähnlichkeit der hier vorliegenden Phänomene mit der Hämolyse durch Organextrakte, indem im Gegensatz zu der rasch verlaufenden Seifenhämolyse die Reaktion langsam verläuft. Es ist nach unseren vielfachen Erfahrungen nicht wahrscheinlich, daß bei der hier eingehaltenen üblichen Versuchsanordnung —

2 Stunden 37°, über Nacht Eisschrank — schon ein maximaler Übergang der Seife an die Blutkörperchen und damit eine Erschöpfung der Flocken eingetreten ist. Für streng quantitative Versuche wird es nötig sein, die Zeit bei 37° auszudehnen und vor allem durch ständiges Schütteln eine den Ablauf der Reaktion störende Sedimentierung der Flocken und auch der Blutkörperchen zu verhüten. Endlich ist noch zu untersuchen, inwieweit das Waschen der Flocken von Einfluß ist. Wir glauben allerdings, daß demselben nur eine sehr geringe Bedeutung zukommt, da die Seifenmengen, welche an die Waschlüssigkeit abgegeben werden, nicht in Betracht kommen. Es ergibt sich dies schon daraus, daß im obenstehenden Versuch der Abguß von II keine Spur von Hämolyse mehr ausübt.

Um die Analogie mit der Hämolyse durch Organextrakte zu vervollständigen, untersuchten wir auch noch die hemmende Wirkung, welche das Pferdeserum auf die Hämolyse durch die mit Seife beladenen Eiweißflocken ausübt. Es zeigte sich, daß dieselbe in der nämlichen Weise erfolgt, wie dies schon früher beim Studium der hämolytischen Organextrakte beschrieben wurde. Zentrifugiert man die Flocken, nachdem genügend Pferdeserum zugesetzt war, um die Hämolyse zu hemmen, ab, so fehlt ihnen auch dann die hämolytische Wirkung. Dahingestellt muß es bleiben, ob die Flocken hierbei die hemmende Substanz aus dem Serum aufgenommen oder ob umgekehrt dieses den Flocken die gebundene Seife entzogen hat.

Durch die Untersuchungen von Noguchi und v. Liebermann ist bekannt, daß die Seifenhämolyse durch Serum gehemmt wird. Es war nun von besonderem Interesse, zu untersuchen, ob die Flocken, welche durch Erhitzen eines Gemisches aus einer Lösung von oleinsaurem Natron und Serum erhalten werden, noch eine hämolytische Wirkung zeigen, wenn die quantitativen Verhältnisse so gewählt sind, daß die angewandte Serummenge die hämolytische Wirkung der Seife gerade neutralisiert. Es zeigte sich, daß z. B. ein derartiges Gemisch von 5 ccm Pferdeserum und 2 ccm einer 1%igen Lösung von Natrium oleinicum, nachdem es entsprechend verdünnt und durch Hitze koaguliert ist, keine hämolytische Wirkung mehr aufweist. Auch die durch Zentrifugieren abgetrennten und mit Kochsalzlösung gewaschenen Flocken sind vollständig wirkungslos.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß es tatsächlich möglich ist, künstlich Suspensionen herzustellen, welche weitestgehende Analogien mit den hämolytischen Organextrakten zeigen und in welchen das hämolytische Agens eine Seife ist. Damit soll keineswegs gesagt sein, daß hierdurch der Beweis erbracht ist, daß für die Hämolyse durch Organextrakte nichts anderes als Seifen in Betracht kommen können. Wenn auch in bezug auf gewisse Extrakte, so von Magen und Darm, erhebliche Divergenzen zwischen den einzelnen Autoren in bezug auf die Möglichkeit oder Wahrscheinlichkeit, daß es sich um Seifen handle, nicht bestehen, sind gerade bezüglich der Hämolyse der Pankreasextrakte durch die schon erwähnte Arbeit von U. Friedemann so viel bisher nicht bekannte Momente vorgebracht worden, daß hier von neuem Untersuchungen einsetzen müssen. Auf alle Fälle aber füllt die vorliegende Untersuchung eine Lücke aus, indem sie dartut, daß Seifenhämolyse in derselben Form auftreten kann, wie wir sie bisher nur bei der Hämolyse durch die Organextrakte kennen gelernt haben.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

(VII. Mitteilung.)

Über Kephalin.

Von

Ernst Neubauer.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung zu Wien.)

(Eingegangen am 3. August 1909.)

In seiner grundlegenden Arbeit über die chemische Konstitution des Gehirnes des Menschen und der Tiere unterscheidet Thudichum¹⁾ vier Gruppen der von ihm unter der Bezeichnung der Monoaminophosphatide zusammengefaßten Substanzen; von diesen zeigen das Myelin und das Paramyelin ausgesprochen saure Eigenschaften im Gegensatz zum Lecithin und Kephalin. Das Kephalin, das die Hauptmenge der Gesamtlipoide des Gehirns darstellt, läßt sich von den anderen ungesättigten Phosphatiden²⁾ nach dem von S. Fränkel beschriebenen Verfahren ohne erhebliche Schwierigkeiten dadurch trennen, daß es im Gegensatze zu den anderen ungesättigten Phosphatiden (wir folgen hier der Fränkelschen Nomenklatur) aus ätherischer und aus petrolätherischer Lösung durch Alkohol ausgefällt wird; das so gewonnene Kephalin ist aber nach unseren Untersuchungen nicht als chemisch reiner und einheitlicher Körper aufzufassen. Die weitere Reinigung des Kephalins unterliegt nun großen Schwierigkeiten, einerseits wegen des Vorhandenseins von vom Ke-

¹⁾ Über die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere, Tübingen 1901.

²⁾ s. S. Fränkel, Gehirnchemie. In *Ergebn. d. Physiol. von Asher und Spiro* 8, 212, 1909. — Derselbe, *diese Zeitschr.* 19, 254.

phalin schwer trennbarer Substanzen, andererseits wegen der großen Veränderungen, die das Kephalin unter dem Einfluß von Licht, Luft und Feuchtigkeit durchmacht; besonders störend ist der Umstand, daß das Kephalin auch die verschiedensten unorganischen Stoffe in großer Menge zurückhält und, wie wir feststellen konnten, selbst an sich in den organischen Lösungsmitteln unlösliche anorganische und organische Salze in diese Lösungsmittel mitreißt.

Diese Schwierigkeiten erklären die mangelnde Übereinstimmung in den bis nun vorliegenden Kephalinanalysen, auf die weiter unten näher eingegangen werden soll. Auch die Eigenschaften der beschriebenen Produkte zeigen gewisse Verschiedenheiten. Da ein Teil der verschiedenen Befunde jedenfalls durch die verschiedene Darstellungsweise und durch die dadurch verursachte unzureichende Reinigung von Beimischungen organischer und anorganischer Körper bedingt ist, soll die Art der Darstellung, die auch ein Licht auf verschiedene, dem Kephalin eigentümliche Erscheinungen wirft, näher dargelegt werden.

Darstellung des Kephalins.

Von Thudichums erster Darstellung des Kephalins an ist allen Isolierungsmethoden gemeinsam die Benutzung jener Eigenschaft des Kephalins, in Alkohol fast unlöslich zu sein; im übrigen gehen die Darstellungsmethoden in der Art der bei der Darstellung und Reinigung verwendeten Lösungs- und Fällungsmittel und in der Reihenfolge ihrer Anwendung sehr auseinander. Thudichum extrahierte das entwässerte, zerkleinerte Gehirn zuerst mit heißem Alkohol und erschöpfte die so gewonnene „weiße Masse“ Vauquelins mit Äther, die eingeeengte ätherische Lösung wird nach längerem Stehen in der Kälte von dem aus Cholesterin, Cerebrosiden usw. bestehenden Absatz filtriert, das Filtrat mit absolutem Alkohol gemischt, 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen, der Niederschlag in wenig Äther gelöst und wieder mit Alkohol gefällt; die weitere Reinigung erfolgte durch Fällung der wässrigen, filtrierten Kephalinlösung durch Salzsäure. Das auf diese Weise gewonnene Präparat legte Thudichum seinen Untersuchungen über das Kephalin zugrunde; auf Grund der Elementaranalyse gelangte er zur Aufstellung einer empirischen Formel $C_{42}H_{79}NPO_{13}$.

und zur Auffassung des Kephalins als eines Monoamino-monophosphatids; nun ergibt aber eine Nachrechnung seiner Formel, daß die gefundenen Werte mit den theoretisch geforderten nicht recht übereinstimmen; besonders gilt das von den Phosphorwerten, für die zu hohe Analysenresultate vorliegen, entsprechend einem Verhältnis $N:P = 1,0:1,17$, also um 17% höher, als es die Theorie verlangt. Es ist denkbar, daß diese hohen P-Werte durch beigemengte Asche bedingt sind; Angaben über die Höhe des Glührückstandes findet man weder bei Thudichum, noch bei jenen Autoren, die sich nach ihm mit dem Kephalin beschäftigt haben. Thudichum unterzog das Kephalin des weiteren der Hydrolyse; aus seinen Angaben geht nicht mit Sicherheit hervor, ob er hierzu ein auf die gleiche, nach seinen Angaben sehr schwierige und umständliche Weise dargestelltes Kephalin wie zur Elementaranalyse verwendet hat; jedenfalls stimmt sein Befund eines Neurinkomplexes und einer zweiten, zwei Methylradikale enthaltenden Base im Kephalinmolekül mit dem von uns in einem auf analoge Art dargestellten Kephalin erhobenen Befund nicht überein, nach dem im Kephalinmolekül nur eine an Stickstoff gebundene Methylgruppe vorkommt.

Neben dem Kephalin fand Thudichum noch zwei höher oxydierte Kephaline: Oxy- und Peroxykephalin; es dürfte sich dabei um Kunstprodukte handeln, da wir die Erfahrung machten, daß Äther auf das so reaktionsfähige Kephalin oxydierend wirken kann, eine Erfahrung, die wir uns bei den späteren Darstellungen zunutze machten. Bei dieser Darstellung, wenigstens bei der Hauptportion, folgten wir im wesentlichen den Angaben des Entdeckers; denn nur so konnte man erwarten, einen ähnlichen Körper zu erzielen, wie ihn Thudichum in Händen hatte; dabei konnten wir uns gleichwohl einige Erfahrungen des Instituts zunutze machen; die Autoren, die sich nach Thudichum mit dem Kephalin beschäftigt haben, sind bei der Darstellung desselben in anderer Art vorgegangen, und es bleibt dabei immer die Frage offen, wie weit in ihren Präparaten in der Tat Kephalin im Sinne Thudichums vorgelegen hat. Da die meisten die Reinigung nicht einmal soweit wie Thudichum durchgeführt haben, erscheinen uns ihre Analysen und sonstigen Angaben als durchaus zweifelhaft.

Am einfachsten ist bei seiner Isolierung des Kephalin's Zülzer¹⁾ vorgegangen; dieser Autor fällte den Gehirnätherextrakt mit Aceton und schied dann den cholesterinfreien Niederschlag in einen ätherunlöslichen („Protagon“) und einen ätherlöslichen; letzterer war zum Teil durch Alkohol fällbar (Kephalin).

W. Koch²⁾ extrahierte Gehirn mit Aceton, dann mit Äther und fällte durch Zusatz von Alkohol das Kephalin; das gefällte Kephalin zog er wiederholt mit heißem Alkohol aus, löste es in Äther, fällte mit Aceton; nachdem es wieder in Äther gelöst worden war, blieb die trübe Lösung stehen, dann wurde vom abgesetzten Niederschlag dekantiert und nach Abdunsten des Äthers der harzige Rückstand aus heißem Essigäther zweimal umgelöst.

F. Falk³⁾ zog das getrocknete Gehirn mit kochendem Benzol aus; die nach Entfernung des Benzols überbleibende braune, zähe, schaumige Masse wurde mit Aceton gekocht, der acetonunlösliche Rückstand mit Äther versetzt und die eingeeengte ätherische Lösung durch die mehrfache Menge absoluten Alkohols gefällt; zur Reinigung wurde wiederholt in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit absolutem Alkohol ausgekocht.

Bei unserer Darstellung des Kephalin's gingen wir bei verschiedenen Darstellungsversuchen zunächst immer in gleicher Weise vor; zum Zwecke der schließlichen Reinigung wurden verschiedene Wege eingeschlagen, die Hauptmenge jedoch nach Thudichum's Prinzip isoliert. Von seinen Häuten, von größeren Gefäßen und von Blut gereinigtes Menschenhirn wurde bei 100° rasch getrocknet und nun mit kaltem, hierauf mit siedendem Aceton erschöpft. Diese anfängliche Acetonextraktion erwies sich uns hier wie bei den Darstellungen anderer Hirnlipoide als sehr zweckmäßig, worauf S. Fränkel⁴⁾ kürzlich hingewiesen hat. Man hat nämlich sonst, wenn das Cholesterin nicht von vornherein möglichst vollständig ausgezogen wird, große Schwierigkeiten, cholesterinfreie Präparate zu erzielen,

1) Zülzer, Zeitschr. f. phys. Chem. 27, 255.

2) W. Koch, Zeitschr. f. phys. Chem. 36, 135.

3) F. Falk, diese Zeitschr. 13, 153, 1908 und 16, 187, 1909.

4) S. Fränkel, diese Zeitschr. 19, 254, 1909.

da das Cholesterin vermöge der physikalischen Eigenschaften der Lipoidlösungen in die einzelnen Fraktionen mitgelöst wird, auch wenn es an sich in den betreffenden Lösungsmitteln unlöslich ist. Das beste Lösungsmittel zur Abscheidung des Cholesterins ist bei der Gewinnung des Kephalins das Aceton, da in ihm die Monoaminophosphatide unlöslich sind. Die Verwendung von Aceton bei der Kephalingarstellung wurde von Zülzer eingeführt, und auch Koch und Falk benutzten es; wir stellten die Acetonextraktion prinzipiell an erste Stelle; eine spätere quantitative Trennung des Cholesterins von Kephalin ist eine fast undurchführbare Aufgabe. Nachdem so das Cholesterin von vornherein weggeschafft war, folgte eine Extraktion mit Petroläther; zur eingeeengten petrolätherischen Lösung wurde so lange absoluter Alkohol zugesetzt, als noch etwas ausfiel; die Fällung wurde mit siedendem absolutem Alkohol erschöpfend ausgekocht. Hierauf wurde der Niederschlag in Petroläther — wir wählten diesen statt des von Thudichum angewendeten Äthers, um oxydative Veränderungen des Kephalins durch das organische Solvens zu vermeiden — gelöst; nach längerem Stehen setzte sich ein Galactosid als weißer Bodensatz ab, das durch wiederholtes Zentrifugieren gründlichst herausgeholt wurde; die klare petrolätherische Lösung wurde nun wieder mit Alkohol gefällt, wiederholt mit absolutem Alkohol gewaschen, der Alkohol abgepreßt und der Niederschlag im Vakuum getrocknet (Präparat B).

Reinigung des Rohkephalins (Präparat B) zum Reinkephalin (Präparat A).

Ein Teil dieses Präparates wurde im Wasser aufgeschwemmt, wobei das Kephalin unter Schäumen zu schleimiger Konsistenz aufquillt; aus dieser schleimigen Lösung wurde durch Zusatz einiger Tropfen Salzsäure das Kephalin in weißen Flocken ausgefällt, koliert, nochmals in Wasser aufgeschwemmt und wieder koliert und schließlich mit Wasser so lange gewaschen, bis das Waschwasser gegen Kongo nicht mehr sauer reagierte; der noch nicht getrocknete Niederschlag löst sich nicht in Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Petroläther, wohl aber auffälligerweise und im Gegensatz zu den anders dargestellten Kephalinpräparaten B und C (welche weiter unten beschrieben

werden) leicht in Alkohol. Methylacetat fällt den im Wasser aufgequollenen Niederschlag, ebenso Aceton. Letzteres wird zur weiteren Reinigung verwendet. Der in Wasser suspendierte, noch schleimige Niederschlag wird durch Aceton in Form großer schneeweißer Flocken gefällt, die zum Teil auf der Nutsche, zum Teil im Becherglas gründlich mit Aceton gewaschen werden; hierauf wird im Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin getrocknet und im absoluten Vakuum aufbewahrt. (Das trübe Filtrat der Acetonfällung gibt nach Zusatz größerer Acetommengen keine weitere Fällung; auch Salzsäure fällt es nicht aus. Alkohol löst die Trübung; in Äther geht sie nicht über; Kochsalz, Glaubersalz geben keine, Kupfersalze eine geringe grobflockige Fällung; eine allmählig auftretende Fällung gibt auch Eisenchlorid; die Erdalkalichloride geben eine von Barium über Calcium zum Magnesium an Intensität abnehmende Fällung.

Bei einer dritten Darstellung wurde nach Aceton- und Petrolätherextraktion der Petrolätherextrakt mit abs. Alkohol gefällt und nun der Niederschlag statt in Petroläther, in über Natrium frisch destilliertem absoluten Äther gelöst, nach Abzentrifugieren des abgesetzten Galactosides wurde die klare ätherische Lösung mit Alkohol gefällt, der Niederschlag im Vakuum getrocknet. Die trockene Substanz ist gelblich gefärbt, ist in absolutem Alkohol spurweise, in kaltem Wasser wenig, in warmem Wasser und in Tetrachlorkohlenstoff gut löslich. (Aus der gesättigten Tetrachlorkohlenstofflösung wird das Kephalin durch ein gleiches Volumen Alkohol als ein weißer nicht krystallinischer, in Essigsäuremethylester unlöslicher, in Essigsäureäthylester nur in der Siedehitze löslicher Körper ausgefällt.)

Es wurde nun versucht, durch Salzfällung eine weitere Reinigung des Kephalins zu erzielen; hierzu wurde die getrocknete Substanz in reichlich Wasser aufgeschwemmt und wegen ihrer schlechten Filtrierbarkeit durch Dekantieren gereinigt; dann wurde mit Glaubersalz ausgesalzen und die Mutterlauge durch Dekantieren entfernt. Das gefällte Kephalin mit der geringen Menge durch Abgießen nicht entfernbare Mutterlauge wurde mit Petroläther ausgeschüttelt, der dunkel gefärbte Petrolätherextrakt eingeengt und mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols gefällt, hierauf nochmals aus Äther

und abermals aus Petroläther mit Alkohol niedergeschlagen (Präparat C).

Es standen uns also drei Präparate zur Analyse zur Verfügung; ein durch Natriumsulfatfällung (Aussalzen) gereinigtes (C) — ein Präparat, das durch oftmaliges Auskochen mit heißem, absoluten Alkohol und wiederholtes Umfällen gereinigt (B) und schließlich eines, das durch Salzsäurefällung aus Wasser und Acetonhärtung (A) aus dem B-Präparat erhalten worden war.

Physikalische Eigenschaften des Kephalins.

Alle drei Kephalinpräparate waren amorphe Pulver, die ersten beiden hellgelb gefärbt, das dritte (über Salzsäure-Aceton gereinigte) zunächst blendend weiß, dann leicht gelb anfärbend; durchwegs stark hygroskopisch und infolgedessen schon bei kurzem Stehen an der Luft zu groben Klumpen verklebend, zeigte besonders das Präparat B stark elektrishe Eigenschaften; beim Pulvern sprangen kleine Teilchen unter lautem Knistern weg; dem offenbar reinsten Präparat A fehlte diese Eigenschaft; dieses letztere ließ sich auch viel leichter pulverisieren, während die beiden anderen beim Zerreiben zunächst vielfach in konsistente, schwer zu zerkleinernde Plättchen verwandelt wurden. Der Luft und dem Lichte ausgesetzt, verändern sich die Präparate rasch, was an dem schnellem Nachdunkeln augenfällig in Erscheinung tritt; einmal getrocknet zeigt das Kephalin im Vakuum kein weiteres Nachdunkeln.

Auch die Löslichkeitsverhältnisse des Kephalins sind je nach der Darstellung nicht ganz gleich; während die nicht mit Salzsäure gefällten Präparate in absolutem Alkohol unlöslich sind, ist das mit Salzsäure gereinigte in Alkohol zunächst leicht löslich, nach der Fällung mit Aceton geht diese Löslichkeit in Alkohol verloren. In Wasser quellen die Präparate verschiedener Darstellung zunächst auf und bilden schließlich recht stabile kolloidale Lösungen; der Einfluß von Säure und Alkali und verschiedener Salze auf diese wässrigen Lösungen ist bis nun — es liegen darüber nur ganz wenige Beobachtungen von Koch ohne Berücksichtigung der Mengenverhältnisse vor — nicht näher untersucht. Bei unseren diesbezüglichen Beobachtungen ergab sich nun folgendes: Säuren fällen Kephalin aus seiner wässrigen Lösung, und zwar die anorganischen bereits in viel

geringerer Konzentration als die organischen; Weinsäure fällt nicht. Alkalien dagegen klären die Lösung, machen sie durchsichtiger; der durch Säure hervorgerufene Niederschlag wird durch Lauge wieder in Lösung gebracht; Laugenzusatz hemmt auch die Fällung durch Salze.

Tabelle I.¹⁾

	HCl	Oxalsäure	Weinsäure
1 ccm 1 ^o / ₁₀ ige wässrige Kephalinlösung + 1 ccm 4fach normal 2fach normal normal	++		—
n ^o / ₅	++	+	—
n ^o / ₁₀	++	—	—
n ^o / ₅₀	++	—	—
n ^o / ₁₀₀	+	—	—
n ^o / ₅₀₀	—	—	—
n ^o / ₁₀₀₀	—		

Tabelle II.

	Konzentration der CuCl ₂ -Lösung		
	n ^o / ₁	n ^o / ₁₀₀	n ^o / ₅₀₀
1/2 ccm 1 ^o / ₁₀ ige wässrige Kephalinlösung + 1/2 ccm H ₂ O + 1 ccm CuCl ₂	++	+	—
1/3 ccm 1 ^o / ₁₀ ige wässrige Kephalinlösung + 1/2 ccm n ^o / ₁₀ NaOH + 1 ccm CuCl ₂	++	—	—

Über das Verhalten der Salze gibt folgende Tabelle Aufschluß.

Tabelle III.¹⁾

I. 1 ccm 1^o/₁₀iger wässriger Kephalinlösung + 1 ccm Salzlösung.

	Na ₂ Fe(CN) ₆	NaCl	NaBr	NaJ	NaCNS	BaCl ₂	MgCl ₂	ZnSO ₄	CdCl ₂	HgCl ₂	CuSO ₄	CuCl ₂	AgNO ₃	AuCl ₃	FeCl ₃
Mit Salz in Substanz gesättigt				0	0			++	0		+	0			
n ^o / ₁	++	++	+	+	+	++	++	++	+	—	++	++			
n ^o / ₃	—	—	—	—	—	++	++	++	++	—	++	++	++	+	++
n ^o / ₁₀	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	++	++	—	—	++
n ^o / ₅₀	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	++
n ^o / ₁₀₀	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++
n ^o / ₅₀₀	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++
n ^o / ₁₀₀₀	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾ ++ bezeichnen Fällung, + geringgradige Fällung, ± Trübung, 0 Aufhellung, — keine Veränderung.

Halogen-Natriumsalze geben also mit wässriger Kephalinlösung in der Konzentration einer Normallösung einen vom Fluorid über das Chlorid und Bromid zum Jodid an Intensität abnehmenden Niederschlag; das Rhodanid gibt nur mehr eine leichte Trübung. Jodnatrium und Rhodannatrium erzeugen in konzentrierter Lösung Klärung der Kephalinlösung; ebenso wirkt Harnstoff klärend.

Die Erdalkalisalze geben intensive Flockung; die durch Magnesiumchlorid hervorgerufene ist kaum geringer als die Bariumchloridfällung. Eine Fällung in zwei Zonen, wie sie Porges und Neubauer¹⁾ beim Lecithin für eine große Reihe von Erdalkali- und Schwermetallsalzen beobachtet haben, tritt beim Kephalin nicht in Erscheinung. Auch die Schwermetallsalze fällen das Kephalin nur in einer Zone, die in der Gruppe Zn, Cd, Hg vom Zink zum Quecksilber an Breite abnimmt, (Sublimat erzeugt überhaupt keine Fällung mehr) in der Gruppe Cu, Ag, Au vom Kupfer zum Gold; die Goldkephalinlösungen nehmen nach kurzem Stehen tiefrot-violette Färbung an. Konzentrierte Kupferchlorid- und Cadmiumchloridlösungen bringen nicht nur keine Fällung hervor, sondern klären die Kephalinlösung. Diese Erscheinung, daß Salzlösungen im Überschuß der Kephalinlösung zugesetzt keine Fällung, sondern sogar Klärung der Suspension verursachen, spricht besonders zwingend gegen die Annahme echter Salzbildung.

Die angeführten Beobachtungen charakterisieren die wässrige Lösung des Kephalins als kolloidale Lösung mit anodischer Konvektion; wie das Lecithin ist auch das Kephalin den hydrophilen Kolloiden zuzurechnen. Mit Sicherheit läßt sich behaupten, daß die Fällung durch Salzsäure mit einer Chlorhydratbildung, an die Thudichum an manchen Stellen zu denken scheint, indem er von salzsaurem Kephalin spricht, nichts gemein hat; denn abgesehen davon, daß auch andere Säuren Kephalinlösungen erzeugen, spricht die geringe zur Ausflockung erforderliche Säuremenge gegen einen Vorgang chemischer Art; schließlich ist in dem gewaschenen Salzsäurepräzipitat gar kein Chlor nachweisbar; das Kephalin wird eben als elektronegativ geladener Körper durch die entgegengesetzt geladene Säure gefällt.

¹⁾ Porges und Neubauer, diese Zeitschr. 7, 152, 1907.
Biochemische Zeitschrift Band 21.

Auch durch alkoholische Salzlösungen wird Kephalin gefällt; es ist dies bekannt von der alkoholischen Cadmiumchloridlösung, ganz analog verhält sich auch die alkoholische Kupferchloridlösung; die entstandenen Fällungen sind in Petroläther löslich und werden aus demselben durch Aceton ausgefällt. Alkohol erzeugt nur eine geringe, schmierige Fällung.

Die Eigenschaft des Kephalin, mit den verschiedensten Salzen in (physikalische) Reaktion zu treten, erklärt auch, worauf einleitend hingewiesen, zum Teil die Schwierigkeit der Reindarstellung, indem trotz wiederholten Umfällens die Salze immer wieder in die verschiedenen Lösungsmittel mitgenommen werden. Besonders augenfällig läßt sich dies an folgendem Beispiel demonstrieren: Löst man Kupferchlorid in Alkohol und schüttelt man die alkoholische Lösung des Salzes mit absolutem Petroläther aus, so geht nichts in den Petroläther über, die Petrolätherschicht bleibt völlig farblos; fügt man nun eine ganz geringe Menge Kephalin zu, so färbt sich die Petrolätherschicht grün; das Kephalin hat bei seiner Lösung in Petroläther Kupfersalz in den Petroläther übergeführt. Es war übrigens schon Thudichum bekannt, daß das alkoholgefällte Kephalin zum großen Teil mit Ammonium, Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen und Kupfer verbunden ist, und zwar, wie er annimmt, in Salzform; von unseren drei Präparaten enthielten B und C große Mengen adsorbierter anorganischer Körper, Präparat C offenbar infolge der Art seiner Darstellung durch Salzfällung die größte Menge 17,0%, Präparat B 12%; der im Präparat A (Reinkephalin) gefundene Glührückstand von 8,1% ist ausschließlich durch die zurückbleibende Phosphorsäure erklärbar.

Die Schmelzpunkte der Präparate A und B lagen bei 175 bzw. 185°, bei einer Temperatur um 100° begann eine tiefbraune Färbung aufzutreten; das aschereiche Präparat C schmolz bereits bei 135°. Der Schmelzpunkt des reinsten und aschefreien Präparates ist also 175°.

Das optische Verhalten in bezug auf eine etwaige Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes wurde bei Präparat A und B im großen Landolt-Lippich-Apparat untersucht; 0,11 g des Präparates B in 10 ccm Petroläther gelöst, drehten im 1 dm-Rohr

0,15° nach rechts; das entspricht für diese Konzentration einer spezifischen Drehung von + 13,6°.

0,1 g des Präparates A in Chloroform gelöst zeigten eine geringe, nicht sicher ablesbare Linksdrehung. Inzwischen wurde von Ludwig Dimitz im hiesigen Institut aus diesem Präparate eine optisch-aktive Glycerinphosphorsäure dargestellt deren Bariumsalz rechtsdrehend war, worüber in der nächsten Mitteilung dieser Serie Näheres veröffentlicht werden wird.

Chemische Eigenschaften des Kephalins.

Im folgenden sollen die chemischen Eigenschaften des Kephalins beschrieben werden, und zwar im wesentlichen die des mit Salzsäure und Aceton gereinigten Präparates A, da dieses Präparat (abgesehen von dem Aschegehalt der beiden anderen) durch die einfachen Verhältnisse, in denen Phosphor, Stickstoff und die Methylimidgruppe zueinander stehen, als das reinste charakterisiert ist; ein anderes Kriterium für die Reinheit des Präparates kann wegen der Unmöglichkeit, es zur Krystallisation zu bringen, nicht herangezogen werden.

Das reinste Kephalin besitzt den Charakter einer stark ungesättigten Verbindung; darauf weist die ungemein leicht eintretende Veränderung hin, die es beim Stehen im nicht evakuierten Raum erfährt; es gibt ferner mit Überosmiumsäure sofort Schwarzfärbung, ein sicheres Zeichen für das Vorkommen doppelter Bindungen im Molekül¹⁾, auch die oben beschriebene tiefrotviolette Färbung mit Goldlösungen spricht dafür; die v. Baeyer'sche Reaktion ist gleichfalls stark positiv; die Jodzahl ist für das reinste Präparat A 80, für Präparat B 85, für Präparat C 84, ist also in Berücksichtigung der Größe des Moleküls eine sehr hohe.

Jodzahlbestimmung des Reinkephalins.

1,504 g Präparat A + 50 ccm Jodsublimatlösung werden 18 Stunden stehen gelassen; nach dieser Zeit werden 10 ccm $\frac{2}{10}$ -Thiosulfatlösung zum Rücktitrieren verbraucht. 50 ccm der Kontrollösung verbrauchten 105 ccm $\frac{2}{10}$ -Thiosulfatlösung. Die Differenz beträgt 95 ccm $\frac{2}{10}$ -Jodlösung, daher ist die Jodzahl 80.

Unsere Präparate waren sämtlich frei von den sehr schwer entfernbaren Galactosiden. Diesen Umstand konnten

¹⁾ O. Neubauer und L. Langstein, Versammlung der Naturforscher u. Ärzte, Karlsbad 1903.

wir mittels einer sehr feinen Reaktion erhärten, welche Kurt Linnert nächstens im Rahmen dieser Veröffentlichungen mitteilen wird.

Die Elementaranalyse bot wegen der schweren Verbrennbarkeit der phosphorhaltigen Asche einige Schwierigkeiten; erst nach wiederholten Versuchen konnten bei Verwendung von Bleichromat gut stimmende Werte für C und H erzielt werden. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl und nach Dumas ausgeführt; letztere gaben um ein geringeres höhere Werte; der Berechnung sind die Kjeldahlwerte zugrunde gelegt. Die Phosphorbestimmung wurde nach Woy¹⁾, die Bestimmung von Methyl am Stickstoff nach Herzig und Meyer²⁾ ausgeführt.

Analysenresultate.

Präp. A. Reinkephalin.

0,1821 g Substanz gaben 0,4148 g CO₂, d. i. 62,12% C,
und 0,1607 g H₂O, d. i. 9,83% H,
0,1956 g Substanz gaben 0,4446 g CO₂, d. i. 61,99% C,
und 0,1718 g H₂O, d. i. 9,87% H.

N-Bestimmung nach Kjeldahl:

0,7938 g Substanz gaben 1,316 mg N, d. i. 1,65%,
0,6617 g „ „ 1,120 mg N, d. i. 1,69%.

P-Bestimmung nach Woy:

0,4338 g Substanz gaben 0,0536 g Mg₂P₂O₇, d. i. 3,44% P,
0,5237 g „ „ 0,0649 g „ d. i. 3,45% P.

Bestimmung von Methyl am Stickstoff nach Herzig-

Meyer:

0,3230 g Substanz gaben 0,0929 g JAg, d. i. 0,005927 g Methyl,
d. i. 1,83%,
0,2925 g Substanz gaben 0,0871 g JAg, d. i. 0,005557 g Methyl,
d. i. 1,89%,
Mittel 1,86%.

Wir teilen hier weiterhin die Analysenresultate der Präparate B und C mit, die wir aus den oben angeführten Gründen für nicht ganz rein halten, was auch die angeführten Zahlen erhärten. Nur nach der von uns ausgearbeiteten Methode,

¹⁾ S. Treadwell, Bd. II.

²⁾ Herzig und Meyer, Monatshefte f. Chem. 15, 613.

Reinigung mit Wasser, Salzsäure und Aceton, erhält man absolut reine Präparate.

Analysenresultate Präp. B.

0,1962 g Substanz gaben	0,4273 g CO ₂ , d. i. 59,35% C,
	0,1631 g H ₂ O, d. i. 9,30% H,
0,1985 g Substanz gaben	0,4304 g CO ₂ , d. i. 59,08% C,
	0,1656 g H ₂ O, d. i. 9,33% H,
0,8157 g Substanz gaben	1,498 mg N, d. i. 1,83% N,
0,7126 g „ „	1,288 mg N, d. i. 1,87% N,
0,3871 g „ „	0,0528 g Mg ₂ P ₂ O ₇ , d. i. 3,80% P,
0,4721 g „ „	0,0625 g „ „ d. i. 3,68% P,
0,3823 g „ „	0,2291 g Methyl am Stickstoff, d. i. 3,82%.
0,1945 g „ „	0,1085 g Methyl am Stickstoff, d. i. 3,56%.

Jodzahlbestimmung: 1,0113 g Substanz werden 18^h mit 50 ccm Jodsublimatlösung, von der 50 ccm 105 ccm $\frac{2}{10}$ -Thiosulfatlösung entsprechen, stehen gelassen.

38 ccm wurden zum Rücktitrieren verwendet. Jodzahl = 85.

Asche: 0,7265 g Substanz gaben 0,0882 Asche = 12,1%.

Präp. C, aschereich.

Asche 0,3077 g Substanz gaben	0,0517 g Asche, d. i. 16,8%.
0,7831 g „ „	0,1349 g „ „ d. i. 17,22%.

Jodzahlbestimmung 0,5740 g Substanz werden mit 50 ccm Jodsublimatlösung 18^h stehen gelassen; 50 ccm der Lösung entsprechen 88 ccm $\frac{2}{10}$ -Thiosulfatlösung; 56 ccm $\frac{2}{10}$ -Thiosulfatlösung werden zur Rücktitrierung verbraucht. Jodzahl = 84.

0,2135 g Subst. gaben	0,4082 g CO ₂ , d. i. 52,14% C,
	0,1596 g H ₂ O, d. i. 8,36% H.

Dumas:

0,5661 g Subst. gaben	ein N-Volumen von 9,3 ccm bei 20,5° und 750 B, d. i. 1,34% N,
1,1875 g Subst. gaben	ein N-Volumen von 18,35 ccm bei 16,5° und 740 B, d. i. 1,33% N.

Woy:

0,4106 g Subst. gaben	0,0424 g Mg ₂ P ₂ O ₇ , d. i. 2,875% P,
0,3748 g „ „	0,0407 g „ „ d. i. 3,02% P,
0,5128 g „ „	0,0524 g „ „ d. i. 2,85% P,

Methyl am N:

0,2509 g Subst. gaben 0,1887 g JAg = 4,8% Methyl am N,
 0,2277 g „ „ 0,1319 g „ = 3,96% „ „ „

Zusammenstellung der Analysenresultate des Rein-
kephalins (Präparat A).

Mittel 4,25%.

			Durchschnitt	Berechnet für $C_{47}H_{90}NPO_{13}$	
C	62,12	61,99	62,05	62,18	
H	9,83	9,87	9,85	9,90	
N	1,65	1,69	1,69	1,54	
P	3,44	3,45	3,45	3,41	
O aus der Differenz			22,99	22,93	
CH_3 am N	1,83	1,89	1,86	1,87	
Präparat B ergibt:					
				Auf aschefreie Subst. ber.	Ber. für $C_{41}H_{76}NPO_{13}$
C	59,35	59,08	59,21	60,66	60,73
H	9,30	9,33	9,31	9,33	9,25
N	1,83	1,87	1,85	1,09	1,66
P	3,68	3,80	3,74	3,83	3,67
CH_3 am N	3,82	3,56	3,69		

Phosphorsäurefrei gerechnete Asche 2,9%.

Präparat C ergibt:

		Ber. f. aschefreie Substanz
C	52,14	57,61
H	8,36	9,23
N (Dumas)	1,34	1,47
P	2,92	3,22
	<u>64,76</u>	
CH_3 am N	4,25	

Berechnet man für die drei untersuchten Präparate das Verhältnis, in dem P, N und die am N hängenden Methylgruppen stehen, so findet man bei Präp. B und C ein Verhältnis P:N, welches dem Werte 1 sehr nahe steht; dagegen ist in diesen Präparaten das Verhältnis N: CH_3 von dem Werte 1 weit verschieden; für Präp. B ist das Verhältnis P:N: CH_3 am N = 1:1,1:1,8, für Präp. C wie 1:1,03:2,60, nur bei dem Präp. A kommt dieses Verhältnis dem Werte 1 sehr nahe; P:N: CH_3 am N = 1:1,07:0,98.

Früher hat nur W. Koch einmal die Zahl der Methylgruppen am N bestimmt, aus seiner Analyse läßt sich obiges Verhältnis als 1:1:0,85 berechnen; in Thudichums Präparat müßte der CH_3 -Wert viel größer sein, wenn seine Hydrolysenresultate als richtig anzusehen sind. Das Verhältnis N:P ist von verschiedenen Autoren berücksichtigt worden; es wurde

von Koch wie erwähnt gleich 1:1 gefunden, welchem Wert sich Thudichums Angaben einigermaßen nähern; Falk fand für Nervenkephalin einen ähnlichen, für aus Gehirn gewonnenes Kephalin dagegen einen doppelt so hohen Wert; bei Zülzer ist dieser Wert noch viel höher. Folgende Tabelle stellt die vorliegenden Analysenwerte zusammen.

	Thu- dichum	Koch	Zülzer	Falk		Unser reinstes Präparat
				Nerven	Gehirn	
C	60,0	59,5	60,2	55,75	56,65	62,05
H	9,38	9,8	9,8	9,66	9,21	9,85
N	1,68	1,75	3,8	1,94	2,83	1,69
P	4,27	3,83	2,6	4,42	3,22	3,45
CH ₂		1,72				1,86
P:N:CH ₂	1:0,87	1:1:0,85	1:0,31	1:0,98	1:1,96	1:1,07:0,98

Unser Pröp. A zeigt unter Berücksichtigung der Atombeziehungen die einfachsten Verhältnisse; wir möchten daher seine Eigenschaften als die eines möglichst reinen Kephals im Sinne Thudichums zusammenfassen:

Das Kephalin ist ein amorpher, weißer, an der Luft schnell gelb anfärbender und Wasser anziehender Körper von lipidem Charakter; es zeigt im Gegensatz zu weniger reinen Präparaten keine elektrischen Eigenschaften; gut löslich in Äther, Chloroform, Benzol, Tetrachlorkohlenstoff löst es sich nicht in kaltem Alkohol (wenigstens nicht nach vorausgehender Acetonbehandlung) und gibt mit Wasser recht stabile kolloidale Lösungen, die durch Säuren und viele Salze in bestimmten Konzentrationen ausgefällt, durch Alkalien und gewisse Salze in bestimmten Mengenverhältnissen geklärt werden, die sich also wie Lösungen eines anodischen Kolloids verhalten. Schmelzpunkt 175°. Das Kephalin ist optisch aktiv u. zw. linksdrehend. Chemisch ist es gekennzeichnet durch seine Ungesättigkeit (Verhalten gegen Uberosmiumsäure, v. Bayersche Reaktion, Jodzahl 80) und durch das Verhältnis P:N:CH₂ am N gleich 1. Ob das Kephalin als einheitlicher Körper oder als eine Gruppe von Homologen aufzufassen ist, sollen Hydrolyseversuche eines Präparates ergeben, das mit der geschilderten anscheinend durchaus zweckmäßigen Methode dargestellt wurde.

Diese Untersuchungen haben also ein Verfahren gezeitigt, nach welchem es gelingt, das Kephalin so rein darzustellen, daß es stimmende und berechenbare Analysen gibt, was nach dem bisherigen Verfahren nicht möglich war. Die sehr hohe Jodzahl zeigt, daß das Kephalin eine besonders stark ungesättigte Verbindung ist, so zwar, daß der ungesättigte Komplex, da ja auch ein gesättigter Anteil darin enthalten ist, zwei doppelte Bindungen tragen muß, weil die Jodzahl der Olsäure allein 90 ist; es muß daher von vornherein die Annahme einer isomeren Olsäure von der Hand gewiesen werden. Ebenso ist durch die Methylbestimmung die von Thudichum supponierte Annahme, das Kephalin sei ein nach dem Lecithintypus gebauter Cholinabkömmling, erledigt, da in letzterem Falle 3 Methyle im Molekül hätten gefunden werden müssen, während wir in Übereinstimmung mit W. Koch nur 1 Methyl nachweisen konnten.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

VIII. Mitteilung.

Über die Spaltungsprodukte des Kephalsins.

Von

Ludwig Dimitz.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung, Wien.)

(Eingegangen am 3. August 1909.)

In der vorhergehenden Mitteilung über Lipoide¹⁾ hat E. Neubauer die Darstellung des Kephalsins, seine elementare Zusammensetzung sowie seine physikalischen und chemischen Eigenschaften beschrieben. Es ergab sich demnach als weitere Aufgabe, die Spaltungsprodukte dieses Kephalsins nach der Hydrolyse zu erforschen, um so der Konstitution dieses Hauptphosphatides des Gehirns näher zu kommen.

Spaltungsprodukte des Gehirnkephalsins sind zuerst von Thudichum²⁾ untersucht worden. Er betrachtet das Kephalin als eine nach dem Lecithintypus gebaute Substanz, in welcher an die Stelle der Ölsäure eine sehr ungesättigte Säure tritt, die er Kephalsäure nennt. Als zweite, und zwar gesättigte Säure, fand er die Stearinsäure oder an ihrer Stelle, aber in kleinen Mengen, ein höheres oder niedrigeres Homologon. Ferner fand er Glycerinphosphorsäure und drei verschiedene Basen, wovon er eine als „Neurin“ anspricht.

¹⁾ Diese Zeitschr. 20, 321, 1909.

²⁾ Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere. Tübingen 1901.

Für die Kephalsäure, deren Bariumsals er analysierte, gab Thudichum folgende Formeln an:

$\text{Ba}(\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{O}_2)_2$; $\text{Ba}(\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2)_2$; $\text{Ba}(\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_2)_2$; $\text{Ba}(\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_2)_2$; was eher einer ungesättigten Oxyssäure, als einer Säure der Ölsäurereihe entsprechen würde.

Der Schmelzpunkt der von Thudichum gefundenen Stearinsäure war meist niedriger als 70° . Ein Präparat jedoch, das diesen Schmelzpunkt besaß, hat Thudichum auch analysiert und die Formel mit $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ übereinstimmend gefunden.

Auch Cousin¹⁾, der aus Ochsenhirn gewonnenes Kephalin spaltete, fand mehrere gesättigte Säuren, wovon er eine als Stearinsäure bezeichnet; weiter fand er ungesättigte, flüchtige Fettsäuren, die er aber in die Linolsäurereihe rechnet.

In letzter Zeit ist es Fr. Falk²⁾ gelungen, Kephalsäure, die er durch eine Barythydrolyse aus Kephalin abspaltete, nach Analogie der Oxydation der Ölsäure zur Dioxystearinsäure, mit Kaliumpermanganat zu oxydieren. Somit wären günstige Chancen geboten gewesen, ein für Analysen geeignetes Derivat zu erhalten. Die so gewonnene Substanz hatte einen Schmelzpunkt von 122° . Falk berechnete die Analysenresultate für $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_4$ und $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_4$:

	Gefunden:	Berechnet	
		für $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_4$	für $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_4$
	%	%	%
C	68,46	69,03	68,30
H	12,34	11,59	11,47

Wie wir sehen, stimmen insbesondere die Wasserstoffwerte nicht für die berechnete Formel. Falk verfügt anscheinend nur über die eine publizierte Analyse, und diese ist nur mit 0,0882 g Substanz ausgeführt, was deren Wertung sehr beeinträchtigt. Die Ausbeute war eben leider sehr gering. Mit Recht schreibt daher schon Falk selbst dieser Formel einen nur orientierenden Wert zu.

Die eben beschriebenen Spaltlinge des Kephals stammen teils aus gewiß nicht reinem Kephalin (Thudichum, Falk), wie aus den E. Neubauerschen Untersuchungen unseres Institutes hervorgeht, teils nicht aus Menschenhirn (Cousin).

¹⁾ Journ. d. pharm. et chim. [6] 24, 101, 1906.

²⁾ Fr. Falk, Zur Kenntnis des Kephals. Diese Zeitschr. 16, 187, 1909.

Es war uns daher von Interesse, zu untersuchen, wie das nach den Angaben S. Fränkels und E. Neubauers dargestellte Kephalin aus Menschenhirn sich bei der Hydrolyse verhält.

In der vorliegenden Mitteilung berichten wir über unsere Untersuchungen der Glycerinphosphorsäure und der gesättigten Säuren. Über die Untersuchungen der anderen Spaltlinge wollen wir demnächst weiteres berichten.

Die Hydrolyse des Kephalins.

Schon Thudichum erwähnt in seinem Buche über die chemische Konstitution des Gehirns der Menschen und Tiere, welche große Schwierigkeiten sich der Hydrolyse des Kephalins entgegenstellen. Er verwendete zur Spaltung den Baryt. Cousin leitet seine Hydrolyse mit einer dreistündigen salzsauren Spaltung ein und spaltet anschließend noch längere Zeit mit Baryt. Auch Falk bediente sich des Baryts zur Hydrolyse und scheint dabei mancherlei Schwierigkeiten begegnet zu sein, wie dies auch aus seinen geringen Ausbeuten hervorgeht.

Wir gebrauchten zu unserer Hydrolyse eine ca. 5%ige alkoholische Salzsäurelösung. Maßgebend hierfür waren folgende Gründe:

Die Barythydrolyse gestaltet sich erfahrungsgemäß schwierig. Hauptsächlich wohl darum, weil noch unverändertes Kephalin durch die gebildeten unlöslichen Barytseifen teilweise eingeschlossen wird. Auch wir unternahmen es, einen Vorversuch mit der Barythydrolyse zu machen, doch ohne ein befriedigendes Resultat zu erzielen.

Durch die Barythydrolyse kann eine ganze oder partielle Racemisierung optisch aktiver Substanzen erfolgen.

Endlich wurde im hiesigen Laboratorium wiederholt die Beobachtung gemacht, daß die Hydrolyse von Gehirnlipiden am besten in alkoholischer Salzsäurelösung vor sich geht. Und ein Vorversuch mit Kephalin hat uns diese Erfahrung auch bestätigt.

Dabei wurde folgender Vorgang eingehalten:

Kephalin wurde in Portionen von 25 g in ca. 250 bis 350 ccm einer 5%igen alkoholischen Salzsäurelösung unter Rückflußkühlung mäßig gekocht. Um eine Oxydation durch

den Sauerstoff der Luft zu vermeiden, leiteten wir ständig Kohlensäure durch.

Die Dauer der Hydrolyse schwankte bei unseren Versuchen zwischen 24 und 36 Stunden. Ein Teil des Kephalsins schien ungespalten zu bleiben.

War die Hydrolyse beendet und das Reaktionsprodukt erkaltet, so wurde die tief dunkle, grün fluoreszierende Flüssigkeit mit Petroläther und destilliertem Wasser im Schütteltrichter ausgeschüttelt und auf diese Weise in zwei Anteile geschieden.

Der alkoholische-wässrige Anteil stellte eine kastanienbraune, durchscheinende Flüssigkeit dar. Er wurde noch mehrmals mit Petroläther ausgeschüttelt und erschien dann heller und klarer. Er wurde zuerst auf dem Wasserbade und dann im Vakuum eingeengt. Durch die vorausgehende Einengung auf dem Wasserbade wurde das lästige Übersäumen bei der Vakuumdestillation vermieden. Schließlich blieb eine dunkelbraune sirupöse Masse zurück.

Olige Sohmleren, die sich während des Einengens in geringer Menge an der Oberfläche der Flüssigkeit absonderten, waren noch Reste des petrolätherischen Anteiles der Hydrolyse. Sie wurden mit Petroläther leicht abgetrennt und dem zweiten Anteil der Hydrolyse hinzugefügt.

Am Boden der eingeengten Flüssigkeit sammelte sich ein bald fein, bald derb krystallinischer Niederschlag an. Er wurde abfiltriert und analysiert. Er bestand aus Kalium- und Natriumchlorid, das vielleicht dem Glase entstammte.

Die zurückbleibende sirupöse Masse wurde zum Schluß öfters in Wasser aufgenommen und wieder eingeengt, um die Salzsäure möglichst zu entfernen. Dabei schieden sich in kleinen Mengen kohlige Bodensätze ab, die natürlich abfiltriert wurden.

Der zweite petrolätherische Anteil repräsentierte eine undurchsichtige dunkelbraune, im auffallenden Licht grün fluoreszierende Flüssigkeit. Sie wurde durch Destillation bis zur Sirupdicke eingeengt.

Diese beiden Fraktionen bildeten nun das Ausgangsmaterial zu unseren weiteren Versuchen.

Die Spaltungsprodukte.

Das Kephalin stellt nach Thudichum das Hauptphosphatid des Gehirns dar. Es ist nach E. Neubauer ein sehr ungesättigtes Monoaminomonophosphatid. Die Methyl-am-Stickstoffbestimmung ergibt nur ein Methyl. Schon daraus ist erkenntlich, daß bei der Hydrolyse kein Cholin gefunden werden kann, worauf übrigens auch schon E. Neubauer hingewiesen hat. Und wir wollen gleich an dieser Stelle bemerken, daß wir in keiner Fraktion unserer Hydrolysen Cholin nachweisen konnten. Wenn nun Thudichum trotzdem Cholin als Spaltling seines Kephalin gefunden hat, so ist nur anzunehmen, daß sein zur Hydrolyse verwendetes Kephalin unrein, mit einem lecithinartigen Körper vermennt und kaum mit dem zur Analyse verwendeten gereinigten Präparate identisch war.

Kephalin ist ferner optisch aktiv. Nachdem Ulpiani¹⁾ ein rechts drehendes Ovocithin und Willstätter und Lüdecke²⁾ aus Lecithin eine optisch aktive Glycerinphosphorsäure dargestellt haben, so war es von Interesse, auch die Glycerinphosphorsäure aus Kephalin auf ihre optische Aktivität zu untersuchen.

Willstätter und Lüdecke weisen schon auf die unerquicklichen Eigenschaften der Glycerinphosphorsäure hin, die ihre Untersuchung erschweren, und stellten daher Salze derselben dar. Auch wir verwendeten zu unseren Versuchen ein Salz der Glycerinphosphorsäure.

Rechtsdrehendes glycerinphosphorsaures Barium aus Kephalin.

Darstellung: Der alkoholisch-wässrige Anteil der Hydrolyse wurde nach dem Einengen zum Syrup in wenig Wasser aufgenommen, mit Bleiacetatlösung gefällt und nach dem Absitzen des Niederschlags filtriert. Sodann wurde der Filtrerrückstand mit Wasser angerieben, mit Schwefelwasserstoff gesättigt und durch Einleiten von Kohlensäure aus dem Filtrat der überschüssige Schwefelwasserstoff wieder vertrieben.

¹⁾ Gazz. chim. Ital. 31, II, 47.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37.

Nun wurde neuerlich filtriert, die Flüssigkeit eingengt und mit mehrmals umkrystallisiertem Ätzbaryt gefällt. Aus der Mutterlauge des Barytniederschlags konnte nach Einleiten von Kohlensäure und abermaligem Filtrieren das glycerinphosphorsaure Barium durch Methyl- oder Äthylalkohol gefällt werden.

Um die Substanz jedoch rein zu erhalten, war es nötig, das Salz wiederholt in kaltem Wasser zu lösen und mit Alkohol wieder zu fällen. Vor der Fällung wurde eine etwaige Trübung durch starkes Zentrifugieren niedergeschlagen und die absolut klare Flüssigkeit abdekantiert. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit etwas Alkohol und Äther gewaschen, sodann bei 105° im Thermostaten getrocknet. Wir hielten uns beim Trocknen an die Angaben von Willstätter und Lüdecke, welche Forscher die Trocknung bei 105° empfehlen.

Eigenschaften: Das so erhaltene Bariumsalz der Glycerinphosphorsäure bildete ein weißes, amorphes Pulver, das in kaltem Wasser außerordentlich leicht löslich war und daraus mit Methyl- oder Äthylalkohol gefällt werden konnte; es fiel aus verdünnten Lösungen schleimig, aus konzentrierten in derben weißen Flocken.

Beim Erhitzen bis zu 280° bräunte sich die Substanz etwas, war aber auch bei weiterem Erhitzen bis zu 295° nicht zum Schmelzen zu bringen.

Die Glycerinphosphorsäure aus Kephalin ist außerordentlich resistent, was aus dem Umstande hervorgeht, daß sie der lange dauernden Hydrolyse mit alkoholischer Salzsäure zum großen Teile standhielt. Eine ebenfalls sehr resistente Glycerinphosphorsäure hat K. Linnert im hiesigen Laboratorium aus einem Gehirnlipoid durch salzsaure alkoholische Hydrolyse gewonnen, welche Erfahrung wir uns zunutze machten.

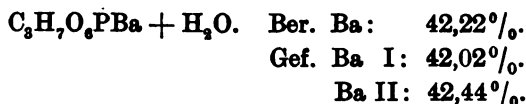
Zu unseren Beobachtungen verwendeten wir zwei verschiedene Präparate.

Präparat I war 6mal aus Wasser und Alkohol umgefällt und gab folgende Werte:

0,2576 Substanz gaben 0,1839 BaSO_4 ; also $\text{Ba} = 42,02\%$.

Präparat II war 3mal umgefällt und stammte aus einer anderen Hydrolyse.

0,4197 Substanz gaben 0,3026 BaSO_4 ; also $\text{Ba} = 42,44\%$.

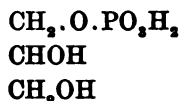


Das Barytsalz wurde in wässriger Lösung im großen Landolt-Lippichschen Apparat auf seine optische Aktivität geprüft:

Präparat	c.	l.	t.	α^1)	α_D :
I.	4,197	1	20°	+ 0,2°	+ 4,76°
II.	1,113	1	20°	+ 0,09°	+ 8,09°
II.	3,515	1	20°	+ 0,11°	+ 3,13°

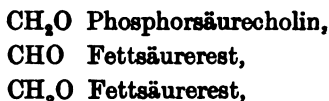
Dabei legen wir auf die Werte der konzentrierten Lösungen das Hauptgewicht. Die Lösungen wiesen nach dem Aufkochen das gleiche optische Verhalten auf, zeigten keine Birotation.

Dem glycerinphosphorsäuren Barium kommt somit folgende Formel zu:

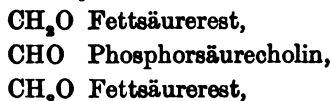


Das asymmetrische Kohlenstoffatom kann nur ein Endkohlenstoff sein.

Lecithin, welches Ulpiani aus Eidotter darstellte, war rechts drehend und ihm schrieb Ulpiani die unsymmetrische Formel zu:



wo das Kohlenstoffatom des Glycerins asymmetrisch ist, obwohl natürlich auch die symmetrische Formel



bei verschiedenen Fettsäureradikalen ein asymmetrisches Kohlenstoffatom aufweist.

Willstätter und Lüdecke fanden nun, daß die Glycerinphosphorsäure aus Lecithin linksdrehend ist, was für die Annahme der asymmetrischen Formel des Lecithins spricht.

Nachdem wir nun auch aus Kephalin eine optisch aktive Glycerinphosphorsäure dargestellt haben, geben wir der asym-

¹⁾ Mittel von ca. 10 Ablesungen.

metrischen Formel für das Kephalin den Vorzug, obwohl natürlich bei verschiedenen Fettsäureradikalen auch die symmetrische Formel des Kephals ein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzt.

Die von Pelouze¹⁾ synthetisch dargestellte Glycerinphosphorsäure ist optisch inaktiv. Das von Willstätter und Lüdecke aus Lecithin dargestellte glycerinphosphorsaure Barium dreht die Polarisationssebene nach links und besitzt einen niedrigeren Drehungswert als das Bariumsalz aus Kephalin. Die Lösungen, deren Konzentration zwischen ca. 20,0 und ca. 45,0 schwankte, ergaben ein spezifisches Drehungsvermögen von $-0,68^\circ$ bis $-1,702^\circ$. Die Drehungswerte differieren von einander recht stark, obwohl sehr hohe Konzentrationen angewendet wurden. Jedenfalls sind aber alle Drehungswerte niedriger als die unseren und ihnen optisch entgegengesetzt. Dabei legen wir auf den hohen Drehungswert unserer verdünntesten Lösung das geringste Gewicht, aber die Drehungswerte der beiden konzentrierteren Lösungen zeigen durchaus höhere Werte als die von Willstätter und Lüdecke ermittelten Werte.

Ein rechtsdrehendes Salz der Glycerinphosphorsäure ist in der Literatur bis jetzt nicht beschrieben.

Wenn das von uns dargestellte Präparat einen höheren Drehungswert aufweist als das von Willstätter u. Lüdecke aus Lecithin dargestellte, so hat das wohl darin seinen Grund, daß wir nicht wie die beiden genannten Autoren mit Baryt spalteten, sondern mit alkoholischer Salzsäure, eben zu dem Zweck, um eine Racemisierung zu vermeiden, wie sie bekanntlich auch bei der Behandlung von Aminosäuren mit Baryt eintritt.

Übrigens weisen Willstätter und Lüdecke auch selbst darauf hin, daß ihre Präparate partiell racemisiert sein könnten. Aus unserem höheren Drehungswert kann man den gleichen Schluß ziehen.

Ein weiterer Unterschied zwischen den aus Kephalin dargestellten Salzen und jenen aus Lecithin von Willstätter und Lüdecke beschriebenen besteht darin, daß erstere ein ganzes Molekül Krystallwasser aufweisen, während letztere nur ein halbes besitzen.

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. [1] 36, 257, 1845.

Das glycerinphosphorsaure Barium aus Kephalin ist demnach verschieden von jenem aus Lecithin:

Es ist entgegengesetzt optisch aktiv, ist mit einem ganzen Molekül Krystallwasser und nicht wie lecithin-glycerinphosphorsaures Baryum mit einem halben Molekül Krystallwasser verbunden.

Die gesättigten Säuren des Kephalins.

Darstellung: Die gesättigten Säuren des Kephalins wurden aus dem petrolätherischen Anteil der Hydrolyse dargestellt. Der erhaltene Sirup wurde zunächst durch nochmaliges Erhitzen auf dem Wasserbade von Petroläther möglichst befreit, sodann mit starker Kalilauge etwas alkalisch gemacht und hierauf mit verdünnter Essigsäure wieder angesäuert. Nun fällten wir mit einer konzentrierten wässrigen Lösung von Bleiacetat nach der Varrentrappmethode. Unter Erhitzen im Wasserbade ballten sich die ausgefallenen braunen Bleisalze zusammen und wurden durch Dekantieren mit heißem Wasser möglichst bleifrei gewaschen und auf ein Filter gebracht. Im fast trockenen Zustand der Seifen lösten wir nun mit Petroläther die ungesättigten Anteile heraus; die gesättigten Säuren blieben ungelöst zurück und wurden nun der Reinigung unterzogen. Zu diesem Behufe wurden sie — anfangs mit Tierkohle — oftmals aus siedendem Benzol umkrystallisiert. Sie fielen beim Erkalten der Lösung als hellbraunes (anfangs dunkelbraunes) amorphes Pulver aus. Dieser Niederschlag wurde nun in absolutem Alkohol so oft gekocht, als dieser sich noch gelb färbte.

Aus diesen alkoholischen Mutterlaugen krystallisierte in geringer Menge ein weißes Bleisalz aus. Unter dem Mikroskop erwies es sich als aus feinsten Nadeln bestehend, die sich zu zarten Rosettchen zusammenfügten. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren beobachteten wir den Schmelzpunkt. Die Substanz begann bei 90° zu sintern und schmolz bei 95°. Bei der Analyse wurden gefunden:

0,2119 gaben 0,4388 CO₂ und 0,1799 H₂O resp. 56,48% C und 9,5% H, ferner 26,04% Pb

Berechnet für C₃₈C₇₄PbO₄:

C 56,92

H 9,3

Pb 25,82

Gefunden:

C 56,48

H 9,5

Pb 26,04

Soweit man auf eine einzige Analyse hin überhaupt etwas aussagen kann, könnte es sich vielleicht um ein höheres Homologes der Stearinsäure handeln.

Die Hauptmenge des Bleisalzes aber wurde nochmals aus heißem Benzol umkrystallisiert, bis der Niederschlag ganz hellbraun wurde. Auf dem Filter wurde noch mit kaltem absolutem Alkohol nachgewaschen und der Niederschlag sodann im absoluten Vakuum über Paraffin und Schwefelsäure getrocknet.

Die Schmelzpunktbestimmung ergab: Die Substanz begann bei 85° zu sintern und schmolz bei 90° .

Die Analysen gaben folgende Resultate:

Die Substanz war im abs. Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

Bleibestimmung durch Abrauchen mit Schwefelsäure:

0,1471 g gaben 0,0609 g PbSO_4 ,
0,1691 g „ 0,0703 g PbSO_4 .

0,2116 g gaben 0,4189 g CO_2 und 0,1711 g H_2O ,
0,1766 g „ 0,3485 g CO_2 und 0,1431 g H_2O .

Die Zusammenstellung der Analysenresultate ergibt in Prozenten:

	Gefunden:	Durchschnitt:	Berechnet für		
			$\text{C}_{32}\text{H}_{60}\text{O}_4\text{Pb}$	$\text{C}_{36}\text{H}_{70}\text{O}_4\text{Pb}$	
C	53,99	53,81	53,9	53,53	55,86
H	9,04	9,06	9,05	8,71	9,11
Pb	28,28	28,39	28,34	28,85	26,75

Man sieht, die Durchschnittswerte der Analyse liegen zwischen den berechneten Werten der Palmitin- und Stearinsäure und nähern sich außerordentlich den Werten für Palmitinsäure. Es handelt sich also um ein Gemisch beider Salze, in dem in hervorragender Weise Palmitinsäure, in geringer Menge Stearinsäure vorkommt.

Auffällig ist nur, daß die Schmelzpunkte von palmitinsäurem resp. stearinsäurem Blei höher liegen als die von uns gefundenen. Borck gibt für palmitinsäures Blei $F = 112^{\circ}$ an, Heintz findet für stearinsäures Blei $F = 125^{\circ}$.

Wir isolierten nun durch Erwärmen der Bleiverbindungen in verdünnter Salpetersäure die beiden Säuren. Durch fraktioniertes Auseinanderkrystallisieren mit Essigäther erhielten wir zwei verschiedene Substanzen.

Eine Substanz begann bei 60° zu sintern und schmolz bei 63°: entspricht also der Palmitinsäure. Die zweite Substanz begann bei 67° zu sintern, schmolz vor 72°, was dem Schmelzpunkt der Stearinsäure entspricht.

Im Menschenhirne prävaliert das Palmitylkephalin sehr stark, während das Stearylkephalin in kleineren Mengen vorzukommen scheint.

Durch den Befund zweier homologer Säuren der gesättigten Fettsäurereihe sehen wir uns veranlaßt, das Kephalin, welches wir bearbeiteten, als das Gemenge zweier homologer Kephaline anzusprechen, die als Palmitylkephalin und als Stearylkephalin anzusehen sind. Ähnliche Beobachtungen haben für das Lecithin zahlreiche Forscher gemacht.

Resumé.

1. Das Kephalin aus Menschenhirn ist ein stark ungesättigtes Monoaminomonophosphatid.
 2. Es enthält entgegen den Angaben von Thudichum kein Cholin im Molekül, in Übereinstimmung mit den aus der Methylimidbestimmung an Kephalin von W. Koch und E. Neubauer gezogenen Schlußfolgerungen.
 3. Das Kephalin stellt sich als eine Mischung zweier homologer Kephaline, des Palmityl- und Stearyl-Kephalins dar, in dem das Palmitylkephalin prävaliert.
 4. Die im Kephalin enthaltene Glycerinphosphorsäure ist die Ursache der optischen Aktivität des Kephalins analog wie beim Lecithin. Sie ist aber nicht identisch mit der Lecithin-Glycerinphosphorsäure, sondern eine neue, ihr entgegengesetzt optisch aktive Substanz, welche mit einem Molekül Krystallwasser, und nicht mit einem halben wie jene, verbunden ist.
-

Zur biologischen Bedeutung des Lecithins.

III. Mitteilung.

Über den Lecithin- und Eisengehalt in der Kuh- und Frauenmilch.

Von

W. Glikin.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landw. Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. August 1909.)

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Zuntz habe ich Milch auf deren Lecithingehalt untersucht, um festzustellen, ob im Milchserum Lecithin vorhanden ist, wie Hammarsten in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie angibt.

Wenn das Serum Lecithin enthält, so müßte die Milch nach dem Entrahmen noch einen bedeutenden Lecithingehalt aufweisen; dies ist aber nicht der Fall, wie aus meinen Untersuchungen mit Klarheit hervorgeht.

Ich habe 250 ccm Vollmilch in 6 Gläschen verteilt, mittels der Zentrifuge entrahmt, den Rahm sorgfältig von der Magermilch getrennt, mit gut ausgewaschenem, geglühtem Seesand verrieben und auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme unter öfterem Umrühren eingedampft. Die Masse wurde dann auf 1 bis 2 Stunden in den Trockenschrank gestellt, dann im Mörser fein zerrieben, in eine Patrone gebracht und im Soxhletapparat zuerst mit absolutem Alkohol 4 bis 5 Stunden extrahiert und hierauf mit Chloroform erschöpft. Die Alkohol- und Chloroformauszüge werden nach dem Verdampfen der Lösungsmittel mit absolutem Äther resp. niedrig siedendem Petroläther auf-

genommen, der Äther verjagt und der Rückstand nach dem Trocknen gewogen. In diesem Extrakt bestimmte ich nun den Phosphorgehalt nach dem Neumannschen Verfahren und berechnete hieraus in bekannter Weise den Lecithingehalt durch Multiplikation mit 11,366.

In derselben Weise bestimmte ich den Lecithingehalt in einer anderen Probe von derselben Milch, um einen Vergleich anstellen zu können.

500 ccm Vollmilch gaben 14,9250 g = 2,985% Fett.

5,97 g von diesem Fett = 200 ccm Milch gaben 8,91 mg P_2O_5 = 0,05158% Lecithin.

Im Rahme von 250 ccm Vollmilch fand ich 6,8120 g = 2,7248% Fett mit einem Gehalt von 11 mg P_2O_5 = 0,05004% Lecithin.

Die Differenz ist somit zwischen dem	
Fett der Vollmilch 2,985%	Lecithin der Vollmilch 0,05158%
„ des Rahmes 2,7248%	„ des Rahmes 0,05004%
0,2602%	0,00154%

Bei der Annahme, daß das Lecithin parallel mit dem Fett in den Rahm übergeht, müßte in den restierenden 0,2602 g Fett noch 0,00448 g Lecithin enthalten sein, nach folgender Proportion berechnet:

$$2,9850 : 0,2602 = 100 : x.$$

$x = 8,7$ (die der Menge Fett entsprechende Zahl Kubikzentimeter Milch).

$$\frac{0,05158 \times 8,7}{100} = 0,00448\% \text{ Lecithin.}$$

Der von mir gefundene Wert 0,00154 zeigt aber, daß innerhalb der Fehlergrenzen kein Lecithin zurückbleibt.

Eine andere Milchprobe wurde im Separator zuerst bei gewöhnlicher Temperatur entrahmt, die so erhaltene Magermilch auf 35 bis 40° erwärmt und wiederum zentrifugiert, wodurch eine Magermilch mit nur 0,0885% Fett resultierte (200 ccm entrahmte Milch gaben 0,1770 g Fett). Diese Magermilch enthielt nur noch minimale Spuren von Phosphor resp. Lecithin, auf dessen Bestimmung ich verzichten mußte, um keine groben, der äußerst geringen Menge wegen unvermeidlichen Versuchs-

fehler zu begehen. Nach obiger Gleichung berechnet, würde diese Magermilch $0,001495\%$ Lecithin $= 0,0001316\%$ P_2O_5 enthalten bei einem Gesamt-Lecithingehalt von $0,1173\%$. Diese verschwindend geringen Werte sprechen mit Klarheit dafür, daß bei vollständigem Entfetten der Milch mittels der Zentrifuge Lecithin in der Magermilch nicht mehr nachweisbar sein würde und daß folglich das Milchserum kein Lecithin enthalten kann.

In auffallendem Widerspruch zu meinen Werten steht der Befund von Bordas und Raczkowski¹⁾, nach denen eine auf 98% abgerahmte Milch noch 31% des Gesamtlecithingehaltes enthalten soll. Ich fand, daß beim Abrahmen auf $87,16\%$ in der Magermilch nur noch $2,98\%$ des Gesamtgehaltes an Lecithin zurückbleiben. Die Differenz ist enorm groß und ist mir unerklärlich.

Da das gesamte Lecithin der Milch beim Zentrifugieren mit Leichtigkeit in den Rahm übergeht, könnte man annehmen, daß es beim Extrahieren der Milch mit Äther von diesem quantitativ aufgenommen wird. Um dies festzustellen, extrahierte ich eine Probe Milch mit Alkoholchloroform und eine andere Probe von derselben Milch mit Äther und fand folgende Werte:

Bei der Behandlung mit Alkoholchloroform	$0,1173\%$	Lecithin,
„ „ „ „ Äther	$0,1112\%$	„

Eine Probe Frauenmilch (250 ccm) mit einem Gesamtlecithingehalt von $0,13294\%$ gab nach dem Extrahieren mit Äther noch $0,00513\%$ Lecithin resp. $0,0004516\%$ P_2O_5 .

Diese geringen Differenzen könnte man unter Umständen vernachlässigen, bei genauen Bestimmungen aber müssen sie berücksichtigt werden.

In folgender Tabelle bringe ich eine Zusammenstellung meiner Befunde im Vergleich mit den von anderen Autoren erhaltenen Werten.

¹⁾ Compt. rend. de l'Acad. des sciences 135, 354.

	Lecithin %	Autor
Kuhmilch	0,09—0,113	Stoklasa ¹⁾
„	0,049—0,058	Burow ²⁾
„ Lecithin + Kephalin	0,072—0,086	Woods ³⁾
„	0,0364—0,1163	Nerking u. Haensel ⁴⁾
„ Mischmilch	0,05158	} Glikin
„ Mischmilch	0,1173	
„ sterilis. Mischmilch	0,0608	
Frauenmilch	0,170—0,186	Stoklasa
„ Lecith. + Keph.	0,078	Woods
„	0,057—0,060	Burow
„	0,024—0,0799	Nerking
„ Mischmilch von 8 Ammen	0,13294	Glikin

Aus dieser Zusammenstellung ersehen wir, daß die einzelnen Werte zu sehr untereinander differieren und ein Vergleich nicht gut möglich ist. Nehmen wir dagegen das Mittel dieser Werte, so erhalten wir folgendes Bild:

Kuhmilch:	Frauenmilch:
Burow 0,0535%	Nerking 0,0499%
Nerking 0,0629 „	Burow 0,0590 „
Glikin 0,0765 „	Woods 0,0780 „
Woods 0,0797 „	Glikin 0,1329 „
Stoklasa 0,1015 „	Stoklasa 0,1780 „

Wir sehen, daß die von mir erhaltenen Werte den höchsten, den Stoklasaschen, am nächsten stehen (bei der Kuhmilch ist der Woodssche Wert meinem gleich). Nun sind aber die Stoklasaschen Werte nicht absolut einwandfrei, da der von ihm angewandten Methode ein Fehler anhaftete, nämlich der, daß er den Extrakt nach dem Verdunsten des Alkohols nicht in Äther löste, wodurch selbstverständlich auch anorganische Phosphorverbindungen mitbestimmt werden. Dies fand auch Burow bei seinen Untersuchungen.

Schloßmanns⁵⁾ Ansicht, daß in der Milch kein Lecithin vorhanden ist, daß das in der Milch als Lecithin vorgefundene Produkt nichts anderes darstellen kann, als ein in die Äther-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 343, 1897.

²⁾ Ibidem 30, 495, 1900.

³⁾ Journ. of Biolog. Chem. 1, 203, 1905.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 13, 348, 1908.

⁵⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 327.

lösung übergegangenes phosphorhaltiges Zersetzungsprodukt des Caseins, ist nicht stichhaltig, wenn wir die Frage auch von seinem Standpunkte aus beurteilen. Bevor ich zur Diskussion dieser Frage übergehe, möchte ich zuerst feststellen, was man unter „ätherlöslichen, phosphorhaltigen Verbindungen“ verstehen muß. Gewöhnlich bezeichnet man dadurch die Lecithine resp. Phosphatide, die in den pflanzlichen und tierischen Geweben, Flüssigkeiten usw. frei oder in fester sowie lockerer Verbindung mit verschiedenen Eiweißkörpern usw. vorkommen — andere ätherlösliche, phosphorhaltige Produkte sind in der physiologischen Chemie unbekannt. Unter quantitativer Bestimmung des Lecithins resp. der Phosphatide versteht man deren Isolierung mittels eines organischen Lösungsmittels, wie Äther, Alkohol usw., mögen sie in der Substanz frei oder an irgend einen anderen Körper gebunden sein.

Wenn wir mit Schloßmann annehmen wollten, daß das Lecithin ein Zersetzungsprodukt des Caseins ist, wie könnten wir dann die Tatsache erklären, daß man beim Entrahmen der Milch fast die ganze Lecithinmenge in dem Rahm findet und daß die Magermilch kein Lecithin mehr enthält? Beim Extrahieren der Milch mit Äther habe ich fast die ganze Menge Lecithin isoliert. Nach Schloßmann müßte hier ein Zersetzungsprozeß vor sich gehen, was bei einer so niedrigen Temperatur (etwa 35° C) und einem so indifferenten Mittel, wie Äther, undenkbar erscheint.

Ich kann mich nicht der Ansicht Kochs anschließen, daß das Lecithin der Beobachtung Schloßmanns deshalb entgehen konnte, weil er die Milch mit Äther ausschüttelte. Ich gebe ohne weiteres zu, daß man das Lecithin auf solche Weise nicht quantitativ bestimmen kann, aber qualitativ muß es doch immerhin nachweisbar sein.

Da das Lecithin im Knochenmark in engem Zusammenhange mit dem Eisengehalt steht, schien es mir von Interesse, festzustellen, ob diese Beziehung auch in der Milch besteht und in welcher Form das Eisen in der Milch vorkommt, d. h. ob es ausschließlich in organischer oder anorganischer Bindung, oder in beiden Formen zugleich vorkommt.

Zu diesem Zweck habe ich in den von mir auf den Lecithingehalt untersuchten Milchproben Eisenbestimmungen nach dem Neumannschen Verfahren ausgeführt und gelangte zu folgenden Resultaten:

	Gesamt- eisen- gehalt Fe ₂ O ₃ %	Lipoid- eisen Fe ₂ O ₃ %	Lipoid- phosphor P ₂ O ₅ %	Lipoid- eisen berechnet Fe ₂ O ₃ %	Lecithin . %
Kuhmilch I . . .	0,00680	—	0,00454	0,00170	0,05158
„ II . . .	0,00984	0,0059	0,01032	0,00387	0,1173
„ III . . .	0,00690	0,0022	0,00535	0,00201	0,0608
„ IV . . .	0,00893	—	—	—	—
Frauenmilch . . .	0,00711	0,0035	0,011696	0,00439	0,13294

Nun sehen wir aus dieser Tabelle, daß der Gesamteisen-gehalt der Kuhmilch im Durchschnitt 0,00812% und in der Frauenmilch 0,00711% ausmacht. Von der Gesamteisenmenge entfällt bei der Kuhmilch wie auch bei der Frauenmilch etwa die Hälfte auf das Lipoideisen, d. h. auf das in dem Lecithin resp. den Lipoiden enthaltene Eisen. Wir sehen ferner, daß zwischen dem Lecithin- und dem Eisengehalt ein Zusammenhang besteht, und zwar bestätigt sich auch hier wie beim Knochenmark, daß einem höheren Lecithingehalt auch ein höherer Eisengehalt entspricht. Auch hier stimmt die gefundene mit der berechneten Menge Eisen nahezu überein. Die Berechnung geschieht nach folgender Relation:

$$2 \text{Fe}_2\text{O}_3 : 3 \text{P}_2\text{O}_5 = 80 : 213 = x : \text{gef. P}_2\text{O}_5.$$

Der von mir gefundene Eisenwert ist bei weitem höher als der von Bunge¹⁾ und Abderhalden²⁾ angegebene: 0,0004 bis 0,0008% für Frauenmilch und 0,002% für Kuhmilch. Die Differenz ist sehr groß, und es ist schwer zu entscheiden, wo eigentlich deren Ursache liegen mag: sie kann ebensogut von der individuellen Beschaffenheit der Milch wie von der Methodik der Eisenbestimmung abhängig gemacht werden. Betrachten wir jedoch die Werte von Bunge und Abderhalden und berücksichtigen den Eisengehalt des Lecithins, so gelangen wir zu der Überzeugung, daß diese Werte zu niedrig sein müssen,

¹⁾ Bunge, Zeitschr. f. Biol. 10, 295, 1874.

²⁾ Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. S. 395.

wie aus folgender Überlegung ersichtlich ist. Nehmen wir das Mittel sämtlicher in der Tabelle I angeführten Lecithinwerte für Kuhmilch, etwa 0,0652% resp. 0,005735% P_2O_5 (Bunge und Abderhalden haben bei ihren Untersuchungen das Lecithin nicht bestimmt) und berechnen daraus nach obiger Gleichung den Lecithin-Eisengehalt, so erhalten wir 0,00215% Fe_2O_3 , was dem Bunge-Abderhaldenschen Gesamteisengehalt entspricht.

Vom biologischen sowie sozialwirtschaftlichen Standpunkte aus betrachtet, werfen die Ergebnisse dieser Untersuchungen einiges Licht auf die Nachteile, die durch den Gebrauch abgerahmter Milch hervorgerufen werden. Die Milch gehört zwar infolge ihres hohen Eiweißgehaltes zu den vorzüglichen Ernährungsmitteln, man muß aber auch das in Erwägung ziehen, daß die Milch bei dem Abrahmen nicht nur des Fettes, sondern einer für den Organismus so wichtigen Verbindung wie des Lecithins, und mit diesem auch der Hälfte des Gesamteisengehaltes beraubt wird.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

XIV. Mitteilung.

Untersuchungen über den Einfluß von Eiweiß und Eiweiß- abbauprodukten auf die Tätigkeit der Leber.

Von

Dimitri Pletnew.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 5. August 1909.)

I.

Die Funktionen der Leber sind mannigfaltig. Ohne sie hier ausführlich wiederzugeben, sei nur hingewiesen auf die mechanische Rolle, die die Leber im venösen Kreislaufe spielt, die hämatopoetische — jedenfalls in der embryonalen Periode, die antitoxische sowohl für exo-, wie auch besonders endogene Gifte usw.

Von besonderem physiologischem Interesse ist aber die Beziehung der Leber zu den drei Hauptgruppen unserer Nahrung.

Während die Beziehung der Leber zum Kohlenhydratstoffwechsel feststeht — die Experimente von F. de Philippi¹⁾, der bei Hunden mit Eckscher Fistel keine großen Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel fand, sind, wie er selber sehr richtig betont hat, keine Widerlegung der seit langem gesicherten Tatsachen —, während der Anteil der Leber am normalen Fettstoffwechsel zum mindesten sehr wahrscheinlich ist [Lebedeff²⁾, Rosenfeld³⁾], sind die Beziehungen der Leber zum

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. 49 u. 50.

²⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 31.

³⁾ Verhandl. d. 19. Kongr. f. inn. Med. 1901.

Eiweißstoffwechsel viel strittiger. Indem B. Slowtzow¹⁾ bei Versuchen mit weißen Mäusen zu dem Resultat kommt, daß die Leber ein Stapelplatz für Eiweiß ist, und Seitz²⁾ seine Arbeit, die an Hühnern vorgenommen war, mit den Worten: „Die Leber verdient demgemäß voll die ihr von Pflüger gegebene Bezeichnung, auch eine Vorratskammer für Eiweiß zu sein“ schließt und zum Beweis außer seinen Versuchen sich noch auf Ergebnisse von E. Külz³⁾ stützt — „E. Külz ist selbst auf die in seinen Zahlen steckende Wahrheit nicht aufmerksam geworden“ (S. 321), ist in der letzten Zeit die Arbeit von E. Abderhalden und London⁴⁾ erschienen, in der die Verfasser der Leber einen viel geringeren Anteil bei der Assimilation des Eiweißes als die zuvor genannten Forscher zuschreiben. Sie konnten nämlich bei einem Hund mit Eckscher Fistel das Nahrungseiweiß ebenso wie bei einem normalen Hund durch vollständig abgebautes Eiweiß ersetzen. Auf Grund dieser Versuche drückt sich Abderhalden in seinem Lehrbuche der physiol. Chem. folgendermaßen aus: „Die Leber spielt somit bei der Umwandlung der Nahrungseiweißstoffe in körpereigene eine zum mindesten nicht unersetzbare Rolle.“

Demgegenüber stehen in gewissem Sinne außer den oben angeführten neueren Autoren (die älteren Autoren berücksichtige ich an dieser Stelle der Kürze wegen nicht) die von L. Asher und seinen Schülern K. Kusmine⁵⁾ und Boehm⁶⁾, von einem anderen Gesichtspunkte ausgehenden Arbeiten. Kusmine hat nämlich gezeigt, daß die sog. Lymphagoga (Heidenhain), oder nach Asher als Lebergifte (darunter Pepton) bezeichnete Substanzen bei intravenöser Einführung typische histologische Veränderungen in den Leberzellen hervorrufen, resp. zu den Leberzellen in Beziehung treten und deren Funktion beeinflussen können.

Boehm hat ebenfalls das histologische Bild der Leber untersucht, indem er die Tiere einerseits hungern ließ, andererseits sie mit Fett, Eiweiß und dessen Abbauprodukten fütterte. Er konnte dabei feststellen, und es ist auch sehr gut an den von ihm vorgeführten Bildern zu sehen, „daß die verschiedenen Ernährungszustände sich im feineren Aussehen der Leberzelle mehr oder weniger ausdrücken. Bei gleicher Fixierung, gleicher Färbung und im übrigen auch sonst ganz gleicher Behandlung der Präparate zeigen sich überraschend große Unterschiede im Aussehen der Leberzellen“.

Solchen morphologischen Veränderungen müssen auch gewisse physiologisch-chemische Ergebnisse korrespondieren, oder anders gesagt, wenn in den Zellen eines für das Leben so wichtigen Organs, wie es die Leber ist, bei rein physiologischen Eingriffen bestimmte morphologische Ver-

1) Russ. Arch. f. Pathol., klin. Med. u. Bakt. 1898.

2) Pflügers Archiv 111, 1906.

3) Beiträge zur Kenntnis des Glykogens. 1881,

4) Zeitschr. f. Chem. 54, 1907.

5) Zeitschr. f. Biol. 46.

6) Zeitschr. f. Biol. 51.

änderungen eintreten, müssen denselben auch gewisse Veränderungen in den Vorgängen entsprechen, welche den Funktionen des Organs zugrunde liegen.

Ich bin daher dem Vorschlage von Prof. Asher gefolgt und habe die von Boehm gefundenen histophysiologischen Tatsachen einer biochemischen Experimentaluntersuchung unterzogen.

Der Gang meiner Untersuchung war von dem biologisch zum mindesten wahrscheinlichsten Gesichtspunkt geleitet, daß die Leber bei der Verarbeitung von Eiweiß, demgemäß auch von Eiweißabbauprodukten, in Funktion tritt.

Der Zusammenhang dieses Gesichtspunktes mit den neueren Fragen der Eiweißverdauung und Assimilation ist schon in der Arbeit von Boehm skizziert worden. Um nun experimentell auf der Grundlage dieses Gesichtspunktes weiter zu arbeiten, wurde die „Aktivitätsmethode“ [L. Asher¹⁾] sinngemäß in folgender Weise angewandt.

Durch die Untersuchungen von Hofmeister²⁾ sind wir über die Assimilationsgrenze des per os aufgenommenen Traubenzuckers bei Hunden unterrichtet.

Unter der Voraussetzung, daß man die Verarbeitung des Zuckers durch die Organe, insbesondere durch die Muskeln konstant halten kann, wird die Assimilationsgrenze des Zuckers wesentlich abhängen von der Fähigkeit der Leber Zucker zu Glykogen zu verarbeiten, beziehentlich auch von ihrer Fähigkeit ihr Glykogen festzuhalten. Wird nun auf eine Standardkost nebst der Zuckermenge, welche gerade die Assimilationsgrenze erreicht, eine Substanz superponiert, von welcher angenommen wird, daß sie gleichfalls die Aktivität der Leberzelle in Mitleidenschaft zieht, so kann die gemachte Annahme dadurch geprüft werden, daß man zusieht, ob die wohlbekannte Fähigkeit der Leber den dargebotenen Traubenzucker zu verarbeiten, alteriert wird.

II.

Die Versuchsanordnung war dabei folgende. Es dienten zu den Versuchen kleine Hunde. Die Tiere wurden nicht frei

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. 45, 1903.

²⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 25, 1889.

herumgelassen, damit stärkere Körperbewegungen die Größe des Zucker- resp. Glykogen-Verbrauchs nicht beeinflussten.

Es wurde zuerst bei Zuckerzufuhr und bei Anwendung derselben Nahrung (Fleisch, Fett), wie sie bei verschiedenen Untersuchungsanordnungen benutzt wurde, die Assimilationsgrenze für Traubenzucker bestimmt. Nach der Bestimmung dieser Assimilationsgrenze wurde die Veränderung derselben bei Fütterung der Tiere mit verschiedenen Peptonpräparaten, Aminosäuren (Leucin, Alanin) und bei übermäßiger Fleischkost wieder ermittelt.

Die Fütterung der Tiere geschah in der Art, daß dieselben den Zucker in Fleischbrühe gelöst erhielten, und nachdem sie die Flüssigkeit gegessen hatten, bekamen sie sogleich ihre Fleisch- und Specknahrung. In Fällen, wo Pepton verfüttert wurde, wurde ein Teil davon in der Fleischbrühe mit Zucker gelöst, der andere Teil fein mit gehacktem Fleisch und Speck gemischt und nach Ausbraten den Tieren gereicht. Leucin und Alanin wurden gelöst und mit der Sonde direkt in den Magen eingeführt, da die Tiere bei Beimischung der Aminosäuren die Nahrung sehr ungerne nahmen und sie nur teilweise von Zeit zu Zeit fraßen. Die Sonde wurde angewandt, weil bei unregelmäßiger Aufnahme der Nahrung jeder Maßstab für eine richtige Beurteilung des Versuchs verloren ging. Der zu den Untersuchungszwecken gebrauchte Zucker war Traubenzucker purissimum wasserfrei von E. Merck in Darmstadt. Der Traubenzucker wurde von mir auf seinen Wassergehalt nachgeprüft und dabei ergab sich, daß derselbe tatsächlich wasserfrei war. Der Traubenzucker wie die übrigen Präparate wurden im Exsiccator aufbewahrt. Die für unsere Zwecke nötigen Präparate waren alle von E. Merck bezogen; ein großer Teil der von mir benutzten Präparate war von der Firma Merck mir mit bereitwilligstem Entgegenkommen überlassen worden, wofür ich auch hier meinen verbindlichen Dank ausspreche.

Zur Fütterung wurde immer Pferdefleisch gebraucht. Da der wechselnde Glykogengehalt des Fleisches immer bei Berechnung des ausgeschiedenen Zuckers gegenüber dem eingenommenen als Fehlerquelle erscheinen kann, so wurde das Fleisch zur Verminderung dieser Fehlerquelle immer in einem Stück genommen, so daß in jeder einzelnen Versuchsreihe die Fütterung mit ein und demselben Fleische geschah.

Zum Nachweis des Gallenfarbstoffes wurde die Gmelinsche Reaktion benutzt.

Zum Nachweis des Zuckers dienten die von Trommer, Böttger und Worm-Müller angegebenen Methoden. Trommer und Böttger wurden nur nebenher benutzt, in jedem Falle aber bediente ich mich der Worm-Müllerschen Methode, unter genauer Einhaltung aller Maßregeln, welche Neubauer und

Vogel in ihrer Analyse des Harnes angeben. Ich habe damit einen Zuckergehalt bis 0,02% mit Sicherheit feststellen können.

Zur quantitativen Zuckerbestimmung benutzte ich die von Ivar Bang¹⁾ empfohlene Kupferreduktionsmethode.

Die Methode ist bequem, einfach, es muß aber sogleich bemerkt werden, daß alle von I. Bang angegebenen Vorschriften sowohl in der Darstellung der Lösungen, wie beim Ausführen der Analyse selbst peinlich, ich möchte sagen direkt sklavisch befolgt werden müssen. Nur unter solchen Bedingungen kommt man zu demselben Schluß, zu dem Jensen-Hansen²⁾ bei der Nachprüfung der Methode gekommen ist, daß „die Methode viel bequemer als irgendeine andere mir bekannte ist“. Jensen-Hansen betont aber auch dabei die Notwendigkeit der peinlichsten Befolgung aller von Bang gegebenen Vorschriften. Für solche, welche die Bangsche Methode benutzen wollen, bemerke ich, daß besondere Mühe die Herstellung des richtigen Titors der Kupferlösung macht. Ich kam dabei am besten zum Ziele, daß ich die Mischung der Kupferlösung und der das Rhodankalium usw. enthaltenden Lösung unter Eiskühlung vornahm und dabei ganz allmählich die Kupferlösung durch ein langes Trichterrohr zusetzte und sofort bei jeder einzelnen Portion umschwenkte.

Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Bei Berechnung des Stickstoffes der Nahrung wurde derselbe nach den Königschen Tabellen ausgerechnet, während der Stickstoff der Peptonpräparate von mir bestimmt wurde. Der Stickstoffgehalt der von Merck gelieferten Aminosäuren wurde berechnet.

Es wurde bei den Tieren der Stickstoff nur im Harn bestimmt. Der im Kot erscheinende wurde nicht untersucht, da für meine Zwecke nur derjenige in Betracht kam, welcher nachweislich die Leber passiert hatte.

III.

1. Versuchsreihe, zugleich Vorperiode für eigentliche Versuche.

Aus den Untersuchungen der Vorversuchsperiode läßt sich feststellen, daß bei sonst gesunden Tieren die Assimilationsgrenze für Traubenzucker sich bei ca. 20,2 g (Hund A) und 15,3 g (Hund B) findet. Die Glykosurie in beiden Fällen ist vorübergehend, da schon am anderen Tage mit den oben-

¹⁾ Diese Zeitschr. 2, 271, 1907.

²⁾ Diese Zeitschr. 10, 249, 1908.

Hund A, 3,7 kg schwer.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in ccm aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker		
22.VI.09	Gewöhnliche Hundenahr.					E. ¹⁾ —	—		
23.						Gf. ²⁾ —	—		
24.	Fleisch 125 g Speck 20 g	4,35	15,48	a) 120 b) 135	E. — Gf. —	3,2536	+	-1,0964	
25.	Id.	4,35	20,2	a) 140 b) 120	E. — Gf. —				
26.	Id.	4,35	—		E. — Gf. —		—		
27.	Fleisch 125 g Speck 20 g Witte-Pepton 40 g	9,35	20,2	a) 160 b) 95	E. — Gf. +	9,708	++	- 0,358	
28.	Fleisch 125 g Speck 20 g	4,35	—	a) 140 b) 85	E. — Gf. +		+		
29.	Id.			a) 110 b) 85	E. — Gf. —		—		
30.	Id.		—		E. — Gf. —		—		

1) E. = Eiweiß.

2) Gf. = Gallenfarbstoff.

Hund B, 2,6 kg schwer.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in ccm aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker		
22.VI.09	Gewöhnliche Hundenahr.					E. ¹⁾ —	—		
23.						Gf. ²⁾ —	—		
24.	Fleisch 125 g Speck 20 g	4,35	13,25		E. — Gf. —	3,168	+	+1,185	
25.	Id.	4,35	15,3	a) 75 b) 120	E. — Gf. —				
26.	Id.		—		—		—		
27.	Id. + Wittepepton 40 g		15,3	a) 95 b) 100	E. — Gf. ++		++		
28.	Fleisch 125 g Speck 20 g		—		E. — Gf. +		+		
29.	Id.		—		E. — Gf. +		—		
30.	Id.		—		E. — Gf. —		—		

1) E. = Eiweiß.

2) Gf. = Gallenfarbstoff.

erwähnten Methoden im Harn kein Zucker nachweisbar ist. Diese Zuckermenge ruft auch keine schädlichen Wirkungen hervor, wofür wie das Allgemeinbefinden, so auch der negative Befund von Eiweiß und Gallenfarbstoff im Harn sprechen. Bei Zusatz von 40 g Witte-Pepton zu derselben Nahrungskost und derselben Menge zugeführten Zuckers erscheint im Harn mehr¹⁾ Zucker (kenntlich an der Stärke der Worm-Müllerschen Reaktion), dazu kommt dann noch das Vorhandensein von Gallenfarbstoff. Die Zucker- und Gallenfarbstoffausscheidung dauert beim Hund A zwei Tage, bei B drei Tage (Gallenfarbstoff), indem allmählich die Stärke der Reaktion abnimmt. Worauf der Unterschied bei A und B beruht, ist schwer zu sagen. Es kann die Ursache in der Größendifferenz beider Tiere liegen, da bei Berechnung der Quantität von Pepton auf 1 kg Gewicht das kleinere Tier davon mehr erhalten hat. Es kann sich aber dabei auch um rein individuelle Schwankungen der Empfindlichkeit handeln. Diese eigenartige individuelle Reaktionsfähigkeit muß in der Biologie viel mehr berücksichtigt werden, als das schon jetzt der Fall ist. Alles nur auf die grobe Gewichts-differenz zu beziehen, wäre deshalb zu einseitig.

Da ich beim Hunde A eine negative N-Bilanz fand, die sich noch vergrößert, wenn man die N-Ausscheidung im Kot mit in Betracht zieht, wurde deswegen für alle nächsten Versuche die Fleischkost vermehrt.

Als Ergebnis dieser Versuchsreihe stellt sich heraus, daß bei Zusatz von Witte-Pepton zu der Standardnahrung mit demselben Zuckergehalt die Zuckerausscheidung sich erstens vergrößert, zweitens sich über eine längere Zeit ausdehnt. Während sonst am dritten Tage kein Zucker nachzuweisen ist, dauert die Zuckerausscheidung beim Peptonversuche zwei Tage und die Quantität des ausgeschiedenen Zuckers wächst sowohl durch die größere Ausscheidung am ersten Tage nach Peptonfütterung wie auch durch die erwähnte Andauer der Zuckerausscheidung nach Aussetzen der Peptonzufuhr. Während sonst der Hund A bei 20,2 Traubenzucker in der Nahrung am anderen Tage

¹⁾ Um in den Fällen, wo keine quantitativen Analysen gemacht waren, doch den klar sichtbaren Unterschied zu bezeichnen, wende ich das Zeichen ++ dort an, wo die Reaktion deutlich auf größeren Gehalt der betreffenden Substanz hinweist,

2. Versuchsreihe.

Hund A.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
1.	Gewöhnliche Hundenahr.				E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —		—		
2.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22		a) 200 b) 130	E. — Gf. —	4,840	—	+0,380	
3.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	20,2	a) 120 b) 130	E. — Gf. —	4,87	0,35375	+0,35	
4.	Fleisch 150 g Speck 15 g Witte-Pepton 40 g	10,22	20,2	a) 148 b) 105	E. — Gf. +	4,74	0,6019	+5,48	Die Brühe m. Zucker und einem Teil von Pepton wurde um 10 Uhr vormittags gefressen, das übrige Pepton mit dem Fleisch um 6 Uhr abends.
5.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	—	a) 240 b) 130	E. — Gf. +	7,5214	0,4185	-2,3014	
6.	Id.	—	—	a) 130 b) 100	E. — Gf. —				

1) E. = Eiweiß.

2) Gf. = Gallenfarbstoff.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
1.	Gewöhnliche Hundenahr.				E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —		—		
2.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	—	a) 180 b) 70	E. — Gf. —	4,1476	—	+1,0724	
3.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	15,3	a) 190 b) 60	E. — Gf. —	3,9948	0,2970	+1,2252	
4.	Fleisch 150 g Speck 15 g Witte-Pepton 40 g	10,22	15,3	a) 155 b) 175	E. — Gf. +	5,736	0,50985	+4,484	Die Brühe m. Zucker und einem Teil von Pepton wurde um 10 Uhr vormittags gefressen, das übrige Pepton und Fleisch um 6 Uhr abends.
5.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	—	a) 170 b) 120	E. — Gf. +	6,276	0,2945	-1,056	
6.	Id.	—	—	a) 110 b) 100	E. — Gf. —		—		

1) E. = Eiweiß.

2) Gf. = Gallenfarbstoff.

0,35375 g Zucker ausscheidet und am dritten Tage nichts, scheidet er bei Peptondarreichung am anderen Tage 0,6019 g und am dritten Tage 0,4185 g, im Summa 1,0204 g Zucker aus. Der Hund B scheidet statt 0,2970 g Zucker 0,50985 g + 0,2945 g = 0,80435 g Zucker aus. Außerdem scheiden beide Hunde merklich Gallenfarbstoff aus.

Bei Beurteilung der Ergebnisse dieser Versuchsreihe muß berücksichtigt werden, daß das Pepton nicht im ganzen zugleich mit dem Zucker in den Magen gelangte, daß vielmehr die Hunde einen gewissen (nicht berechenbaren) Teil davon mit dem Fleisch und Speck viel später bekamen.

Nach Verabreichung der genannten Quantität Fleisch und Speck blieben die Tiere etwas hungrig, weshalb sie in der nächsten Versuchsreihe mehr Fleisch bekamen als vorher.

Die Ergebnisse der dritten Versuchsreihe können mit denen der zweiten Versuchsreihe in Parallele gestellt werden. Es wird ein quantitativer Unterschied beobachtet, der darauf beruht, daß 1. nur ein kleiner Teil der Nahrung und des Peptons später als die Zuckeraufnahme mit dem größeren Teil von Pepton und Nahrung von den Tieren nachgefressen war, 2. daß die Tiere mehr Pepton als in den vorigen Versuchsreihen bekamen. Die Zuckerausscheidung dauerte, wie vorher, zwei Tage, während welcher der Hund A statt 0,35375 g Zucker 1,381 g + 0,7839 g, in Summa 2,1649 g und der Hund B statt 0,2970 g Zucker 1,082 g + 0,60 g, in Summa 1,682 g Zucker ausgeschieden hat. Dabei bekam das Tier A leichte Albuminurie, die drei Tage dauerte und hatte zwei Tage lang Gallenfarbstoff im Harn. Das Tier B hatte größere Schädigungen im Gesamtorganismus erlitten, da es zwei Tage Durchfall hatte; die Gallenfarbstoffausscheidung dauerte zwei Tage und die Albuminurie erstreckte sich auf mehrere Tage.

Bei den Versuchen mit Milchsomatose wurde von beiden Hunden nur ein Teil der Brühe mit Zucker und Somatose um 10 Uhr vormittags gefressen. Der andere Teil wurde, da die Tiere das Essen verweigerten, um 2 Uhr nachmittags mit der Sonde eingegeben und dann das Fleisch verfüttert.

Die Flüssigkeit habe ich vor 2 Uhr nicht mit der Sonde eingeführt, um zu verhüten, daß die Tiere mit vollem Magen brechen.

Zu meinen Versuchen diente eine Milchsomatose von Friedr. Bayer & Cie. in Elberfeld.

3. Versuchsreihe.

Hund A.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909 6.					E. ¹⁾ - Gf. ²⁾ -		-		
7.	Fleisch 250 g Speck 15 g peptone carne 50 g	15,82	20,2	a) 300 b) 130	E. + Gf. ++	11,2574	1,381	+4,5626	Der Hund hat Zucker und den größten Teil Pepton mit dem größten Teil Fleisch und Speck um 10 Uhr vormittags gefressen, den Rest des Fleisches und des Peptons um 4 Uhr nachmittags.
8.	Fleisch 250 g Speck 15 g	8,72	-	a) 235 b) 90	E. + Gf. +	9,565	0,7839	-0,845	
9.	Fleisch 250 g	8,72	-	a) 200 b) 125	E. + Gf. - (leichte Spuren)	6,345	-	+2,375	
10.	Speck 15 g Id.			a) 160 b) 100	E. - Gf. -		-		

1) E. = Eiweiß. 2) Gf. = Gallenfarbstoff.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harnmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909 6.					E. ¹⁾ - Gf. ²⁾ -				Zucker mit größerem Teil Pepton und Fleisch um 10 Uhr vormittags gefressen, den Rest des Fleisches mit Pepton um 3 Uhr nachmittags.
7.	Fleisch 200 g Speck 15 g peptone carne 50 g	14,09	15,3	a) 215 b) 180	E. + Gf. ++	5,04	1,082	+9,05	
8.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	-	a) 220 b) 80	E. + Gf. +	6,804	0,60	+0,156	Durchfall.
9.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	-	a) 170 b) 100	E. + Gf. - (Spur.)	5,845		+1,115	Durchfall.
10.	Id.			a) 130 b) 80	E. + Gf. - (Spur.)		-		

1) E. = Eiweiß. 2) Gf. = Gallenfarbstoff.

4. Versuchsreihe.

Hund A.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in com aus a) Harn + b) Spüllwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909									
10.	Fleisch 250 g Speck 15 g	8,72	—		E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —		—		
11.	Fleisch 250 g Speck 15 g Milch-Somatose 50 g	14,67	20,2	a) 380 b) 150	E. ++ Gf. +	8,4583	1,336 ³⁾	+6,2117	Ein Teil der Brühe mit Zucker und Somatose um 10 Uhr vormittags gefressen. Der andere Teil wurde um 2 Uhr nachmittags mit d. Sonde eingeführt u. dann das Fleisch verfüttert.
12.	Fleisch 250 g Speck 15 g	8,72	—	a) 210 b) 165	E. + Gf. +	7,571	0,807 ³⁾	+1,149	
13.	Fleisch 250 g Speck 15 g	8,72	—	a) 75 a) 175	E. — Gf. —	4,76	—	+3,96	

¹⁾ E. = Eiweiß.

²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

³⁾ Nach Enteiweißung bestimmt.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in com aus a) Harn + b) Spüllwasser	Pathol. Harnbestandteile	im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909									
10.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	—	a) 130 b) 80	E. ¹⁾ + (leichte Spuren) Gf. ²⁾ —				
11.	Fleisch 200 g Speck 15 g Milch-Somatose 50 g	11,91	15,3	a) 285 b) 200	E. ++ Gf. +	8,4714	1,0088 ³⁾	+3,5386	Die Versuchs-anordnung wie bei Hund A, s. oben.
12.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	—	a) 100 b) 125	E. + Gf. +	6,5772	0,76218 ³⁾	+0,3828	
13.	Id.	6,96	—	a) 95 b) 110	E. + (leichte Spuren) Gf. —	4,5498	—	+2,4102	

¹⁾ E. = Eiweiß.

²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

³⁾ Nach Enteiweißung bestimmt.

Die Milchsomatose wurde den Tieren aus dem Grunde gereicht, da sie ein milderes Peptonpräparat ist und zugleich 5% Tannin enthält. Ich wollte mit diesem Präparat die übermäßige Darmreizung vermeiden, welche in der vorherigen Versuchsreihe eingetreten sein konnte. Dazu kommt noch, daß dann verschiedene Peptonpräparate (Witte-Pepton, peptone carne, Milchsomatose) untersucht waren, wodurch ein etwas allgemeinerer Überblick über die Peptonwirkung gewährt wird.

In der Versuchsreihe 4 konnte wieder festgestellt werden, daß bei Darreichung von Milchsomatose bei beiden Tieren die Zuckerausscheidung sich vergrößert und auf eine längere Zeit sich erstreckt. Es ergab sich, daß der Hund A statt 0,3575 g Zucker 1,3360 g + 0,807 g, in Summa 2,1430 g, der Hund B statt 0,2970 g Zucker 1,0088 g + 0,7628 g, in Summa 1,7716 g ausgeschieden hat. Die Albuminurie beider Tiere erreichte einen nicht zu vernachlässigenden Grad, so daß der Harn zur Zuckerbestimmung enteiweißt werden mußte. Ebenso konnte im Harn zwei Tage hindurch eine Gallenfarbstoffausscheidung nachgewiesen werden.

5. Versuchsreihe.

Da in allen Versuchen mit ganz verschiedenen Peptonpräparaten eine so große Steigerung der Zuckerausscheidung gefunden worden war, lag die Frage nahe, ob man nicht auch bei großer Verminderung der Zuckerdosis nach Peptondarreichung Zuckerausscheidung im Harn finden konnte.

Deshalb erhielt der in seinem Harn eiweiß- und zuckerfreie Hund A am 14. VII. 09 mit der Standardkost noch 50 g Witte-Pepton und 8 g Traubenzucker. Das Tier bekam Diarrhöe und schied im Harn 0,08 g Zucker pro Tag und wieder Gallenfarbstoff (++) und Eiweiß (++) aus. Am nächsten Tag war kein Zucker nachzuweisen, Eiweiß und Gallenfarbstoff erschienen in kleineren Quantitäten (+) und verschwanden ganz am nächsten Tage.

Dieser Versuch lehrt also, daß Pepton an und für sich mit einer relativ sehr kleinen Zuckerdosis zu einer Ausscheidung von Zucker führte. Aber diese Zuckerausscheidung ist viel geringer als bei den Zuckerdosen, welche in den vorausgehenden Versuchen gereicht wurden.

6. Versuchsreihe.

Beiden Tieren wurden je 20 g Leucin mit der Sonde zugleich mit dem Zucker zugeführt. Beide Tiere bekamen darauf Erbrechen und Durchfall. Deshalb wurde nach einem

Tage Ruhepause, nachdem ich mich überzeugt hatte, daß die Hunde zuckerfrei sind, derselbe Versuch, nur mit kleineren Dosen Leucin, wiederholt.

Hund A.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
18. Juli 1909	Fleisch 250 g Speck 15 g Leucin 10 g	9,79	20,2	a) 310 b) 200	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	7,5970	0,487	+2,193	
19.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	—	a) 205 b) 130	E. — Gf. —	4,885	—	+0,335	

1) E. = Eiweiß. 2) Gf. = Gallenfarbstoff.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
18. Juli 1909	Fleisch 200 g Speck 15 g Leucin 10 g	8,03	15,3	a) 230 b) 110	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	6,618	0,4815	+1,412	
19.	Fleisch 100 g Speck 15 g	6,96	—	a) 180 b) 100	E. — Gf. —	6,238	—	+0,722	

1) E. = Eiweiß; 2) Gf. = Gallenfarbstoff.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist eine geringe Erhöhung der Zuckerausscheidung. Der Hund A hat statt 0,3575 g Zucker 0,4870 g und Hund B statt 0,2970 g Zucker 0,4815 g ausgeschieden. Die Zuckerausscheidung dauerte bloß einen Tag an. Demnach hatte das Leucin sowohl auf die Gesamtausscheidung wie auch auf die Dauer der Ausscheidung einen viel geringeren Einfluß als verschiedene Peptonpräparate. Eiweiß und Gallenfarbstoff waren im Harn nicht vorhanden.

Von einigem Interesse ist es, kurz die N-Ausscheidung zu betrachten. Vor kurzer Zeit haben Borchardt und Lange¹⁾ nach Verfütterung

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 116, 1907.

von Leucin eine Stickstoffretention beobachtet. Es handelte sich dabei nicht um einen Fall, wo die Assimilation nicht stattgefunden hätte. Denn hiergegen spricht mit aller Deutlichkeit die Tatsache, daß die Acetonkörperausscheidung gestiegen war, wobei das mehr ausgeschiedene Aceton sich aus dem zugeführten Leucin, wie Borchardt und Lange zeigen, gebildet hat. In meinen Versuchen konnte ich die von genannten Autoren angeführte N-Retention nicht beobachten.

Um die Bedingungen der gesamten Stickstoffausscheidung etwas zu variieren, hat der Hund B mit Leucin die Standardkost bekommen, während der Hund A am Tage der Leucindarreichung seine Standardkost und am nächsten Tage die Fleischkost vermindert bekam. Es ergab sich dabei, daß am ersten Tage doch eine gewisse Steigerung der Stickstoffausscheidung eintrat, während am nächsten Tage eine Verkleinerung der N-Bilanz eintrat.

In den Fällen der anderen Versuchsreihen wurde immer nach Peptondarreichung eine auf längere Zeit sich erstreckende Erhöhung der N-Ausscheidung beobachtet. An dieser Stelle sei nur auf das Tatsächliche hingewiesen. Erklärungsversuche würden mehr Versuchsmaterial nach dieser Richtung zur Voraussetzung haben.

7. Versuchsreihe.

Außer Leucin habe ich noch mit Alanin Versuche angestellt. Die Tiere wurden ebenfalls mit der Sonde um 10 Uhr vormittags mit Alanin und Zucker gefüttert, kurz darauf bekamen sie ihre Nahrung. Die Tiere fraßen nur einen Teil der Fleischkost. Der Rest wurde dann sogleich herausgenommen und nach drei Stunden wieder in den Käfig hineingestellt und jetzt von den Hunden gefressen.

Es wurden drei Versuche mit dem Hunde A und zwei (aus Mangel an genügender Menge des Präparates) mit dem Hunde B angestellt. Im ersten Versuche bekamen die Tiere je 15 g, im zweiten je 25 g und im dritten 10 g Alanin. Die ersten Versuche gingen ganz glatt, während in der zweiten Reihe beide Tiere Erbrechen und Durchfall bekamen, so daß diese Versuche nicht mitberechnet werden können.

Hund A.

Datum	Nahrung pra Tag	Gesamt-N- zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in ccm aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harn- bestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
1909									
19.	Fleisch 150 g Speck 15 g	5,22	—	a) 205 b) 130	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	4,885	—	+0,445	
20.	Fleisch 250 g Speck 15 g Alanin 15 g	11,08	20,2	a) 380 b) 200	E. — Gf. +	7,5036	0,5996	+3,5764	
21.	Fleisch 250 g Speck 15 g	8,72	—	a) 165 b) 180	E. — Gf. —	7,2462	0,0449	+1,4738	
22.	Fleisch 250 g Speck 15 g Alanin 25 g		20,2						Erbrechen, Durchfall
23.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	—	a) 140 b) 100	E. — Gf. —	4,7202	—	+2,2398	
24.	Fleisch 200 g Speck 15 g Alanin 10 g	8,52	20,2	a) 400 b) 75	E. — Gf. +	5,3666	0,4050	+3,154	
25.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	—	a) 160 b) 80	E. — Gf. —	6,048	0,0245 ³⁾	+0,912	

¹⁾ E. = Eiweiß.

²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

³⁾ Nach weiteren 4 Stunden ist die Probe negativ.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N- Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in ccm aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harn- bestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
1909									
19.	Fleisch 200 g Speck 15 g	6,96	—	a) 180 b) 100	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	6,238	—	+0,722	
20.	Fleisch 200 g Speck 15 g Alanin 15 g	9,30	15,3	a) 255 b) 145	E. — Gf. +	6,3424	0,384	+2,9576	Die Hälfte d. Nahrung zur gleichen Zeit mit Alanin, die andere ca. 4 Std. später gefressen.
21.	Fleisch 200 g Speck 15 g	9,96	—	a) 140 b) 95	E. — Gf. —	4,7703	—	+2,1897	
22.	Fleisch 200 g Speck 15 g Alanin 25 g								Erbrechen, Durchfall

¹⁾ E. = Eiweiß.

²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

Die Versuche mit Alanin haben ein ähnliches Ergebnis wie diejenigen mit Leucin. Ein Einfluß dieser Aminosäure auf die Leistung der Leber unter den Versuchsbedingungen, wie ich sie experimentell gestaltete, tritt unverkennbar zutage.

8. Versuchsreihe.

Nachdem der Einfluß der Peptone und der Aminosäuren auf die Leistung der Leber mit Hilfe der Methode der Ermittlung der Zuckerassimilationsgrenze studiert worden war, lag die Frage nahe, wie verhält sich die letztere bei Überschwemmung des Organismus, resp. der Leber mit einer großen Dosis von nativem Eiweiß. Von den oben erwähnten Autoren (Slowtzow, Seitz, Boehm) wird auf Grund verschiedener Versuchsanordnungen die Beteiligung der Leber bei der Verarbeitung des mit der Nahrung aufgenommenen Eiweißes angenommen. Da nun die von mir gewählte Methode gewisse Anhaltspunkte zur Beantwortung dieser Beteiligung dargeboten hat, so wurde sie angewendet zur Entscheidung der Frage, ob bei Fütterung mit übermäßigen Dosen von nativem Eiweiß ein Einfluß auf die Assimilationsgrenze des Zuckers zu bemerken ist. Es wurde deswegen den Tieren einen Tag vor Beginn des Versuches eine geringere Dosis Fleisch (100 g statt 200 und 250 g) mit nur 5 g Speck und am „Zuckertage“ 300, 350 und 450 g Fleisch gegeben.

Bei Berücksichtigung der Tabelle von der 8. Versuchsreihe stoßen wir zuerst auf eine paradoxe Erscheinung. Der Hund B hat bei Verfütterung mit 350 g Fleisch 0,3385 g gegenüber 0,2970 g Zucker, während derselbe Hund bei 300 g Fleisch 0,5435 g + 0,260 g = 0,8035 g Zucker ausgeschieden hat. Die Glykosurie dauerte dabei zwei Tage. Dieses paradoxe Verhalten ist dadurch zu erklären, daß bei Verfütterung von 350 g Fleisch der Hund nur einen Unterernährungstag vorher hatte, weshalb er die vergrößerte Fleischdosis ohne besondere Gier nahm und mit ihr erst am Ende des Versuchstages (24 Stunden) fertig war. Unter solchen Bedingungen kann man kaum von einer Überschwemmung der Leber mit Eiweiß sprechen, worauf auch die wenig vergrößerte N-Ausscheidung hinweist. Das Eiweiß ist nur allmählich in den Organismus getreten. Deswegen wurden für den nächsten Versuch 3 Unterernährungs-

Hund A.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909									
26.	Fleisch 100 g Speck 5 g	3,48	—	a) 160 b) 80	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	3,0954	—	+0,3848	
27.	Fleisch 450 g Speck 5 g	15,66	20,2	a) 350 b) 115	E. — Gf. —	9,492	0,3347	+6,168	Der Hund war mit dem Fressen des Fleisches gegen Abend fertig.
28.	Fleisch 200 g Speck 5 g	6,96	—	a) 120 b) 85	E. — Gf. —	4,536	0,1248	+2,424	
29.	Id.	—	—	—	—	—	—	—	

¹⁾ E. = Eiweiß. ²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

Hund B.

Datum	Nahrung pro Tag	Gesamt-N-Zufuhr	Zuckerzufuhr	Harmenge in cem aus a) Harn + b) Spülwasser	Pathol. Harnbestandteile	Im Harn		N-Bilanz	Bemerkungen
						N	Zucker g		
Jul 1909									
24.	Fleisch 100 g Speck 5 g	3,48	—	a) 120 b) 90	E. ¹⁾ — Gf. ²⁾ —	1,8584	—	+1,5216	
25.	Fleisch 350 g Speck 5 g	12,18	15,3	a) 350 b) 110	E. — Gf. —	6,526	0,3385	+5,654	Ein Teil Fleisch am Tage, das übrige Fleisch nur spät gegen die Nacht und am anderen Tage früh morgens aufgefressen.
26.	Fleisch 150 g Speck 5 g	5,22	—	a) 130 b) 85	E. — Gf. —	5,2416	—	—0,0216	
27.	Fleisch 150 g Speck 5 g	5,22	—	a) 115 b) 85	E. — Gf. —	4,656	—	+0,564	
28.	Fleisch 100 g Speck 5 g	3,48	—	a) 100 b) 80	E. — Gf. —	2,0168	—	+1,4632	
29.	Fleisch 300 g Speck 5 g	10,48	15,3	a) 275 b) 90	E. — Gf. —	5,5	0,5435	+4,98	
30.	Fleisch 200 g Speck 5 g	6,96	—	a) 115 b) 65	E. — Gf. —	4,557	0,260	+2,403	
31.					E. — Gf. —		—		

¹⁾ E. = Eiweiß. ²⁾ Gf. = Gallenfarbstoff.

tage¹⁾ genommen und am „Zuckertage“ nur 300 g Fleisch gegeben. Die Voraussetzung hat sich in der Tat gerechtfertigt. Der Hund hat das Fleisch schnell nach dem Zucker gefressen und statt 0,2970 g Zucker 0,5435 g + 0,260 g, in Summa 0,8035 g Zucker ausgeschieden.

In der Mitte dieser beiden Versuche steht der Versuch mit dem Hunde A. Dieser stand unter denselben Bedingungen wie der Hund B im ersten Versuche. Der Hund A war aber gefräßiger, und hat deshalb das Fleisch schon in der ersten Hälfte des „Zuckertages“ gefressen. Er hat auch eine kleinere Erhöhung der Zuckerausscheidung (0,3347 g + 0,1248 g, in Summa 0,4595 g gegenüber 0,3575 g), die sich aber auf zwei Tage erstreckte.

Nach ihrer Bedeutung können alle drei Versuche dieser Reihe gradatim verteilt werden: 1. Versuch 1 mit dem Hunde B, 2. Versuch mit dem Hunde A, 3. Versuch 2 mit dem Hunde B.

IV.

Im folgenden stellen wir der Bequemlichkeit wegen alle Versuchsergebnisse in einer Tabelle zusammen.

Hund	Zuckerzufuhr g	Zuckerausscheidung						
		in d. Norm (Assimilations- grenze) g	bei Witte- Pepton g	bei pepton e carne g	bei Milch- somatose g	bei Leucin g	bei Alanin g	bei nativem Eiweiß g
A.	20,2	0,35375	0,6019	1,381	1,336	0,487	bei 15 g Alanin	0,3347
			+0,4185	0,7839	0,807		0,5996	
			<u>1,0204</u>	<u>2,1649</u>	<u>2,143</u>		<u>0,04485</u>	<u>0,1248</u>
							0,64445	0,4695
							bei 10 g Alanin	
							0,405	
							0,0245	
							<u>0,4295</u>	
B.	15,3	0,2970	0,50985	1,082	1,0088	0,4815	bei 15 g Alanin	a) 0,3385
			0,2945	0,60	0,76275		b) 0,5435	
			<u>0,80435</u>	<u>1,682</u>	<u>1,77155</u>		0,384	+ 0,2600
								<u>b) 0,8035</u>
	8		0,08					

¹⁾ Wegen der Unterernährung wurde auch in der ganzen Versuchsreihe der Speck vermindert und nur 5 g pro Tag gegeben. Letztere nur zum besseren Anbraten des Fleisches.

Es muß noch hinzugefügt werden, daß nach Abschluß der Versuche das Allgemeinbefinden der Hunde ganz gut war, und daß sie an Gewicht zugenommen haben. Der Hund A wog statt 3,7 kg 4 kg und der Hund B statt 2,6 kg 2,85 kg.

Überblickt man jetzt die Gesamtergebnisse der Versuche, so kann als bewiesen gelten, daß die Vermutung, daß bei einem geeigneten Versuchsverfahren — als welches sich die Ermittlung der Zuckeraassimilationsgrenze bei Einhaltung meiner Versuchsbedingungen erwiesen hat — die Zuckerzufuhr großer Mengen von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten sich als nicht gleichgültig für die Leber erweisen würde, sich bewahrheitet hat. Die größten Veränderungen sowohl in der Assimilationsgrenze des Traubenzuckers als auch bei den übrigen Erscheinungen sind nach der Peptoneinfuhr zu bemerken. Die Ergebnisse mit allen drei Peptonpräparaten sind dieselben: Eine große Steigerung der Glykosurie (bis aufs Sechsfache) und deren Dauer, Albuminurie und Auftreten von Gallenfarbstoff. Bei allen Peptonpräparaten gibt es nur quantitative Unterschiede.

Für diese quantitativen Unterschiede gibt es seine Gründe. Die kleinere Zuckerausscheidung bei Witte-Pepton ist, wie schon erwähnt, darauf zurückzuführen, daß 1. die Tiere davon 40 g (während sie von pepton e carne und Milchsomatose 50 g) bekommen haben, 2. daß nur ein Teil vom dargereichten Pepton zur gleichen Zeit mit dem Zucker in den Magen gelangt, während das Tier den übrigen Teil mit der gesamten Nahrung erst viele Stunden später bekam. Es konnte auf diese Weise die Leber nicht in dem Maße beeinflußt werden wie bei der Darreichung von pepton e carne und Milchsomatose. Als Beweis hierfür dient auch die Stickstoffausscheidung. Bei Witte-Pepton wurde die Hauptmenge Stickstoff erst in den folgenden 24 Stunden ausgeschieden, während bei anderen Peptonpräparaten dies schon am ersten Tage geschah. Auf diese Weise scheint mir auch das Fehlen der Albuminurie sich am besten zu erklären. Je länger die Versuche mit den Peptonen dauerten, desto größer war jedesmal die Albuminurie, indem sie ihr Maximum bei Somatose erreichte. Sie scheint nicht darauf zu beziehen, daß überhaupt Somatose schädlicher, sondern darauf, daß sie in diesen Fällen schädlicher gewesen ist. Es folgten darauf Versuche mit verschiedenen Peptonen. Jedes Präparat

übte seinen Reiz aus, und es ist ganz gut möglich, daß diese dauernde Reizung zur Vergrößerung der Albuminurie führte. Wie man es auch betrachtet, sicher ist, daß 1. die verschiedenen Reizwirkungen vorübergehend sind, 2. daß sie derselben Art, also konstant für alle Peptone, sind.

Müssen diese Reizwirkungen auf die Peptone als solche zurückgeführt werden oder auf die Menge des zugeführten Stickstoffes? Letzteres scheint mir nicht der Fall zu sein. In der Tat sehen wir das Maximum der N-Zufuhr (ziemlich das gleiche) in der 3. Versuchsreihe bei Hund A (15,82 N) und in der 8. Versuchsreihe bei demselben Tiere (15,66 N). Während im ersten Falle das Tier 2,1649 g Zucker, dazu Eiweiß und große Mengen (+ +) Gallenfarbstoff ausgeschieden hat, konnte im zweiten Falle weder Eiweiß noch Gallenfarbstoff im Harn nachgewiesen werden und die Zuckerausscheidung blieb bei 0,6445 g. Es kommt also nicht auf die Quantität des zugeführten N, sondern auf die Form, in welcher er dargereicht wird, an.

Daß die Wirkung der Peptone eine Reizwirkung ist, wird durch die Ergebnisse der 5. Versuchsreihe klar illustriert. Geht man beim Hunde mit zuckerfreiem Harn unter die Assimilationsgrenze und gibt ihm zugleich mit dem Pepton etwa die Hälfte des sonst üblichen Traubenzuckers, so erscheint Zucker (0,08 g pro Tag) im Harn, während dieselbe Dosis unter anderen Bedingungen keine Zuckerausscheidung hervorruft. Daraus ergibt sich, daß Pepton in übermäßigen Dosen eine Zuckerausscheidung bewirkt. Diese Ausscheidung wird größer, wenn gleichzeitig dem Organismus viel Zucker dargeboten wird. Man kann deshalb sagen, daß zwischen der Assimilationsgrenze für Zucker und den Vorgängen, welche durch übermäßige Peptongaben hervorgerufen werden, ein Zusammenhang besteht.

Was die quantitative Wirkung auf die Leber anbetrifft, folgen auf die Peptone die Aminosäuren. Es ergab sich dabei eine gewisse Steigerung der Glykosurie und Vermehrung des Gallenfarbstoffs (nach Alanin) im Harn. Eiweiß fehlte.

Was die Vergrößerung der Zufuhr von nativem Eiweiß anbetrifft, so ergibt sie eine Verschiebung der Assimilationsgrenze des Traubenzuckers und zwar in verschiedenen Graden. Letzteres hängt wesentlich ab 1. davon, mit welcher Gier der Hund seine

Nahrung frißt, d. h. ob er sie auf einmal oder in mehreren Portionen bei ein und derselben Tagesmenge frißt, 2. von der Nahrungssättigung der vorhergegangenen Tage. War das Tier nicht reichlich genug genährt (N-Bilanz, die Gier zum Fressen), so frißt es rasch sein Fleisch, es überschwemmt die Leber mit N-Stoffen in vermutlich verschiedenen, noch nicht festgestellten Formen, die Leber wird in erhöhtem Maße durch andere Leistungen in Anspruch genommen oder gereizt, die Zuckerasimilation verringert sich, daher steigt die Zuckerausscheidung.

Gallenfarbstoff und Eiweiß im Harn konnte ich dabei nicht beobachten.

Wie ist die oben angeführte Glykosurie resp. Änderung der Assimilationsgrenze und die zwei Tage statt einen Tag dauernde Zuckerausscheidung zu deuten? Es sind dabei drei Möglichkeiten zu diskutieren. Es können erstens Eiweiß und Eiweißabbauprodukte selber Zucker bilden. Zweitens können die genannten Stoffe gewissermaßen die Leberzellenfunktion übermäßig in Anspruch nehmen, so daß deren glykogenbildende Fähigkeit sich mindert. Drittens könnte die Leber gereizt werden, so daß es zu einer vermehrten Umwandlung in Zucker käme.

Alle oben angeführten Versuche geben keinen Anhaltspunkt für die erste Annahme. Wäre hier die Möglichkeit einer direkten Zuckerbildung vorhanden, so müßten sich unter meinen verschiedenen Versuchsanordnungen größere Zuckerdosen bilden. Es sind gewisse Schwankungen eingetreten bei Darreichungen von verschiedenen Dosen von Aminosäuren, von denen speziell behauptet wird, sie sollen Zucker bilden.

Hinsichtlich des Einflusses der Aminosäuren auf die Zuckerbildung stehen sich die Ansichten diametral gegenüber. Grundlegende Arbeiten für die Bildung von Zucker aus Aminosäuren sind z. B. die Arbeiten von Embden und Salomon, von Lühje und von Kraus.

Embden und Salomon¹⁾ — um diese als Beispiel zu zitieren — haben bei ihren einwandfreien Versuchen gefunden, daß bei pankreaslosen Hunden die Zuckerausscheidung nach Darreichung von Aminosäuren mächtig ansteigt. So stieg sie bei Alanindarreichung in einem Falle von 16 g pro Tag auf 29,3 am Versuchstage, um am nächsten Tage auf 19,2 zu fallen und im anderen Falle von 6,2 g auf 19,6 g.

¹⁾ Zeitschr. f. d. ges. Chem. 5, 507, 1904 und 6, 63, 1904 und Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 506, 1904.

Dagegen kommt Karl Grube¹⁾ auf Grund seiner Versuche bei Durchleitung der Schildkrötenlebern mit verschiedenen Aminosäuren zum Schlusse, daß „die Leber demnach ihr direkt zugeführte aktive Aminosäuren nicht zur Glykogenbildung zu verwenden vermag“.

Die Versuchsanordnungen in beiden Fällen sind nicht derart, daß sie auf Tiere, die sich unter physiologischen Bedingungen befinden, ohne weiteres übertragen werden können. Beim Leben unter so kolossalen Differenzen, wie bei dem z. B. eines Phloridzin-Hungertieres, eines pankreaslosen Tieres und eines gesunden Tieres brauchen die Funktionen verschiedener Organe, braucht der Gesamtstoffwechsel durchaus nicht der gleiche zu sein. Deshalb kann das pankreaslose Tier mit einer enormen Steigerung der Zuckerausscheidung — worauf diese zu beziehen ist, darüber läßt sich streiten — reagieren, während ein gesundes Tier nur eine Verschiebung der Assimilationsgrenze zeigt.

Läßt sich also gegen die Versuche, welche die Zuckerbildung aus Aminosäuren beweisen sollen, einwenden, daß sie zwar für die eigenartigen pathologischen Zustände der Versuchstiere dies tun, aber nicht für den physiologischen Zustand, so läßt sich aber auch gegen die absolute Beweiskraft von Grubes Versuch ein Einwand erheben. Er hat Glykogenbildung bei Durchströmung der Leber mit Zucker, aber nicht mit Aminosäuren gefunden. Vielleicht — ich sage ausdrücklich „vielleicht“ — vermag die überlebende Leber, die ja auch kein rein physiologisches Organ ist, die erstere Umwandlung noch zu leisten, aber nicht die zweite, chemisch kompliziertere.

Was meine Versuchsanordnung betrifft, so ist sie im Vergleich zu den eben genannten eine physiologischere. Würde unter diesen mehr physiologischen Bedingungen eine Zuckerbildung aus Aminosäuren, Pepton und Eiweiß stattfinden, so hätte man eine größere Zuckerausscheidung zu erwarten, als ich sie beobachtet habe. Dabei möchte ich hervorheben, daß in meinen Versuchen die zu erwartende größere Zuckerausfuhr nicht durch eine größere Zuckerzerstörung verdeckt sein konnte. Daher ist aus meinen Versuchen der Schluß zu ziehen, daß unter den obwaltenden Versuchsbedingungen keine Bildung von Zucker aus Eiweiß und Eiweißabbauprodukten stattfand. Bei der Kompliziertheit der Frage und da gleich schwerwiegende experimentelle Argumente entgegengesetzter Natur vorliegen, will ich vorläufig in meinen Versuchsergebnissen nicht mehr sehen als Beiträge, die zur späteren Lösung der Frage verwertet werden können.

So bleibt also als Erklärung die von mir oben erwähnte zweite oder dritte Möglichkeit. Vielleicht handelt es sich um ein Zusammenwirken beider Faktoren: Minderung der Fähigkeit für Glykogenbildung und Reizung zu gesteigerter Zuckerausfuhr. Da ich keine bestimmte Entscheidung hierüber treffen kann, will ich, um nichts zu präjudizieren, von einer Minderung der

¹⁾ Pflügers Archiv 122, 451. 1908.

Fähigkeit, Glykogen in der Leber aufgestapelt zu erhalten, sprechen. Für eine Reizung, die sicher besteht, spricht vor allem die Tatsache, daß die Zuckerausscheidung auch an dem folgenden Tage anhält, an welchem in der Nahrung die Mehrzufuhr von Zucker unterbleibt.

Waren die dabei gereichten Dosen der Aminosäuren nicht zu klein? Das ist auch nicht der Fall. Es konnten keine größeren Dosen gegeben werden, denn bei deren Erhöhung tritt sofort Erbrechen und Durchfall auf.

Es bleibt somit die Möglichkeit einer unmittelbaren Beziehung der Leberzellenfunktion zur Verarbeitung von Eiweiß und dessen Abbauprodukten. In der Literaturübersicht sind schon die Ansichten von Slowtzow, Seitz, Asher und Boehm angeführt. Besonders beweisend erscheinen die histologischen Bilder von Boehm. Er bringt dazu noch eine Tabelle der Größenverhältnisse der Leberzellen und deren Kerne.

	Längsdurchmesser der Zellen in μ	Querdurchmesser der Zellen in μ	Querdurchmesser der Kerne in μ
Albumosenleber .	31,5	22,9	9,9
Eiweißleber . . .	24,5	18,8	7,9
Alaninleber . . .	21,9	17,5	6,8
Hungerleber . .	17,7	15,2	7,2

Nimmt man noch dazu Asher und Kusmines Bilder, so scheint die Ansicht berechtigt zu sein, daß Albumosen und Aminosäuren einen Einfluß auf die Leberzellen ausüben. Boehm stellt zwei Möglichkeiten für solchen Einfluß auf. Die eine ist, daß nicht Albumosen, sondern schon weiter umgewandelte Produkte — entweder in aufsteigender oder absteigender Richtung umgewandelt — in die Leber gelangen und dort direkte Reizerscheinungen in den Zellen hervorrufen. Als andere Möglichkeit denkt Boehm an die Reizwirkung der Albumosen auf den Darm. Es kann sein, „daß besondere Stoffwechselprodukte infolge dieser Reizwirkung in die Leber gelangen, oder daß auf einem anderen, noch unbekanntem Wege infolge der gesteigerten Intensität der Darmarbeit auch die Tätigkeit der Leber sich erhöht habe“.

Nach den bisherigen Ergebnissen scheint es mir nicht möglich, etwas Definitives für die Theorie der Wirkung aller gesamten Produkte anzuführen; Tatsache ist die Wirkung selbst. Alle diese Produkte scheinen die Leberzelle derart zu beeinflussen, daß sie, in bestimmten Mengen eingeführt, dieselbe bis über die physiologischen Grenzen in Anspruch nehmen. Dies äußert sich darin, daß die glykogenbildende oder glykogenerhaltende Funktion der Leber sich vermindert. Die Assimilationsgrenze wird erhöht und es kommt nicht zur Aufspeicherung der sonst vorhandenen Quantität des Zuckers in der Leber.

Als Ausdruck dieser über die physiologischen Grenzen gehenden Inanspruchnahme der Zellen erscheint auch Gallenfarbstoff im Harn. Es

könnte noch für den Austritt des Gallenfarbstoffes außer der genannten an zwei Möglichkeiten gedacht werden. Die eine ist, daß letzterer eine Folge eines aufsteigenden Katarrhs ist, den die Peptone hervorrufen. Es scheint mir diese Annahme weniger berechtigt zu sein deshalb, weil die meisten Versuche mit Peptonen ohne Darmreizerscheinungen abgelaufen sind. Es ist anzunehmen, daß es sich dabei nur um Duodenalschleimhautreizung und Cholangitis ascendens handelt; dafür gibt es aber keine Anhaltspunkte.

Zweitens könnte man die Annahme machen, daß die Leberzellenschwellung, die aus der Boehmschen Tabelle und seinen Figuren klar zu ersehen ist, eine Einschränkung der Gallengänge gemacht hat und daß es infolge der dadurch bedingten Gallenstauung zur Gallenstoffresorption kommt.

Diese Annahme scheint mir nicht wahrscheinlich zu sein. Die Gründe dazu sind folgende: Aus der Boehmschen Tabelle entnehmen wir, daß die größten Leberzellenschwellungen bei Albumosen vorkommen, dann kommt die Eiweißleber und darauf folgt die Alaninleber. In meinen Versuchen habe ich Gallenfarbstoff im Harn bei Peptonen und Aminosäuren beobachtet, während sie bei Fütterung mit großen Dosen von Eiweiß fehlten. Es ist also kein Parallelismus zwischen Leberzellenschwellung und Gallenfarbstoffausscheidung vorhanden.

Damit bleibt zur Erklärung der Erscheinung am natürlichsten die Hypothese einer direkten Reizung der Leberzellen, die unter anderen Symptomen auch in der Hyperproduktion des Gallenfarbstoffes sich äußert.

Das summarische Ergebnis aller Versuche ist, daß die Leber bei der Verarbeitung des mit der Nahrung aufgenommenen Eiweißes — abgesehen von der Bildung der bekannten intermediären und Endprodukte — in Anspruch genommen wird.

Das, was schon durch die histophysiologische Methode von Boehm wahrscheinlich gemacht wird, hat jetzt durch die biochemische Methode, dank einer anderen Methode, als sie mein direkter Vorgänger Reichenau¹⁾ benutzen konnte, eine weitere Stütze erhalten. Die chemischen Prozesse, die hierbei in Betracht kommen können, bedürfen noch der weiteren, eingehenderen Untersuchung.

Ein anderes wichtiges Ergebnis der angeführten Versuche ist die Einsicht in die Notwendigkeit des allmählichen Auftretens verschiedener Eiweißabbauprodukte in den Magendarmkanal aufzufassen.

Die Peptone sind normale Verdauungsprodukte für die Tiere. Erscheinen sie aber zur weiteren Verarbeitung in großer Quantität auf einmal, so werden sie für den Gesamtorganismus (Darmdurchfall, Änderung der Assimilationsgrenze des Zuckers, Gallenfarbstoffausscheidung, Niereneiweiß) schädlich, giftig. Es ist, wie schon gesagt, die Wirkung

¹⁾ Siehe diese Zeitschr., 21. 76, 1909.

der Peptone als solcher, denn Zufuhr einer Fleischmenge mit demselben N-Gehalt hat weitaus keine solche Wirkung.

Derselbe Satz ist auch für Aminosäuren gültig. In der Norm geht der Abbau der Eiweißstoffe und deren Assimilation Hand in Hand, allmählich. Es werden nicht auf einmal Aminosäuren massenhaft in den Organismus gebracht. Überschwemmt man sozusagen den Verdauungstrakt mit Aminosäuren, so treten an dessen verschiedenen Teilen gleich Reizerscheinungen auf. Man darf auch nicht behaupten, daß sie weniger schädlich als die Peptone sind. Vielleicht im Gegenteil. Vergrößert man die Aminosäuredarreichung über gewisse Dosen — der Stickstoffgehalt bleibt dabei immer kleiner als bei Peptonen —, so treten sogleich Erbrechen und Durchfall auf — vielleicht als eine gewisse Selbstverteidigung des Organismus.

Wir sehen, daß der normale Verdauungsprozeß eine durchaus zweckmäßige Anpassung an die Leistungsfähigkeit des Organismus darbietet und darbieten muß. Sicher ist, daß die ganz allmähliche Entstehung der Verdauungsprodukte und ihre nicht überstürzte Resorption eine physiologische Notwendigkeit ist. Vielleicht ist auch die Tatsache von großer Bedeutung, daß nebeneinander sehr zahlreiche Abbauprodukte des Eiweißes entstehen. Bis jetzt ist nur der Gesichtspunkt diskutiert worden, daß zum mindesten die Mehrzahl der Bausteine des Eiweißes nötig sind, um Körpereiwweiß aufzubauen. Aber es muß auch daran gedacht werden, ob nicht das Nebeneinander einer ganzen Anzahl von Eiweißabbauprodukten erforderlich ist, um den normalen Ablauf gewisser lebenswichtiger Stoffwechselprozesse zu gewährleisten.

Resumé.

Zusammengefaßt sind die Resultate meiner Arbeit folgende:

1. Die Leber beteiligt sich bei der Verarbeitung von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten nach der Aufnahme derselben durch den normalen Verdauungsweg.

2. Diese Beteiligung wurde erwiesen durch die Tatsache, daß die Assimilationsgrenze von per os aufgenommenem Traubenzucker — bei möglichst konstant erhaltenem Zuckerabbau — wesentlich sinkt und daß die Zuckerausscheidung eine Zeit lang andauert, wenn kein Zucker mehr gereicht wird.

3. Zur Erklärung wird die Annahme gemacht, daß durch übermäßige oder unphysiologische Zufuhr von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten die Leistungsfähigkeit der Leber über die physiologischen Grenzen hinaus in Anspruch genommen wird.

4. Diese Annahme wird weiter gestützt durch die Tatsache, daß unter den in dieser Arbeit eingehaltenen Versuchsbedingungen Gallenfarbstoff im Harn vorkommt.

5. Die Tatsache, daß die Zuckerausscheidung auch am Tage nach Aussetzen der Zuckereingabe anhält, spricht dafür, daß die Zuckerausscheidung auf einer Reizung der Leber beruht, wodurch das Vermögen der Leber, Glykogen aufzustapeln, sich vermindert. Die früheren histophysiologischen Untersuchungen von Kusmine und Boehm ergaben Anhaltspunkte in gleichem Sinne.

6. Die in dieser Arbeit benutzte Methode liefert einen Beitrag zur Frage, ob unter angenähert physiologischen Bedingungen eine Bildung von Zucker aus Eiweiß und Eiweißabbauprodukten stattfindet. Es ergab sich bei den eingehaltenen Versuchsbedingungen keine Erscheinung, die zum Beweis für diese angenommene Bildung dienen könnte.

7. Der allmähliche Ablauf des Verdauungs- und Resorptionsvorganges ist eine notwendige Anpassung an die physiologische Leistungsfähigkeit des Organismus, insbesondere an diejenige der Leber. Es muß auch daran gedacht werden, ob nicht die Vielheit der Verdauungsprodukte des Eiweißes notwendig ist, um den normalen Ablauf gewisser Stoffwechselforgänge zu gewährleisten.

Untersuchungen über die Diastasen. III.¹⁾

Das Verhalten der Diastase im Blut.

Von

J. Wohlgemuth.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

Daß das Blut die Fähigkeit besitzt, Stärke in seine niederen Spaltungsprodukte zu zerlegen, und daß diese Eigenschaft auf der Anwesenheit eines in ihm enthaltenen Fermentes beruht, ist eine seit langem bekannte Tatsache.

Schon im Jahre 1846 beschäftigte sich Magendie²⁾ eingehend mit ihr und suchte den Nachweis zu führen, daß die diastatische Wirkung des Blutes keine postmortale Erscheinung, sondern der Ausdruck eines auch *intra vitam* wirksamen enzymatischen Prozesses ist. Zu dem Zwecke injizierte er einem Tier intravenös dünnen Stärkekleister und fand, daß schon nach Verlauf von 10 Minuten das Blut keine Jodstärke-reaktion mehr gab, während die Menge des Zuckers im Blut erheblich gestiegen war. Diese Angaben konnten sämtliche Autoren, die sich später mit der gleichen Frage beschäftigten, im großen und ganzen bestätigen. So fand Cl. Bernard³⁾ nach Injektion von 1 g löslicher Stärke im Harn des Versuchstieres (Kaninchen) beträchtliche Mengen von Zucker, daneben aber auch Stärke, während er nach Injektion von Glykogen nur einmal einen stark reduzierenden Harn beobachtete. Schiff⁴⁾ verwandte bei seinen Versuchen außer Stärkekleister und Glykogen Dextrin und konstatierte im Harn neben Zucker in einzelnen Fällen auch Dextrin.

¹⁾ Mitteilung I, s. diese Zeitschr. 9, 10, 1908. — Mitteilung II s. Verhdl. d. 25. Kongr. f. inn. Med. 1908, 500.

²⁾ Magendie, Compt. rend. 23, 189, 1846.

³⁾ Cl. Bernard, Leçons sur le diabète, Paris 1877, S. 539

⁴⁾ Schiff, Journ. de l'Anat. et de Physiol. 3, 359, 1866.

Zu dem gleichen Resultat kamen Tiegel¹⁾, Tieffenbach²⁾ und ebenso Böhm und Hoffmann³⁾, deren Mittheilungen aber noch ein besonderes Interesse beanspruchen, da es ihnen gelang, nach intravenöser Injektion größerer Mengen Glykogen Achrodextrin im Blute nachzuweisen.

So sehr auch alle diese Versuche dafür sprachen, daß eine Saccharifizierung der Stärke im zirkulierenden Blut vor sich geht, so war durch sie doch noch nicht bewiesen, daß das diastatische Ferment im Blut selber präformiert ist, zumal bei jener Versuchsanordnung nicht ausgeschlossen war, daß sich an dem Abbau der Stärke nicht doch auch die Organe in irgend einer Weise beteiligt hatten. Diesen Mangel in der Beweisführung erkannte Schiff (l. c.) und suchte ihm durch folgende sinnreiche Versuchsanordnung zu begegnen: In die abgebundene Vene eines Kaninchens spritzte er eine Lösung von Glykogen ein und schloß durch eine zweite Ligatur das Gefäß auch nach der anderen Seite ab. Auf diese Weise befand sich das Glykogen in einer Blutsäule, die nach beiden Seiten hin völlig abgeschlossen war und die Beteiligung eines Organes unmöglich machte. Und auch in diesem Blute ließ sich einige Minuten später kein Glykogen mehr nachweisen; Schiff (l. c.) glaubte aber aus diesem Versuch schließen zu müssen, daß die diastatische Wirkung des Blutes das Symptom einer postmortalen Veränderung des Blutes ist. Er hatte nämlich außerdem noch beobachtet, daß, wenn er nach Verabfolgung von Glykogen oder Stärke dem Versuchstier Blut entnahm und in der einen Portion sofort, in der andern erst nach Verlauf von einigen Stunden den Zucker bestimmte, daß in der letzteren sich weit mehr Zucker nachweisen ließ als in der ersteren. Das Resultat dieser beiden Versuche erklärt er so, daß das Aufhören der Blutbewegung und die damit verbundenen Veränderungen im Blut der Anlaß seien für das Auftreten des diastatischen Fermentes. Ein ähnliche Anschauung vertraten Castellini und Paracca⁴⁾, welche annahmen, daß das diastatische Ferment in den Leukocyten enthalten ist und aus diesen bei deren Zerfall in Freiheit gesetzt wird.

Den definitiven Beweis, daß die Diastase sich normaliter im kreisenden Blute findet und nicht als das Produkt einer Absterbeerscheinung des Blutes oder des Zerfalls von Leukocyten aufzufassen ist, verdanken wir Röhm⁴⁾. Allerdings erbrachte er diesen Beweis nicht an dem Blute selber, sondern an der Lymphe — und zwar in folgender Weise: Aus einer Fistel des Ductus thoracicus bei einem Hunde wurde die Lymphe in 2 Portionen zu je 10 ccm aufgefangen, darauf in ein Lymphgefäß der Pfote eine 2- resp. 4%ige Lösung von Glykogen in 0,6%iger Chlornatriumlösung aus einer Bürette infundiert und wiederum

¹⁾ Tiegel, Pfügers Arch. 2, 249, 1872.

²⁾ Tieffenbach, zit. nach Böhm und Hoffmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmacol. 7, 489, 1877.

³⁾ Castellini und Paracca, Morgagni Ann. 36, 1894, zit. nach Maly 24, 159, 1894.

⁴⁾ Röhm, Pfügers Archiv 52, 157, 1892.

2 Portionen Lymphe zu je 10 ccm entnommen. Die Versuche ergaben jedesmal, daß nach der intralymphatischen Injektion von Glykogen der Prozentgehalt der Lymphe an Zucker beträchtlich stieg. Damit war bewiesen, daß in der zirkulierenden Lymphe ein diastatisches Ferment enthalten ist, welches die Saccharifikation des Glykogens bewirkt. Da nun aber die Lymphe sich konstant in das Blut ergießt, so konnte man weiterhin folgern, daß sich auch im kreisenden Blut normaliter ein wirksames diastatisches Ferment findet, und ferner, daß dieses Ferment nicht in dem corpusculären Element des Blutes, sondern im Serum zu suchen ist. Trotz dieses einwandfreien Beweises glaubte Cavazzani¹⁾ doch noch die Frage aufwerfen zu müssen, ob nicht irgend eine Beziehung besteht zwischen der Blutdiastase und den Bluteiweißkörpern; er konnte indes feststellen, daß die Diastase in keiner Weise von Serumalbumin resp. Globulin abhängig ist.

Bezüglich der Lokalisation der Diastase im Blut hatte Magendie (l. c.) zwar sofort angenommen, daß sie im Blutserum enthalten ist; Tiegel und Plósz²⁾ glaubten aber später sich davon überzeugt zu haben, daß die Diastase sich nicht im Blutplasma gelöst findet, sondern erst nach Zerstörung der roten Blutkörperchen in dieses übertritt. Und zwar sollte das Ferment nur während der Zerstörung der Erythrocyten nicht vorher und nicht nachher seine Wirksamkeit entfalten. Es würde zu weit führen, auf ihre ausgedehnten Untersuchungen, durch die sie ihre Behauptung zu stützen glaubten, des näheren einzugehen, zumal später Lépine und Barral³⁾ und nach ihnen Bial⁴⁾ den einwandfreien Beweis erbrachten, daß es tatsächlich das Serum ist, welches diastatisch wirkt, während die roten Blutkörperchen, wenn sie durch gründliches Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von allen Serumspuren befreit sind, absolut wirkungslos gegen Stärke- oder Glykogenlösung sind.

Neben der Erforschung der Eigenschaften und der Lokalisation der Diastase im Blut waren in letzter Zeit auch die Bestrebungen darauf gerichtet, die quantitativen Verhältnisse der Blutdiastase unter verschiedenen Bedingungen zu ermitteln.

Auf die diesbezüglichen Arbeiten soll erst bei der Mitteilung meiner eigenen Versuche des näheren eingegangen werden. Hier sei nur bemerkt, daß meine Untersuchungen, über die ich zum Teil auf dem Kongreß für innere Medizin in Wien (April 1908) berichtet habe, bereits seit einem Jahre abgeschlossen sind, aus äußeren Gründen aber die Publikation erst heute erfolgen kann.

¹⁾ Cavazzani, *Aroh. per le science med.* 18, Nr. 6, 1894, zit. nach *Maly* 24, 156, 1894.

²⁾ Tiegel und Plósz, *Pflügers Archiv* 7, 391, 1873.

³⁾ Lépine und Barral, *Compt. rend.* 113, 729, 1891.

⁴⁾ Bial, *Pflügers Archiv* 52, 137, 1892.

I. Methodisches.

Sämtliche Autoren, die sich der Aufgabe unterzogen, die diastatische Kraft des Blutes quantitativ zu bestimmen, verfahren in der Weise, daß sie Serum mit Stärke- resp. Glykogenlösung gewisse Zeit im Brutschrank digerierten, darnach das Reaktionsgemisch entweißten und im Filtrat die gebildete Menge reduzierender Substanz theils mittels Fehlingscher, theils mittels Knappscher Lösung titrimetrisch oder nach Allihn gewichtsanalytisch bestimmten. Diese Methodik leidet aber trotz ihrer Genauigkeit an zwei wesentlichen Mängeln. Einmal wird, wie Bial (l. c.) zeigen konnte, durch die bei dem fermentativen Prozeß entstehenden Abbauprodukte das Ferment in seiner Wirksamkeit ganz erheblich beeinträchtigt, und zweitens, was noch viel schwerer ins Gewicht fällt, geht mit der Bildung von Traubenzucker aus Stärke resp. Glykogen gleichzeitig eine Zerstörung des Traubenzuckers einher. Diese Glykolyse ist in erster Reihe gerade im Blute bereits von Claude Bernard beobachtet, von Lépine und seinen Mitarbeitern eingehend untersucht und ihre Existenz von allen, die sich der Nachprüfung dieses Phänomens unterzogen, bestätigt worden, wenn sich auch bezüglich ihrer Quantitäten vielfach Widersprüche im Laufe der weiteren Forschung ergaben (s. Fr. Kraus¹⁾ u. a.). Speziell diesen durch die Glykolyse bedingten Versuchsfehler haben aber alle Autoren übersehen, resp. nicht weiter beachtet — wenigstens findet sich in keiner einzigen Arbeit eine diesbezügliche Bemerkung — und doch kann er so wesentlich sein, daß alle bisher ermittelten Resultate ganz falsche Vorstellungen von den Quantitäten der Diastase im Blut erreichen können. Denn nehmen wir einmal an, daß in einem Falle die Diastase größer ist als sonst und gleichzeitig die Glykolyse so stark, daß große Menge des aus Stärke abgespaltenen Traubenzuckers spurlos verschwinden, so kann der Endeffekt für die Diastase — gemessen an der Menge des in der Lösung bei Unterbrechung des Versuches sich findenden Traubenzuckers — so klein sein, daß man gerade zu einem entgegengesetzten Resultat kommt, daß nämlich die Diastase weit geringer ist, als den wirklichen Tatsachen entspricht. Und ebenso das Gegenteil kann zutreffen, wenn beispielsweise die Diastasemengen verhältnismäßig klein sind und die Glykolyse äußerst schwach ist. Daß aber die glykolytische Kraft des Blutes außerordentlichen Schwankungen unterworfen ist, geht zur Evidenz aus den interessanten Untersuchungen von Fr. Kraus (l. c.) hervor. Kurzum, man ist stets Irrtümern unterworfen, wenn man mit Methoden arbeitet, bei denen der unbekannte Faktor der Glykolyse in Rechnung zu setzen ist.

Erste Bedingung war demnach, eine Methode zu schaffen, bei welcher jene beiden besprochenen Fehlerquellen von vornherein vollkommen ausgeschaltet waren. Eine solche war gegeben in der von mir ausgearbeiteten quantitativen Diastasebestimmung.

¹⁾ Fr. Kraus, Zeitschr. f. klin. Med. 21, 315, 1892.

Dieselbe mißt die diastatische Kraft nicht an der Menge der gebildeten Abbauprodukte, sondern bestimmt diejenige kleinste Diastasemenge, die noch imstande ist, 5 ccm einer 1^o/₁₀igen Stärkelösung innerhalb einer bestimmten Zeit bis zum Dextrin abzubauen. Zu dem Zwecke werden eine Reihe von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen des Serums beschickt, dazu je 5 ccm einer 1^o/₁₀igen Stärkelösung nebst etwas Toluol zur Verhütung bakterieller Wirkung gefügt und danach die Reihe auf 24 Stunden in den Brutschrank gebracht. Nach Ablauf der Frist werden sie herausgenommen, abgekühlt, mit Wasser bis fast zum Rande aufgefüllt und mit je 1 Tropfen ⁿ/₁₀-Jodlösung versetzt. Dasjenige Gläschen, in dem zuerst ein blauer Farbenton sich zeigt, gilt als Grenze (limes) der Wirksamkeit, und aus dem vorhergehenden wird dann die Stärke der diastatischen Kraft für 1 ccm Serum (D), in der von mir angegebenen Weise berechnet. Hierauf und auf andere Einzelheiten der Methodik, wie Herstellen der Lösungen usw., erübrigt es sich, näher einzugehen; darüber gibt meine erste Publikation ausführlichen Bescheid.

Wenn auch bei dieser Methodik die Wirkung der Glykolyse gar nicht in Betracht kam, so mußte doch noch erst gezeigt werden, daß auch die andere, oben besprochene Fehlerquelle, die Hemmung der Diastase durch Abbauprodukte, bei meiner Versuchsanordnung ebensowenig störend wirkte. Der Beweis hierfür wurde in folgender sehr einfacher Weise erbracht: Da jedes Röhrchen meiner Versuchsreihe 5 ccm einer 1^o/₁₀igen Stärkelösung, also 0,05 g Stärke enthält, so konnten bestenfalls hieraus 0,05 g Dextrin, oder 0,05 g Maltose, oder 0,05 g Traubenzucker, oder 0,05 g eines Gemisches aus Dextrin, Maltose + Traubenzucker entstehen. Es wurde nun in drei verschiedenen Versuchsreihen der Einfluß jener Menge Traubenzucker resp. Dextrin auf die Blutdiastase untersucht und mit der Kontrolle verglichen. Dabei ergab sich, so oft auch der Versuch wiederholt wurde, stets dasselbe Resultat, daß nämlich die Anwesenheit von 0,05 g Traubenzucker resp. Dextrin, resp. Maltose, resp. Dextrin + Maltose + Traubenzucker für den Ablauf des fermentativen Prozesses bei meiner Versuchsanordnung ohne jeden Einfluß auf das Resultat ist (s. Versuch 1 bis 3).

Nachdem so alle prinzipiellen Bedenken gegen unsere Methodik der Diastasebestimmung beseitigt waren, galt es zunächst einmal festzustellen, ob die Diastasemengen im Blut, je nachdem das Blut aus Arterien oder Venen stammt, Schwankungen unterworfen sind oder nicht. Zu dem Zwecke wurde Blut aus der Vena und Arteria femoralis, ferner aus der Carotis und Vena jugularis extr., aus der großen oberflächlichen Vene des Hinterbeines und aus der Ohrvene entnommen. Aus den größeren Venen und Arterien gewann ich das Blut mittels Glaskanüle oder einer Punktionsnadel, aus der Ohrvene durch Anschneiden des Gefäßes. Das Blut wurde durch Schlagen mit einem Glasstab defibriniert, nach Abscheidung des Gerinnsels zentrifugiert und das Serum zur Bestimmung der Diastase frisch verwandt. Es ergab sich, daß es für das Resultat ganz gleichgültig war, aus welcher Gefäßprovinz der Peripherie das Blut stammte, stets erhielt ich — abgesehen von minimalen Schwankungen — für ein und dasselbe Tier den gleichen Wert (s. Versuch 4 und 5). Über die Verteilung der Diastase in den tiefgelegenen Hauptgefäßen, speziell in der Vena portarum und Vena pancreatica habe ich zusammen mit Ehrmann Untersuchungen angestellt, über die ich im Anschluß an diese Arbeit besonders berichten werde.

Bei dieser Art der Vorbehandlung des frischen Blutes durch Schlagen mit einem Glasstab zwecks Defibrinierung konnte man daran denken, daß das entstehende Gerinnsel von dem im Blut enthaltenen Ferment ein gewisses Quantum an sich reißt und dieses dadurch dem Nachweis entzieht. Denn ich hatte schon früher die Beobachtung gemacht, daß, wie proteolytische Fermente von der Fibrinflocke adsorbiert werden, ebenso auch das diastatische sich auf die Fibrinflocke niederschlägt; allerdings handelte es sich stets um verhältnismäßig recht geringe Mengen. Immerhin schien es geboten, festzustellen, ob bei einem großen Gerinnsel der Verlust des Serums an Diastase doch nicht so groß war, daß er das Endresultat wesentlich beeinflusste. Es wurde darum zunächst die Menge der Diastase des Plasmas mit der des Serums verglichen. Zur Plasmabereitung verwandte ich Hirudin, nicht Fluornatrium oder Magnesiumsulfat, weil beide Salze, besonders das erstere, wie ich bereits früher feststellen konnte (s. Mitteilung I, S. 40,

Versuch 23) die Diastase in ihrer Wirkung ganz erheblich hemmten. Die Versuche ergaben, daß Plasma und Serum keinen merklichen Unterschied bezüglich ihres Diastasegehaltes zeigten (s. Versuch 6 und 7). Sodann wurde kontrolliert, ob vielleicht die Größe des Gerinnsels an sich von Einfluß auf die Diastasemenge ist. Zu diesem Zwecke wurde bereits defibriniertes Blut noch mehrmals mit Fibrinflocken behandelt und danach seine diastatische Kraft geprüft. Es zeigte sich aber, daß selbst stundenlanges Behandeln des geschlagenen Blutes mit Fibrin keine merkliche Abnahme der Diastasemenge bedingt (s. Versuch 8 und 9). Eine Zunahme des Serums an Diastase bei längerem Verreiben des Coagulums im Serum, wie Castellini und Paracca (l. c.) sie beschreiben, habe ich niemals beobachten können.

Als letzte Frage bezüglich der Methodik blieb zu beantworten, ob der Gehalt des Blutes an Diastase sich ändert, wenn man das abzentrifugierte Serum erst einige Stunden nach der Blutentnahme untersucht. Weiß man doch beispielsweise vom Fibrinferment im Serum, daß es schon nach kurzem Stehen in eine inaktive Form übergeht. Es stellte sich nun heraus, daß es ganz gleichgültig ist, ob man das Serum sofort oder nach 24 Stunden oder nach einer Woche oder gar nach mehreren Monaten auf sein diastatisches Vermögen prüft, stets erhält man den nämlichen Wert wie im frisch verarbeiteten Serum. Man muß nur die eine Bedingung erfüllen, daß man im Serum das Auftreten von Fäulnis zu verhindern sucht. Das ist aber sehr leicht zu erreichen, wenn man das Serum unter Toluol hält. So aufbewahrt, bleibt es bezüglich seines diastatischen Vermögens monatelang vollkommen unverändert. Dabei ist es, wie ich in besondern Versuchen feststellen konnte, nicht einmal notwendig, daß man das Serum im Eisschrank aufbewahrt; selbst Zimmertemperatur war ohne jeden Einfluß hierauf (siehe Versuch 10 und 11).

II. Über die Mengenverhältnisse der Blutdiastase bei normalen Tieren.

Bezüglich der Diastasemengen im Blut bestehen erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Tierspezies. Das hat bereits Cavazzani (l. c.) erkannt. So fand er, daß die saccharifizierende Kraft des Plasmas

bei Omnivoren (Hund, Katze, Schwein) viel größer ist als bei Herbivoren (Kaninchen, Kalb, Rind), und daß sie bei Vögeln ziemlich so groß ist wie bei den ersteren; er führte diese Differenzen auf die Verschiedenheit im Verdauungsvermögen zurück, das am größten bei den Omnivoren, am geringsten bei den Herbivoren ist. Beim Menschen fand Bial (l. c.) die diastatische Kraft des Blutes sehr mäßig.

Ich selber habe schon früher¹⁾ in 30 verschiedenen Fällen menschliches Blut auf seinen Diastasegehalt untersucht und ihn äußerst schwankend gefunden; großen Werten wie beispielsweise beim Hund bin ich aber niemals begegnet. Zu dem gleichen Resultat kam später Schlesinger²⁾. Ich untersuchte ferner das Serum von Rind, Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen und Hund. Es ergab sich, daß die geringsten Mengen an Blutdiastase Rind und Ziege aufzuweisen haben, etwas mehr das Kaninchen, während Meerschweinchen und Hund die höchsten Werte lieferten (s. Versuch 12 bis 17). Was das Verhalten der Diastase im Ziegenblut anbetrifft, so sei noch auf eine besonders interessante Beobachtung hingewiesen, die demnächst Gegenstand weiterer experimenteller Untersuchungen sein wird. Ich hatte zufällig Gelegenheit, das Blut einer Ziege zu untersuchen, der von Prof. Blumenthal vor länger als 1 Jahr die Schilddrüse extirpiert war. Das Tier war stark gedunsen, fraß aber ganz normal und zeigte auch sonst keine Symptome schlechten Befindens. Das Serum dieses Tieres habe ich im ganzen viermal zu verschiedenen Zeiten untersucht und gefunden, daß die Blutdiastase auf den achten Teil des normalen Wertes zurückgegangen war. Wenn auch an der Richtigkeit dieses Befundes nicht gezweifelt werden kann, so möchte ich mich doch nicht eher in eine Diskussion über diesen Punkt einlassen, als bis diese interessante Tatsache durch weitere experimentelle Beobachtungen gestützt ist.

Für meine weiteren Untersuchungen wählte ich als Versuchstier den Hund in erster Reihe, weil mir daran lag, das Verhalten der Blutdiastasen speziell im Pankreasdiabetes genau zu untersuchen; beim Studium des Phloridzin-, Phloretin- und Adrenalindiabetes kamen auch bisweilen Kaninchen zur Untersuchung.

¹⁾ J. Wohlgemuth, Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte, Dresden 1907.

²⁾ W. Schlesinger, Deutsche med. Wochenschr., Februar 1908.

Bevor ich aber diese Fragen in Angriff nahm, galt es ein für allemal festzustellen, ob beim normalen Hund die Diastasemengen im Blut stets konstant oder mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen sind, je nach dem Ernährungszustand (nüchtern, reichliche Fütterung, langes Hungern) und je nach der Art der Ernährung (Eiweiß, Kohlenhydrate). Wissen wir doch beispielsweise von der Pflanze, daß während der Assimilation sich große Mengen an diastatischem Ferment in ihr finden, daß aber beim Aufhören der Assimilationsvorgänge dieselben fast vollkommen verschwinden. Auf diese Weise glaubte ich auch s. Zt. meine frühere Beobachtung über die Schwankungen der Diastase im Menschenblut erklären zu müssen.

Zunächst wurde untersucht, ob Hunde im nüchternen Zustand einen andern Gehalt an Diastase im Blut aufzuweisen haben als nach reichlicher Nahrungsaufnahme. Zur Verwendung kamen 3 Tiere, denen nüchtern aus der großen Vene eines der Hinterbeine mittels einer Punktionsnadel Blut entnommen wurde. Danach wurden die Tiere mit Fleisch gefüttert und 2, 3 und 4 Stunden später — also im Stadium besonders gesteigerter Pankreastätigkeit — abermals Blut aus derselben Stelle entzogen. Dieser Versuch wurde an jedem Tier mehrmals wiederholt stets mit dem nämlichen Resultat, daß nach der Fütterung der Diastasegehalt des Blutes annähernd der gleiche ist wie vor der Fütterung (s. Versuche 18 bis 20).

Sodann konnte man daran denken, daß vielleicht die Art der Ernährung von Einfluß auf die Diastasemengen im Blut ist. Wissen wir doch, daß das Pankreas nach Brotnahrung viel reichlicher sezerniert als nach Fleisch- und Fettnahrung. Für jene Vermutung schienen auch der Befund von M. Ascoli und A. Bonfanti¹⁾ zu sprechen, daß das Serum von Menschen, die mit Kartoffeln und Reis ernährt waren, besser die Stärke spaltet als das entsprechende anders ernährter Personen. Zu dem Zwecke wurden 3 Hunde 14 Tage lang ausschließlich mit Kartoffeln, Brot und etwas Gemüse ernährt und zur Kontrolle 2 Hunde ebenso lange ausschließlich mit Fleisch. Zu verschiedenen Zeiten wurde ihnen Blut entnommen und auf seinen Diastasegehalt untersucht. Niemals

¹⁾ Ascoli und Bonfanti, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 33, S. 1466.

zeigte sich bei ihnen — abgesehen von geringen auch in der Norm vorkommenden Schwankungen — gegenüber den Kontrollhunden ein Unterschied (s. Versuche 21 bis 25).

Endlich schien es von Wichtigkeit, festzustellen, ob größere Hungerperioden von Einfluß auf die Menge der Blutdiastase sind. Denn man konnte a priori daran denken, daß, da beim Hunger die Tätigkeit der großen Verdauungsdrüsen darniederliegt und die Masse der Muskulatur stark reduziert wird, auch schließlich die Diastase im Blut allmählich abnehmen würde. Überdies schienen auch die Versuche im Hinblick auf die späteren Untersuchungen an pankreaslosen Hunden aus dem Grunde geboten, weil beim Pankreasdiabetes bekanntlich sich die Hunde im Stadium ausgesprochener Inanition befinden und innerhalb kurzer Zeit gewaltig an Körpergewicht verlieren. Ich ließ deshalb 2 Hunde 20 Tage bei Wasser, 2 Hunde 14 Tage ohne Wasser hungern. Die Tiere hatten am Schluß der Hungerperiode fast $\frac{1}{2}$ ihres ursprünglichen Körpergewichtes verloren. Trotzdem zeigten sämtliche 4 Versuchstiere während der ganzen Versuchsdauer keine Änderung in dem Diastasegehalt des Blutes (s. Versuche 26 bis 29).

III. Einfluß des Pankreas auf die Blutdiastase.

In früheren Versuchen war zwar festgestellt worden, daß auf dem Höhepunkt der Verdauung die Menge der Blutdiastase keinen erheblichen Unterschied zeigt gegenüber der des nüchternen Tieres. Trotzdem schien es wünschenswert, die Verhältnisse genauer zu untersuchen nach spezifischer Anregung der Pankreastätigkeit. Hierfür stehen uns zwei Mittel zur Verfügung: die Salzsäure und das Secretin. Die Versuche wurden an 3 Hunden ausgeführt, bei denen der Diastasegehalt bekannt war. Sie erhielten mittels Schlundsonde 100 ccm $\frac{n}{10}$ -HCl. und eine halbe resp. 1 Stunde später wurde ihnen Blut aus der Vene des Hinterbeines entnommen. So oft auch der Versuch wiederholt wurde, stets zeigte sich derselbe Wert wie im nüchternen Zustand (s. Versuche 30 u. 31). Von dem gleichen Resultat begleitet waren die Versuche mit Secretin, das nach der Vorschrift von Bayliss und Starling¹⁾ aus Dünndarmschleim-

¹⁾ Bayliss und Starling, Journ. of physiol. 28, 325, 1902.

haut des Hundes gewonnen war; auch hier ergab sich keine Änderung gegenüber dem Diastasegehalt des nüchternen Hundebutes, obwohl jedes Mal das Blut $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$ und 2 Stunden nach der Secretininjektion untersucht wurde (s. Versuch 32 u. 33). Es sprechen demnach auch diese Versuche dafür, daß gesteigerte Pankreastätigkeit ohne nennenswerten Einfluß auf die Mengen der Blutdiastase ist.

Unterbindung der Ausführungsgänge des Pankreas ruft bekanntlich eine Vermehrung der Diastase im Blut hervor. Das haben bereits Lépine und Barral¹⁾ festgestellt, nachdem schon vorher Rosenberg²⁾ in Grützners Laboratorium einen Zuwachs an Diastase im Urin nach Gangunterbindung konstatiert hatte. Ich habe diese Beobachtung ebenso wie Schlesinger bestätigen können. Diese Vermehrung der Blutdiastase hat man sich so zu erklären, daß durch die Unterbindung der Ausführungsgänge der Pankreasdrüse eine Rückstauung des Sekretes stattfindet und dadurch eine Resorption und ein Übertreten in die Blutbahn bedingt wird, ähnlich wie die Unterbindung des Ductus choledochus eine Stauung und Resorption der Galle zur Folge hat. Die Steigerung der Blutdiastase ist in der Regel eine ganz enorme; so habe ich mitunter nach Gangunterbindung Werte beobachtet, welche die normalen Zahlen um das 70- bis 100fache übertreffen (Versuch 36). Die Zunahme beobachtet man nicht sofort nach der Unterbindung, sondern erst nach Verlauf von mehreren Stunden. In einem Falle war schon nach 3 Stunden eine Vermehrung der Blutdiastase zu konstatieren, in drei weiteren nach 4 Stunden u. s. f.; nach spätestens 12 Stunden ließ sich in sämtlichen Fällen ein Zuwachs feststellen (s. Versuch 34 u. 35). Diese Zunahme hält verschieden lange an und ist nach meinen Beobachtungen nicht immer abhängig von der Größe des Versuchstieres. In einem Falle verstrichen 20 Tage, bis das Blut den gleichen Diastasewert zeigte, wie vor der Operation (s. Versuch 37). Die kürzeste Frist betrug bei einem kleinen Hund 4 Tage (s. Versuch 38). Bei Kaninchen, an denen ich ebenfalls die Unterbindung mehrfach ausführte, ver-

¹⁾ Lépine und Barral, Compt. rend. 118, 729, 1891.

²⁾ Rosenberg, Inaug.-Dissert., Tübingen 1890.

gingen im Durchschnitt 4 bis 5 Tage, bis die Blutdiastase sich wieder in normalen Grenzen bewegte. Fernerhin machte ich die interessante Beobachtung, daß, wenn man Hunde nach der Unterbindung der Gänge weiter hungern läßt, die Blutdiastase trotzdem zunimmt und zwar in fast dem gleichen Umfang, wie wenn man sie hinterher reichlich füttert (s. Versuch 39 u. 40). Das scheint doch dafür zu sprechen, daß das Pankreas, auch während des Hungerns, sekretorisch tätig ist. Diese Schlußfolgerung steht zwar in Widerspruch zu den bisherigen Erfahrungen an Pankreasfistelhunden; es dürfte aber kaum eine andere Erklärung für die sicher beobachtete Vermehrung der Blutdiastase nach Gangunterbindung bei Hungerhunden als die von mir gegebene zutreffen.

Die bisherigen Befunde wurden ausschließlich an solchen Hunden erhoben, denen beide Ausführungsgänge des Pankreas nach dem Darm unterbunden waren. Unterbindet man nur einen Ausführungsgang, so beobachtet man auch dann für gewöhnlich eine erhebliche Vermehrung der Blutdiastase, die aber nicht so lange anhält, wie wenn beide Gänge unterbunden waren. Es kann aber auch vorkommen, daß nach der Unterbindung und Durchschneidung eines Ganges die Diastase im Blut überhaupt nicht gesteigert ist, wie ich das in einem Falle feststellen konnte. Für diesen Fall ist man zu der Annahme gezwungen, die auch bereits durch histologische Befunde gestützt ist, daß der unterbundene Ausführungsgang mit dem offen gebliebenen innerhalb der Drüse kommuniziert und es auf diese Weise zu einer Sekretstauung in der Drüse nicht kommt. Wie die Zunahme der Blutdiastase nach Gangunterbindung zu erklären ist, habe ich oben auseinandergesetzt. Nicht so einfach dürfte es sein, eine zutreffende Erklärung für die später eintretende Abnahme der Blutdiastase und Rückkehr zur Norm zu finden. Man könnte zunächst daran denken, daß die Niere die überflüssigen Mengen an Diastase aus dem Blut herausbefördert und auf diese Weise für eine normale Konzentration im Blut gesorgt wird. Das trifft aber nur teilweise zu. Denn so lange die Diastase im Blut vermehrt ist, so lange ist auch die Diastase-menge im Urin gesteigert, kehrt aber der Blutdiastasegehalt wieder zur Norm zurück, so ist auch die Diastase im Harn wieder normal. Dieser Punkt, der übrigens noch nach anderen

Richtungen von mir weiterhin verfolgt ist, soll uns später noch einmal ausführlich beschäftigen. Die Erklärung also, daß die überschüssige Diastase konstant durch die Nieren aus dem Blute eliminiert und auf diese Weise schließlich eine normale Diastasekonzentration gesetzt wird, kann nicht zutreffen, da mit der Diastase im Blut gleichzeitig auch die Diastase im Urin zur Norm zurückkehrt. Weiterhin wäre daran zu denken, daß die großen Diastasemengen, mit denen das Blut förmlich überschwemmt wird, zum Teil in den Organen zurückgehalten und hier irgendwie in den Zellen gebunden werden. Dann müßte man in ihnen nach Gangunterbindung und nach gründlicher Durchspülung mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur Entfernung der letzten Blutspuren einen vermehrten Gehalt an diastatischem Ferment nachweisen können. Diese Untersuchung ist bisher noch nicht ausgeführt worden. Eine dritte Möglichkeit wäre die — und diese scheint mir die wahrscheinlichste zu sein —, daß nach Unterbindung der Gänge infolge Fortfalls des reflektorischen Reizes vom Darm aus die zunächst in normaler Weise vor sich gehende äußere Sekretion schließlich vollkommen sistiert, so daß, da kein Pankreassaft mehr sezerniert wird, auch nichts mehr zur Resorption kommt. Damit stimmen auch die mikroskopischen Befunde überein, die man nach Gangunterbindung am Pankreas erheben konnte. Es zeigt sich nämlich, daß, sobald die äußere Sekretion des Pankreas infolge eines mechanischen Hindernisses vollkommen darniederliegt, auch die Drüsenzellen mit Ausnahme der Langerhansschen Inseln atrophieren [Visentini¹⁾].

Es war nun von Interesse, festzustellen, wie sich die Diastasemengen im Blut verhalten, wenn ein Teil des Pankreas exstirpiert wird. A priori konnte man daran denken, daß ein solcher Eingriff eine Abnahme der Diastase zur Folge hat. Es wurde nun in verschiedenen Versuchen je $\frac{1}{3}$ bis $\frac{3}{4}$ des Gesamtvolumens vom Pankreas exstirpiert und danach das Blut auf seinen Gehalt an Diastase geprüft. Statt der erwarteten Abnahme ergab sich im Gegenteil in sämtlichen Fällen eine deutliche Vermehrung. Diese Zunahme hielt einige (bis 3) Tage an, verschwand dann aber wieder. Im weiteren Verlauf zeigten

¹⁾ A. Visentini, Virchows Archiv 195, 554, 1909.

sich dann niemals wieder wesentliche Schwankungen (s. Versuch 41, 42). Wie soll man sich nun diese Zunahme erklären? Am einfachsten, glaube ich, so, daß bei der partiellen Exstirpation infolge der Durchschneidung der Drüse einzelne Pankreaspartien ihr Sekret nicht in den Darm entleeren konnten, da bei der Abschneidung des Stumpfes gleichzeitig auch der Gang, durch den das Sekret in den Hauptausführungsgang gelangt, von der Kommunikation mit dem Darm abgeschlossen war, ähnlich wie bei der Unterbindung der Pankreasausführungsgänge. Da aber die von der äußeren Sekretion ausgeschlossene Drüsenpartie nur gering war, so war dementsprechend auch die Vermehrung der Diastase nicht so erheblich, wie wir sie nach Gangunterbindung beobachtet haben. Man kann ferner daran denken, daß bei der Durchschneidung einzelne Pankreaspartikelchen, von der Zirkulation abgeschnitten, der Autolyse verfallen, zur Resorption kommen und bei dem enorm hohen Diastasegehalt des Pankreasgewebes selbst auch auf diese Weise die Diastase im Blut vermehren können.

Was nun den Einfluß der totalen Pankreasexstirpation anbetrifft, so habe ich denselben an einer Reihe von Hunden auf das sorgfältigste untersucht. Bevor ich auf die Resultate näher eingehe, sei mitgeteilt, daß sämtliche früheren Autoren zu dem Ergebnis gekommen waren, daß Totalexstirpation des Pankreas eine Abnahme der Blutdiastase zur Folge hat. So beobachteten Lépine und Barral¹⁾, Kaufmann²⁾ u. a., daß bei pankreaslosen Hunden die Diastase des Blutes gegenüber der Norm wesentlich zurückgeht. Da sie aber mit der alten Methode der Zuckerbestimmung ihre Resultate ermittelt hatten, so konnte man immerhin an der Richtigkeit der Beobachtung zweifeln. Im ganzen untersuchte ich das Blut von 10 Hunden, denen in einer Sitzung das Pankreas exstirpiert war (s. Versuche 43 bis 48). Einer starb bereits nach 24 Stunden, einer nach 36 Stunden, drei andere nach 48 Stunden, einer nach 4 Tagen, 2 nach 7 Tagen, einer nach 10 Tagen, 1 nach 30 Tagen und 1 nach 6 Wochen. In sämtlichen 10 Fällen habe ich niemals eine so beträchtliche Abnahme der Blutdiastase feststellen können, wie sie von den anderen Autoren,

¹⁾ Lépine und Barral, Rev. de méd. 1892, 488.

²⁾ Kaufman, Compt. rend. soc. biolog. 40, 130, 1895.

speziell von Schlesinger (l. c.), berichtet wird. Es kam vor, daß die Diastasewerte deutlich unter die Norm herabsanken, aber dann wiederum wurde auch beobachtet, daß sie bald zur Norm zurückkehrten. Besonders klar geht das aus dem Versuch hervor, bei dem das pankreaslose Tier 6 Wochen die Operation überlebte. Hier untersuchte ich jeden zweiten Tag mit nur wenigen Ausnahmen das Blut und fand in den ersten 18 Tagen die üblichen Schwankungen innerhalb normaler Grenzen, alsdann eine geringe Abnahme während der Dauer von 3 Tagen und schließlich von der 5. Woche ab wieder normale Werte bis zum Tode des Tieres. In einem einzigen Falle allerdings — es betraf ein Tier, das 3 Wochen nach der Totalexstirpation durch Entbluten getötet wurde und das ich bisher nie zu untersuchen Gelegenheit hatte — fand ich in diesem Blut einen Wert, der nur $\frac{1}{4}$ des Normalwertes ($D_{24h}^{38c} = 40$) betrug. Hier war also tatsächlich eine beträchtliche Abnahme der Blutdiastase zu konstatieren. Da ich aber das Tier weder vor der Operation noch nach der Exstirpation je auf seinen Diastasegehalt prüfen konnte und es überdies zahlreiche Eiterungen infolge von diversen, zu andern Zwecken unternommenen Injektionen an den verschiedensten Körperstellen aufwies und die letzten 8 Tage gar keine Nahrung mehr zu sich nahm, so möchte ich diesem Befund keine große Bedeutung beilegen. Ich komme somit, entgegen den bisherigen Behauptungen, zu dem Schluß, daß die Pankreasexstirpation wohl mitunter zu einer recht beträchtlichen Abnahme der Diastase im Blut führen kann, keineswegs aber in jedem Falle unbedingt zu einer solchen führen muß. Am allerwenigsten dürfte die Behauptung von Schlesinger zutreffen, daß sich schon 24 resp. 48 Stunden nach der Exstirpation eine Abnahme der Blutdiastase bis auf $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Wertes konstatieren läßt. Wenigstens habe ich das bisher in keinem einzigen Falle beobachten können.

IV. Einfluß von Adrenalin, Phloridzin und Phloretin auf die Mengen der Blutdiastase.

Im Anschluß hieran untersuchte ich den Einfluß von Adrenalin, Phloridzin und Phloretin auf die Diastase im Blut. Als Versuchstiere verwandte ich hier zum Teil Hunde, zum Teil

wurden die Versuche, wie beispielsweise mit Adrenalin, vorwiegend an Kaninchen vorgenommen.

Was zunächst den Einfluß des Adrenalins anbetrifft, so konnte in keinem einzigen Falle weder eine Vermehrung noch eine Verminderung der Diastase im Blut konstatiert werden (s. Versuche 49 bis 51). Auch nach Injektionen von Phloridzin war im Gegensatz zu Lépine und Barral¹⁾, die angaben, eine Vermehrung der Diastase im Blut gefunden zu haben, weder bei Hunden noch bei Kaninchen eine Änderung im Diastasegehalt des Blutes zu beobachten (s. Versuche 52 bis 54). Und ebensowenig vermochte Phloretin die Diastasemenge im Blut in dem einen oder andern Sinne zu beeinflussen (s. Versuche 55 bis 57).

Endlich habe ich noch eine interessante Angabe von Lépine und Barral (l. c.), wonach Asphyxie zu einer Abnahme der Diastase im Blut führen soll, der Nachprüfung unterzogen. Die Versuche wurden an 3 Hunden ausgeführt (s. Versuche 58 bis 60). Den Tieren wurde eine Kanüle in die Trachea eingebunden und durch Abschluß der Kanüle mittels eines Schlauches und einer Klemme die Luftzufuhr auf ein Minimum beschränkt. Gleichzeitig wurden aus der Arteria femoralis, in die eine Glas-kanüle eingebunden war, in Zwischenräumen von 10 Minuten kleine Mengen Blut entnommen und auf ihren Gehalt an Diastase untersucht. In sämtlichen Portionen zeigte sich niemals die Spur einer Abnahme; die Diastase hielt sich vom Beginn bis zum Schluß des Versuches stets in normalen Grenzen.

V. Über die Herkunft der Diastase im Blut.

Für die Frage von der Herkunft der Diastase im Blut hat man sich schon seit der Entdeckung der Diastase lebhaft interessiert.

Schiff (l. c.) glaubte, wie wir bereits oben auseinandergesetzt haben, daß die diastatische Wirkung des Blutes nichts anderes sei als eine post-mortale Erscheinung des stagnierenden Blutes. Castellini und Parracca (l. c.) nahmen an, daß sie ihren Ursprung den zerfallenden weißen Blutkörperchen verdanke, während Plósz und Tiegel (l. c.) die roten Blutkörperchen als die Quelle der Blutdiastasen ansahen. Nachdem aber Röhmann (l. c.) gezeigt hatte, daß die diastatische Wirkung eine Eigen-

¹⁾ Lépine und Barral, Compt. rend. 113, 1014, 1891.

schaft zirkulierender Lymphe, also auch des zirkulierenden Blutes ist, und Lepine und Barral (l. c.) und später Bial (l. c.) nachgewiesen hatten, daß sie sich nicht in den corpusculären Elementen des Blutes, sondern im Serum findet, lag es nahe, die Quelle der Blutdiastase nicht im Blute selber, sondern in jenen Organen zu suchen, die in ihrem Sekret ständig große Mengen an Diastase nach außen hin entleeren. So behaupteten denn auch neuerdings Loeper und Ficai (l. c.), daß die Diastase im Blut nichts anderes ist als die Diastase, welche vom Pankreas in den Darm sezerniert, wieder resorbiert wird, und auf dem Wege der Vena portarum in den Blutkreislauf gelangt. Und zwar stützten sich jene Autoren einmal auf die Angabe von Cavazzani, daß sich im Blute der Vena portarum größere Mengen an diastatischem Ferment finden als in dem Blut aus anderen Gefäßbezirken, und zweitens auf die eigene Beobachtung, daß nach Unterbindung der Ausführungsgänge des Pankreas — also nach dem Aufhören des Sekretflusses zum Darm — die Diastase im Blut ganz beträchtlich abnimmt. Diese letztere Behauptung ist aber sicherlich nicht richtig; denn wie aus meinen obigen Ausführungen hervorgeht, war auch nicht in einem einzigen Falle nach Gangunterbindung eine Abnahme der Diastase im Blut zu konstatieren, sondern im Gegenteil stets eine ganz beträchtliche Zunahme, nach deren Verschwinden die Tiere wieder vollkommen normale Quantitäten an Blutdiastase zeigten. Und was die Angabe von Cavazzani anbetrifft, daß das Blut der Vena portarum reicher an Diastase ist als das Blut aus anderen Gefäßbezirken, so trifft, wie ich im Verein mit Kollegen Ehrmann feststellen konnte und in der folgenden Arbeit berichten werde, auch diese keineswegs zu.

Wenn nun auch die äußere Sekretion der Pankreasdrüse als Quelle für die Blutdiastase nicht in Betracht kommen kann, so muß man immer noch an die Möglichkeit denken, daß vielleicht auf dem Wege der inneren Sekretion größere Mengen an diastatischem Ferment vom Pankreas dem Gesamtblut zugeführt werden. Auch diesem Gedanken bin ich zusammen mit Ehrmann nachgegangen und werde in der folgenden Arbeit ausführlich über die Ergebnisse berichten. Sie waren jedenfalls nicht derartig, daß man, wie Schlesinger (l. c.) auf Grund eigener Untersuchungen dies tut, daraus schließen könnte, daß das diastatische Ferment des Blutes ausschließlich oder wenigstens zum allergrößten Teil aus dem Pankreas stammt. Das geht auch schon per exclusionem aus den obigen Versuchen mit totaler Pankreasextirpation hervor. Denn würde tatsächlich das Pankreas ausschließlich die Diastase für das Blut liefern, so müßte nach der Totalexstirpation in jedem einzelnen Falle die Diastase schließlich aus dem Blute gänzlich

verschwinden oder zum mindesten auf ein Minimum reduziert sein. Das erstere ist aber bisher noch nie beobachtet worden; und was die Verminderung der Diastase im Blut nach Pankreasextirpation anbetrifft, so geht aus meinen Versuchen hervor, daß sie keineswegs in jedem Falle in erheblichem Maße einzutreten braucht, am allerwenigsten in einem solchen Umfange, wie man auf Grund der früheren Untersuchungen anzunehmen geneigt war.

Ich komme demnach zu dem Schluß, daß, wenn auch das Pankreas bis zu einem gewissen Grade als Quelle für die Diastase in Betracht kommt, doch keinesfalls ausschließlich von ihm das Blut mit Diastase versorgt wird. Vielmehr glaube ich, daß daran noch eine Reihe anderer Organe beteiligt sind. In erster Linie denke ich an jene, die ebenso wie das Pankreas in ihrem Sekret Diastase enthalten, wie die Speicheldrüsen, die Darmschleimhaut und die Leber. Ferner dürften sich aller Wahrscheinlichkeit nach noch alle diejenigen Organe an der Versorgung des Blutes mit diastatischem Ferment beteiligen, in deren Zellen man Glykogen antrifft, also beispielsweise die Muskeln; denn wo Glykogen sich findet, dort ist auch diastatisches Ferment vorhanden. Und ich glaube, daß die Zelle ebenso, wie sie ihr Glykogen oder ihren Zucker oder irgend ein anderes Stoffwechselprodukt an das Blut abgibt, auch mit dem diastatischen Ferment verfährt, das doch schließlich auch nichts anderes ist, als ein Stoffwechselprodukt der Zelle.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Bei der von mir angegebenen Methode der Diastasebestimmung kommt eine Hemmung der Fermentwirkung durch eine kleine Menge der Abbauprodukte der Stärke (Dextrin, Maltose, Glucose) nicht in Betracht.

2. Die diastatische Kraft des Serums ist genau so stark, wie die des Plasmas (Hirudinplasma).

3. Die Größe des beim Schlagen des Blutes sich bildenden Gerinnsels ist ohne Einfluß auf die Diastasemenge im Blut; eine nochmalige Behandlung des Serums mit Fibrin bedingt keine merkliche Verminderung seines Diastasegehaltes.

4. Die diastatische Kraft bleibt dem Serum monatelang in uneingeschränktem Maße erhalten, sofern man nur durch Zusatz von Toluol vor Fäulnis schützt.

5. Der Gehalt des in den oberflächlichen Gefäßen fließenden Blutes an Diastase ist überall annähernd der gleiche.

6. Die geringsten Mengen an Diastase finden sich im Blute von Mensch, Rind und Ziege, etwas größere beim Kaninchen, die höchsten Werte beim Meerschweinchen und beim Hund.

7. Der nüchterne Hund enthält in seinem Blut ebensoviel Diastase wie der reichlich gefütterte.

8. Die Art der Nahrung ist ohne wesentlichen Einfluß auf den Diastasegehalt des Blutes.

9. Längere Hungerperioden bedingen ebenfalls keine erhebliche Änderung im Diastasegehalt des Blutes.

10. Spezifische Anregung der Pankreastätigkeit durch Salzsäure und Secretin ist gleichfalls ohne sichtlichen Einfluß.

11. Unterbindung beider Ausführungsgänge des Pankreas führt zu einer gewaltigen Vermehrung der Diastase im Blut.

12. Dieselbe beginnt bereits 3 bis 5 Stunden nach der Unterbindung, erreicht schon nach 24 Stunden ihr Maximum, hält sich mehrere Tage auf der nämlichen Höhe und kehrt durchschnittlich nach 6 bis 8 Tagen, mitunter auch später, zur Norm zurück.

13. Die Vermehrung der Diastase nach Gangunterbindung tritt auch ein, wenn die Tiere nach der Operation lange Zeit ohne Nahrung bleiben.

14. Unterbindung eines Ganges allein führt ebenfalls zu einer Vermehrung der Diastase im Blut; dieselbe ist aber nicht so beträchtlich und hält auch kürzere Zeit an.

15. Partielle Pankreasexstirpation kann mit einer deutlichen Vermehrung der Diastase im Blute einhergehen.

16. Totale Pankreasexstirpation kann eine erhebliche Abnahme der Blutdiastase zur Folge haben, bedingt aber keineswegs in jedem einzigen Falle ein beträchtliches Schwinden der Diastasmengen im Blut.

17. Bei Adrenalinglucosurie ist die Diastase im Blut weder verringert, noch vermehrt.

18. Ebensowenig beim Phloridzin- und Phloretindiabetes.

19. Asphyxie bedingt keine Vermehrung der Diastase im Blut.

20. Die Diastase im Blut stammt nicht ausschließlich aus dem Pankreas, sondern Darm, Speicheldrüsen, Leber, Muskeln und Nieren sind gleichfalls an der Versorgung des Blutes mit Diastase beteiligt.

Vorliegende Untersuchungen sind mit Mitteln ausgeführt, die mir das Kuratorium der Gräfin-Bose-Stiftung gütigst zur Verfügung stellte.

Experimenteller Teil.

I.

Wird der diastatische Prozeß beim Reihenversuch durch die dabei entstehenden Abbauprodukte der Stärke wie Dextrin, Maltose und Traubenzucker ungünstig beeinflusst?

Versuch 1. (Kaninchenserum.)

Serum	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 10% iger Glucoselösung = 0,05 g Glu- cose	+ 0,5 ccm 10% iger Maltoselösung = 0,05 g Mal- tose	+ 0,5 ccm 10% iger Dextrinlösung = 0,05 g Dex- trin	+ 0,5 ccm 10% iger Gemisches von G + M + D = 0,05 g G + M + D
1 = 0,2	+	+	+	+	+
2 = 0,128	+	+	+	+	+
3 = 0,08	limes	limes	limes	limes	limes
4 = 0,05	—	—	—	—	—
5 = 0,032	—	—	—	—	—
6 = 0,02	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38^{\circ}}$ =	39	39	39	39	39

Versuch 2. (Hundeserum.)

Serum	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 10% iger Glucoselösung = 0,05 g Glu- cose	+ 0,5 ccm 10% iger Maltoselösung = 0,05 g Mal- tose	+ 0,5 ccm 10% iger Dextrinlösung = 0,05 g Dex- trin	+ 0,5 ccm 10% iger Gemisches von G + M + D = 0,05 g G + M + D
1 = 0,1	+	+	+	+	+
2 = 0,064	+	+	+	+	+
3 = 0,04	+	+	+	+	+
4 = 0,025	+	+	+	+	+
5 = 0,016	limes	limes	limes	limes	limes
6 = 0,01	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38^{\circ}}$ =	200	200	200	200	200

Versuch 3. (Ziegenserum.)

Serum	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 10% iger Glucoselösung = 0,05 g Glu- cose	+ 0,5 ccm 10% iger Maltoselösung = 0,05 g Mal- tose	+ 0,5 ccm 10% iger Dextrinlösung = 0,05 g Dex- trin	+ 0,5 ccm 10% iger Gemisches von G + M + D = 0,05 g G + M + D
1 = 1,0	+	+	+	+	+
2 = 0,64	+	+	+	+	+
3 = 0,4	+	+	+	+	+
4 = 0,25	+	+	+	+	+
5 = 0,16	+	+	+	+	+
6 = 0,1	limes	limes	limes	limes	limes
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25

II.

Diastasegehalt des Blutes aus verschiedenen Gefäß-
bezirken.

Versuch 4. (Hund.)

Ferment- menge	Serum aus der				oberfl. Vene des linken Hinter- beines
	Ven. femor. dextr.	Art. femor. sinistr.	Ven. jugul. exter. sinist.	Carot. ext. dextr.	
1,0	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+
0,0625	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+
0,008	limes	limes	limes	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5

Versuch 5. (Kaninchen.)

Ferment- menge	Serum aus der			linken Obervene
	Art. femor. dextr.	Vena femor. sinistr.	Carot. extern. dextr.	
1,0	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+
0,0625	limes	limes	limes	limes
0,032	—	—	—	—
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	40	40	40	40

III.

Vergleich zwischen Plasma (Hirudin) und Serum.
 Versuch 6. (Hund.) Versuch 7. (Kaninchen.)

Ferment- menge	Plasma	Serum	Ferment- menge	Plasma	Serum
0,125	+	+	1,0	+	+
0,0625	+	+	0,5	+	+
0,052	+	+	0,25	+	+
0,016	+	+	0,125	+	+
0,008	limes	limes	0,0625	limes	limes
0,004	—	—	0,032	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5	$D_{24^h}^{38^0} =$	40	40

IV.

Ist die Vorbehandlung des Serums mit Fibrin-
 flocken von Einfluß auf seinen Diastasegehalt?

Hunde- resp. Kaninchenserum wird auf 5 Reagensgläser
 gleichmäßig verteilt und zu jeder Portion die gleiche Menge
 gründlich gewaschener Fibrinflocken gegeben und häufig ge-
 schüttelt. Aus dem ersten Gläschen wird das Fibrin nach
 1 Stunde, aus dem zweiten nach 2 Stunden, aus dem dritten
 nach 4, aus dem vierten nach 8 und aus dem fünften nach
 24 Stunden entfernt, und danach werden sämtliche 5 Portionen
 auf ihren Diastasegehalt geprüft.

Versuch 8. (Kaninchenserum.)

Ferment- menge	Portion 1 1 Std.	Portion 2 2 Std.	Portion 3 4 Std.	Portion 4 8 Std.	Portion 5 24 Std.
1,0	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+
0,0625	limes	limes	limes	limes	limes
0,0325	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	40	40	40	40	40

Versuch 9. (Hundeserum.)

Ferment- menge	Portion 1 1 Std.	Portion 2 2 Std.	Portion 3 4 Std.	Portion 4 8 Std.	Portion 5 24 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,0625	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	limes	limes
0,008	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25

V.

Vergleich der Diastasemengen von frisch untersuchtem Serum und solchem, das längere Zeit unter Toluol bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde.

Untersucht wurden im ganzen 6 verschiedene Sera stets mit dem gleichen Resultat; es seien darum nur 2 Versuche mitgeteilt.

Versuch 10. (Kaninchenserum.)

Fermentmenge	Sofort untersucht	Nach 2 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 14 Tag.	Nach 1 Mon.	Nach 3 Mon.	Nach 6 Mon.
1,0	+	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,0625	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,032	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	40	40	40	40	40	40	40

Versuch 11. (Hundeserum.)

Fermentmenge	Sofort untersucht	Nach 6 Std.	Nach 24 Std.	Nach 2 Tag.	Nach 14 Tag.	Nach 1 Mon.	Nach 3 Mon.	Nach 6 Mon.
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0625	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,008	—	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25

VI.

Diastasemengen im Blut von verschiedenen Tierarten.

Versuch 12. (Rind.)

Fermentmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5
1,0	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	limes	+	+	+
0,125	limes	—	limes	+	limes
0,062	—	—	—	limes	—
0,032	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	20	10	20	40	20

Versuch 13. (Ziege, normal.)

Fermentmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5
1,0	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+
0,125	limes	+	+	limes	+
0,062	—	limes	limes	—	limes
0,032	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	20	40	40	20	40

Versuch 14. (Ziege ohne Schilddrüse.)

Fermentmenge	Wurde untersucht am			
	22. III. 08	30. IV. 08	2. VI. 08	13. VII. 08
1,5	+	+	+	+
1,0	+	limes	limes	limes
0,5	limes	—	—	—
0,25	—	—	—	—
0,125	—	—	—	—
0,062	—	—	—	—
0,032	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	5	3,3	3,3	3,3

Versuch 15. (Kaninchen.)

Fermentmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Fall 6	Fall 7	Fall 8
	1,0	+	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	limes	+	limes	limes	+	limes	+	limes
0,032	—	limes	—	—	limes	—	limes	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	40	80	40	40	80	40	80	40

Versuch 16. (Meerschweinchen.)

Fermentmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Fall 6
	1,0	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+
0,008	+	+	limes	+	limes	+
0,004	limes	limes	—	limes	—	limes
$D_{24^h}^{38^0} =$	625	625	312,5	625	312,5	625

Versuch 17. (Hund.)

Fermentmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4	Fall 5	Fall 6	Fall 7	Fall 8	Fall 9	Fall 10
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	+	+	+	limes	limes	+	+	limes
0,008	limes	—	limes	limes	limes	—	—	limes	limes	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$ =	312,5	156,25	312,5	312,5	312,5	156,25	156,25	312,5	312,5	156,25

VII. Einfluß der Fütterung auf den Diastasegehalt des Blutes.

Versuch 18.

Spitz, 7350 g, nüchtern Blutentnahme aus der Vene des linken Hinterbeines, danach Fütterung mit 500 g Pferdefleisch; 2, 3 und 4 Stunden später abermals Blutentnahme und Bestimmung der Diastase in allen 4 Portionen.

Fermentmenge	Vor der Fütterung	Nach der Fütterung:		
		2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+
0,008	limes	limes	limes	limes
0,004	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$ =	312,5	312,5	312,5	312,5

Versuch 19.

Schwarzer Dachshund, 6550 g, nüchtern Blutentnahme aus der Vene des linken Hinterbeines, danach Fütterung mit 500 g Pferdefleisch; 2, 3 und 4 Stunden später abermals Blutentnahme und Bestimmung der Diastase in allen 4 Portionen.

Fermentmenge	Vor der Fütterung	Nach der Fütterung:		
		2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	limes
0,008	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$ =	156,25	156,25	156,25	156,25

Versuch 20.

Terrier, 8350 g, nüchtern Blutentnahme aus der Vene des rechten Hinterbeines, danach Fütterung mit 500 g Pferdefleisch; 2, 3 und 4 Stunden später abermals Blutentnahme und Bestimmung der Diastase in allen 4 Portionen.

Fermentmenge	Vor der Fütterung	Nach der Fütterung:		
		2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+
0,008	limes	limes	limes	limes
0,004	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5	312,5	312,5

VIII.

Einfluß der Art der Ernährung auf den Diastasegehalt des Blutes.

Versuch 21.

Spitz, 7100 g, erhält 14 Tage lang ausschließlich Kartoffeln, etwas Gemüse und Brot. Während dieser Zeit wird jeden 3. Tag Blut aus der oberflächlichen Vene des Hinterbeines entnommen und auf seinen Diastasegehalt untersucht.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 3 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 15 Tagen
0,062	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	+	+	+	limes
0,008	limes	—	limes	limes	limes	—
0,004	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	156,25	312,5	312,5	312,5	156,25

Versuch 22.

Schwarzer Dachshund, 6250 g, erhält gleichfalls 14 Tage lang ausschließlich Kartoffeln, etwas Gemüse und Brot. Blutentnahme jeden 3. Tag.

Ferment- menge	Bei Beginn des Versuches	Nach 3 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 14 Tagen
0,125	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	+	limes	limes	+
0,008	limes	—	limes	—	—	limes
0,004	—	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38^{\circ}}$	312,5	156,25	312,5	156,25	156,25	312,5

Versuch 23.

Terrier, 8050 g, wird 14 Tage hindurch nur mit Kartoffeln, Gemüse und Brot gefüttert. Blutentnahme jeden 3. Tag.

Ferment- menge	Bei Beginn des Versuches	Nach 3 Tagen	Nach 5 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 11 Tagen	Nach 14 Tagen
0,125	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	+	limes	limes	+	limes
0,008	—	limes	—	—	limes	—
0,004	—	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38^{\circ}}$	156,25	312,5	156,25	156,25	312,5	156,25

Versuch 24.

Dalmatiner, 7630 g, bekommt 14 Tage hindurch täglich 500 g Pferdefleisch. Blutentnahme jeden 3. bis 4. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 3 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 11 Tagen	Nach 14 Tagen
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	limes	+	+
0,008	limes	—	—	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38^{\circ}}$	312,5	156,25	156,25	312,5	312,5

Versuch 25.

Weißer Spitz, 5870 g, erhält ebenfalls 2 Wochen lang täglich 500 g Pferdefleisch. Blutentnahme jeden 3. bis 4. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 3 Tagen	Nach 7 Tagen	Nach 11 Tagen	Nach 14 Tagen
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	+	limes	+
0,008	—	—	limes	—	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	312,5	156,25	312,5

IX.

Einfluß des Hungers auf die Blutdiastase.

Versuch 26.

Terrier, 8370 g, bekommt 20 Tage kein Futter, nur Wasser ad libitum. Blutentnahme jeden 5. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 5 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 20 Tagen
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	limes	+	limes
0,008	limes	—	—	limes	—
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	156,25	156,25	312,5	156,25

Versuch 27.

Spitz, 7450 g, bekommt 20 Tage nur Wasser ad libitum. Blutentnahme jeden 5. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 5 Tagen	Nach 10 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 20 Tagen
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	+	limes	+
0,008	—	—	limes	—	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	312,5	156,25	312,5

Versuch 28.

Schwarzer Dachshund, 6530 g, hungert 14 Tage ohne Wasser.
Blutentnahme jeden 4. bis 5. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Am 4. Tag	Am 9. Tag	Am 14. Tag
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	limes	limes	+
0,008	limes	—	—	limes
0,004	—	—	—	—
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	312,5	156,25	156,25	312,5

Versuch 29.

Weißer Spitz, 5630 g, bekommt 14 Tage lang weder Nahrung
noch Wasser. Blutentnahme jeden 4. bis 5. Tag.

Fermentmenge	Bei Beginn des Versuches	Nach 4 Tagen	Nach 9 Tagen	Nach 14 Tagen
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	limes	+	limes	limes
0,008	—	limes	—	—
0,004	—	—	—	—
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	156,25	312,5	156,25	156,25

X.

Einfluß von Salzsäuregaben und Secretininjektionen
auf die Blutdiastase.

Versuch 30.

Pudel, 6870 g, bekommt, nachdem ihm nüchtern Blut aus
der oberflächlichen Vene einer Hinterpfote entnommen, 150 g
 $\frac{1}{10}$ -Salzsäure mittels Schlundsonde. Blutentnahme $\frac{1}{2}$ und
1 Stunde später.

Fermentmenge	Nüchtern	$\frac{1}{2}$ Stunde nach HCl-Fütterung	1 Stunde nach HCl-Fütterung
0,125	+	+	+
0,062	+	+	+
0,032	+	+	+
0,016	+	+	+
0,008	limes	limes	limes
0,004	—	—	—
$D_{24h}^{38^{\circ}}$	312,5	312,5	312,5

Versuch 31.

Grauer Spitz, 5980 g, bekommt ebenfalls, nachdem ihm nüchtern Blut entnommen, 150 g $\frac{1}{10}$ -Salzsäure mittels Schlundsonde in den Magen; Blutentnahme $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde darauf.

Fermentmenge	Nüchtern	$\frac{1}{2}$ Stunde nach HCl-Fütterung	1 Stunde nach HCl-Fütterung
0,125	+	+	+
0,062	+	+	+
0,032	+	+	+
0,016	+	limes	limes
0,008	limes	—	—
0,004	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	156,25	156,25

Versuch 32.

Grauer Spitz, 5800 g, bekommt intravenös. 10 ccm Secretin, das nach der Vorschrift von Bayliss und Starling aus der Dünndarmschleimhaut eines Hundes gewonnen war, $\frac{1}{2}$ Stunde und 1 Stunde darauf Blutentnahme.

Fermentmenge	Nüchtern	$\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion	1 Stunde nach der Injektion
0,125	+	+	+
0,062	+	+	+
0,032	+	+	+
0,016	+	+	limes
0,008	limes	limes	—
0,004	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5	156,25

Versuch 33.

Dalmatiner, 7250 g, bekommt ebenfalls 10 ccm Secretin intravenös, danach $\frac{1}{2}$ und 1 Stunde später Blutentnahme.

Fermentmenge	Nüchtern	$\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion	1 Stunde nach der Injektion
0,125	+	+	+
0,062	+	+	+
0,032	+	+	+
0,016	limes	limes	limes
0,008	—	—	—
0,004	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	156,25

XI.

Einfluß der Unterbindung der Ausführungsgänge des Pankreas auf die Blutdiastase.

Von den zahlreichen Versuchen, die ich zum Teil zusammen mit Herrn Dr. Arrigo Visentini anstellte, seien nur einige wenige angeführt.

Versuch 34.

Hellbrauner Spitz, 7700 g. Unterbindung beider Ausführungsgänge in der Narkose.

Fermentmenge	Vor der Operation: 1/2 Std.	Nach der Operation:							
		1 Std.	3 Std.	5 Std.	24 Std.	3 Tage	5 Tage	7 Tage	8 Tage
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	+	+	+	+	+	+	+
0,008	—	—	+	+	+	+	+	+	limes
0,004	—	—	limes	+	+	+	+	+	—
0,002	—	—	—	limes	+	+	+	limes	—
0,001	—	—	—	—	limes	limes	limes	—	—
0,0005	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	625	1250	2500	2500	2500	1250	312,5

Versuch 35.

Hühnerhund, 18750 g, Unterbindung beider Gänge in Narkose.

Fermentmenge	Vor der Operation	Nach der Operation:					
		5 Std.	24 Std.	2 Tage	4 Tage	6 Tage	9 Tage
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+	+
0,008	limes	+	+	+	+	+	limes
0,004	—	+	+	+	+	+	—
0,002	—	+	+	+	+	+	limes
0,001	—	limes	+	+	limes	—	—
0,0005	—	—	limes	limes	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	2500	5000	5000	2500	1250	312,5

Versuch 36.

Schwarzer Spitz, 8450 g, Unterbindung beider Gänge in Ather-Morphiumnarkose.

Ferment- menge	Vor der Opera- tion	Nach der Operation:						
		3 Std.	24 Std.	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+	+	+
0,008	limes	+	+	+	+	+	+	limes
0,004	—	+	+	+	+	+	limes	—
0,002	—	limes	+	+	+	+	—	—
0,001	—	—	+	+	+	limes	—	—
0,0005	—	—	+	+	limes	—	—	—
0,00025	—	—	+	+	—	—	—	—
0,000125	—	—	limes	limes	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	312,5	1250	20000	20000	5000	2500	625	312,5

Versuch 37. Terrier, 6750 g, Unterbindung beider Gänge in Äther-Morphiumnarkose.

Ferment- menge	Vor der Opera- tion	Nach der Operation:									
		1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	11 Tage	14 Tage	18 Tage	20 Tage
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,008	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	limes
0,004	—	+	+	+	+	+	+	+	limes	+	—
0,002	—	+	+	+	+	+	+	limes	—	limes	—
0,001	—	+	+	+	+	limes	+	+	—	—	—
0,0005	—	+	+	+	limes	—	limes	—	—	—	—
0,00025	—	+	limes	limes	—	—	—	—	—	—	—
0,000125	—	limes	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	156,25	20000	10000	10000	5000	2500	5000	1250	625	1250	312,5

Versuch 38. Schwarzer Spitz, 6380 g, Unterbindung beider Gänge in Morphium-Äthernarkose.

Ferment- menge	Vor der Operation	Nach der Operation:			
		1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+
0,008	limes	+	+	+	limes
0,004	—	+	+	+	—
0,002	—	+	+	limes	—
0,001	—	limes	limes	—	—
0,0005	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	312,5	2500	2500	1250	312,5

Versuch 39. Dackel, 9450 g, Unterbindung beider Gänge, hungert danach 8 Tage bei Wasser.

Fermentmenge	Vor der Operation	Nach der Operation:					
		1. Tag	2. Tag	4. Tag	6. Tag	8. Tag	9. Tag
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+	+
0,008	limes	+	+	+	+	limes	limes
0,004	—	+	+	+	limes	—	—
0,002	—	+	+	+	—	—	—
0,001	—	+	limes	limes	—	—	—
0,0005	—	limes	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	5000	2500	2500	625	312,5	312,5

Versuch 40. Dunkelbrauner Spitz, 6250 g, Unterbindung beider Gänge, bekommt ebenfalls 8 Tage nur Wasser.

Fermentmenge	Vor der Operation	Nach der Operation:						
		5 Std.	1 Tag	2 Tage	4 Tage	6 Tage	8 Tage	9 Tage
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	+	+	+	+	+	+	+
0,008	—	+	+	+	+	+	+	limes
0,004	—	limes	+	+	+	+	limes	—
0,002	—	—	+	+	+	limes	—	—
0,001	—	—	limes	+	limes	—	—	—
0,0005	—	—	—	limes	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	625	2500	5000	2500	1250	625	312,5

XII. Einfluß der partiellen Pankreasexstirpation auf die Blutdiastase.

Versuch 41. Großer Bernhardiner, Exstirpation des Schwanzendes und des halben Mittelstückes des Pankreas. Blutentnahme am 3., 5., 8. und 14. Tage nach der Operation.

Fermentmenge	3. Tag	5. Tag	8. Tag	14. Tag
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+
0,008	+	+	+	limes
0,004	+	+	+	—
0,002	limes	limes	limes	—
0,001	—	—	—	—
0,0005	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	1250	1250	1250	312,5

Versuch 42.

Großer Dalmatiner, Exstirpation des Körpers und des Schwanzendes des Pankreas. Blutentnahme am 4., 5., 8. und 12. Tage.

Fermentmenge	4. Tag	5. Tag	8. Tag	12. Tag
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	+	+	limes
0,008	+	+	+	—
0,004	limes	+	limes	—
0,002	—	limes	—	—
0,001	—	—	—	—
0,0005	—	—	—	—
$D_{24}^{38} =$	625	1250	625	156,25

XIII.

Einfluß der totalen Pankresexstirpation auf die Blutdiastase.

Versuch 43.

Bulldogge, kräftiges Tier, Totalexstirpation schwierig, gelingt aber ohne großen Blutverlust. An den nächsten beiden Tagen ist das Tier ganz munter; im Urin 4,7% Zucker. Zur Blutentnahme wird das Tier auf den Tisch gelegt, sträubt sich sehr heftig, bekommt plötzlich einen Kollaps und stirbt. Es wird das Blut aus dem linken Ventrikel auf seinen Diastasegehalt sofort untersucht.

Fermentmenge	Vor der Exstirpation	48 Stunden nach der Exstirpation
0,125	+	+
0,062	+	+
0,032	+	+
0,016	+	+
0,008	limes	limes
0,004	—	—
$D_{24}^{38} =$	312,5	312,5

Versuch 44.

Bulldogge, Totalexstirpation in einer Sitzung; im Urin 4 bis 6% Zucker. Tod nach 4 Tagen infolge Fettgewebsnekrose.

Ferment- menge	Vor der Exstirpation	Nach der Exstirpation:			
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	limes	+	+
0,008	limes	limes	—	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	312,5	312,5	156,25	312,5	312,5

Versuch 45.

Schwarzer Spitz, Totalexstirpation, Nachblutung, abermalige Eröffnung der Bauchhöhle zwecks Blutstillung. Danach Allgemeinbefinden gut. Im Urin 4 bis 5% Zucker. Tod nach 7 Tagen infolge Pankreasgewebsnekrose.

Ferment- menge	Vor der Exstirpation	Nach der Exstirpation:				
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag	7. Tag
0,125	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	limes	+	+
0,016	+	limes	limes	—	limes	limes
0,008	limes	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	312,5	156,25	156,25	80,5	156,25	156,25

Versuch 46.

Schäferhund, kräftiges Tier, Totalexstirpation gelingt verhältnismäßig leicht, ist am nächsten Tage munter. Lebt im ganzen noch 10 Tage. Im Urin andauernd 5 bis 6% Zucker. Tod infolge von Peritonitis und Fettgewebsnekrose.

Ferment- menge	Vor der Ex- stirpation	Nach der Exstirpation:					
		2. Tag	3. Tag	5. Tag	7. Tag	9. Tag	10.Tag
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	limes	+	+
0,016	limes	+	limes	limes	—	limes	limes
0,008	—	limes	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	156,25	312,5	156,25	156,25	80,5	156,25	156,25

Versuch 47.

Schwarzweiß gefleckter Spitz, Totalexstirpation gelingt glatt. Das Tier ist schon am nächsten Tage ganz munter und wird während der ersten 3 Wochen mit Pferdefleisch, späterhin mit Küchenabfällen (Charité) gefüttert. Am 30. Tage wird es, da es schon einen decrepiden Eindruck macht, durch Entbluten aus der linken Femoralis getötet.

Ferment- menge	Nach der Exstirpation:						
	4. Tag	21. Tag	20. Tag	22. Tag	26. Tag	28. Tag	30. Tag
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	limes	+	limes	+	+
0,016	limes	limes	—	limes	—	limes	limes
0,008	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38} =$	156,25	156,25	80,5	156,25	80,5	156,25	156,25

Versuch 48.

Große weiße Bulldogge, weiblich, die Exstirpation gelingt gut, das Tier ist schon am nächsten Tage sehr munter. Im Urin bereits über 5% Zucker. Während der ganzen nächsten 5 Wochen ist das Tier lebhaft und frißt reichlich. In der 6. Woche wird es sehr matt und kann wegen des starken Muskelschwundes sich kaum fortbewegen. Am letzten Tag der 6. Woche, also 42 Tage nach der Operation, wird es durch Entbluten aus der linken Femoralis getötet, nachdem zuvor noch aus dem Ductus thoracicus mittels eingebundener Glas-kanüle ca. 250 ccm Lymphe entnommen worden waren.

Ferment- menge	Vor der Operation	Nach der Exstirpation:									
		2. Tag	4. Tag	5. Tag	7. Tag	9. Tag	12. Tag	14. Tag	16. Tag	17. Tag	19. Tag
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	limes	limes	+	+	+	limes	+	limes	+	limes
0,008	limes	—	—	limes	limes	limes	—	limes	—	limes	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24}^{38} =$	312,5	156,25	156,25	312,5	312,5	312,5	156,25	312,5	156,25	312,5	156,25

Fermentmenge	Vor der Operation	Nach der Exstirpation:									
		21. Tag	24. Tag	27. Tag	30. Tag	32. Tag	34. Tag	36. Tag	39. Tag	40. Tag	42. Tag
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	limes	limes	+	limes	+	+	+	+	+	+
0,026	+	—	—	limes	—	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,008	limes	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,008	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$	=	312,5	80,5	80,5	156,25	80,5	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25

XIV. Einfluß des Adrenalins auf die Blutdiastase.

Versuch 49.

Pudel, 8750 g, bekommt subcutan 4 ccm 1‰ Adrenalinlösung, nach 2 Stunden Zucker im Urin. 2 Stunden später, also 4 Stunden post injectionem Blutentnahme. Am nächsten Tage ist der Urin zuckerfrei, abermalige Blutentnahme.

Fermentmenge	Vor der Injektion	4 Stunden nach der Injektion	Nach 24 Stunden	Nach 48 Stunden
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+
0,016	+	+	+	limes
0,008	limes	limes	limes	—
0,004	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$	=	312,5	312,5	156,25

Versuch 50.

Kaninchen, 2350 g, erhält 1 ccm 1‰ Adrenalinlösung intraperitoneal. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde bereits Zucker im Urin. Blutentnahme aus der Ohrvene 2, 3, 4 und 24 Stunden post injectionem. Am nächsten Tage kein Zucker mehr im Urin.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		2 Std.	3 Std.	4 Std.	24 Std.
0,2	+	+	+	+	+
0,128	+	+	+	+	+
0,08	+	+	+	limes	+
0,05	limes	limes	limes	—	limes
0,032	—	—	—	—	—
0,02	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}}$	=	50	50	39	50

Versuch 51.

Kaninchen, 2190 g, erhält ebenfalls 1 ccm 1^o/₁₀₀ Adrenalinlösung intraperitoneal. Nach 1 Stunde Zucker im Urin. Blutentnahme aus der Ohrvene 2, 3, 4 und 24 Stunden post injectionem. Am nächsten Tage Urin zuckerfrei.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		2 Std.	3 Std.	4 Std.	24 Std.
0,2	+	+	+	+	+
0,128	+	+	+	+	+
0,08	limes	limes	limes	limes	+
0,05	—	—	—	—	limes
0,032	—	—	—	—	—
0,02	—	—	—	—	—
D $\frac{38^0}{24^h}$ =	39	39	39	39	50

XV.

Einfluß des Phloridzins auf die Blutdiastase.

Versuch 52.

Spitz, 5370 g, bekommt 1,0 g Phloridzin, in Piperazin gelöst, subcutan. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde große Mengen Zucker im Urin. Blutentnahme aus der oberflächlichen Vene des linken Hinterbeines 2 Stunden nach der Injektion, ferner nach 24, 48 und 72 Stunden. Nach 24 Stunden immer noch Zucker im Urin, nach 48 Stunden Zucker verschwunden.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		2 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	limes	+	+
0,008	limes	limes	—	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
D $\frac{38^0}{24^h}$ =	312,5	312,5	156,25	312,5	312,5

Versuch 53.

Terrier, 4650 g, bekommt subcutan 0,8 g Phloridzin, in Piperazin gelöst. Im spontan entleerten Urin nach 2 Stunden starke Trommersche Probe, ebenso noch nach 24 Stunden; nach 48 Stunden Urin zuckerfrei. Blutentnahme 3, 24, 48 und 72 Stunden post injectionem.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		3 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	+	limes
0,008	—	—	—	limes	—
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	156,25	312,5	156,25

Versuch 54. Pudel, 4210 g, bekommt subcutan ebenfalls 0,8 g Phloridzin, in Piperazin gelöst. Blutentnahme 4, 24, 48 und 72 Stunden nach der Injektion. Nach 24 Stunden 2,3% Zucker, nach 48 Stunden 0,7% Zucker im Urin, nach 72 Stunden Urin zuckerfrei.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		4 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	+	limes
0,008	—	—	—	limes	—
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	156,25	312,5	156,25

Zahlreiche Versuche an Kaninchen ergaben ebenfalls keine Beeinflussung der Diastasemengen im Blut.

XVI. Einfluß des Phloretins auf die Blutdiastase.

Versuch 55. Hellbrauner Spitz, 7700 g, bekommt subcutan 0,75 g Phloretin, in Piperazin gelöst. Blutentnahme 3, 18, 42 und 66 Stunden nach der Injektion. Im Urin nach 18 Stunden 1,7% Zucker nach 42 Stunden Spuren.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		3 Std.	18 Std.	42 Std.	66 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	limes
0,008	limes	limes	limes	limes	—
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5	312,5	312,5	156,25

Versuch 56.

Brauner Dackel, 8450 g, bekommt subcutan 0,75 g Phloretin, in Piperazin gelöst. Blutentnahme 3, 20, 44 und 68 Stunden nach der Injektion. Im Urin nach 19 Stunden große Mengen Zucker, nach 43 Stunden zuckerfrei.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		3 Std.	20 Std.	44 Std.	68 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	limes	+	+
0,008	limes	limes	—	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	312,5	312,5	156,25	312,5	312,5

Versuch 57.

Grauer Schäferhund, 9760 g, bekommt subcutan 0,8 g Phloretin, in Piperazin gelöst. Blutentnahme $2\frac{1}{2}$, 24, 48 und 72 Stunden nach der Injektion. Urin enthält nach 24 Stunden nur Spuren Zucker und ist nach 48 Stunden zuckerfrei.

Fermentmenge	Vor der Injektion	Nach der Injektion:			
		$2\frac{1}{2}$ Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+
0,008	limes	limes	limes	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5

Bei Kaninchen wurden in einer großen Reihe von Versuchen nach Phloretininjektionen ebenfalls keine Veränderungen im Diastasegehalt des Blutes beobachtet.

XVII.

Einfluß der Asphyxie auf den Diastasegehalt des Blutes.

Versuch 58.

Spitz, 5320 g, bekommt eine Kanüle in die Trachea, die mit einem Schlauchstück armiert ist und die gestattet, die Luft-

zufuhr nach Belieben einzuschränken. Gleichzeitig wird in die linke Art. femoralis eine Glaskanüle eingebunden und in Intervallen von 5 Minuten etwas Blut zur Diastasebestimmung entnommen. Die Luftzufuhr wird durch Abklemmen des Schlauches an der Trachealkanüle auf ein Minimum beschränkt; nach 35 Minuten wird der Versuch abgebrochen.

Ferment- menge	Vor Beginn	Nach Beginn:						
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.	35 Min.
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,008	—	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25	156,25

Versuch 59.

Terrier, 6080 g, bekommt ebenfalls eine mit einem Schlauchstück armierte Trachealkanüle und gleichzeitig eine Glaskanüle in die linke Art. femoralis gebunden. Dauer der Asphyxie 40 Minuten. Blutentnahme alle 5 Minuten.

Ferment- menge	Vor Beginn	Nach Beginn der Asphyxie:							
		5 Min.	10Min.	15Min.	20Min.	25Min.	30Min.	35Min.	40Min.
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,008	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5	312,5

Versuch 60.

Pudel, 5900 g, wird in der gleichen Weise zum Versuch vorbereitet. Dauer der Asphyxie 30 Minuten. Blutentnahme alle 5 Minuten.

Untersuchungen über die Diastasen. IV.

Zur Frage der inneren Sekretion des Pankreas.

Von

R. Ehrmann und J. Wohlgemuth.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

Die innere Sekretion des Pankreas muß auch heute noch trotz allen eifrigen Bemühens, Klarheit in diese Frage zu bringen, als ein ungelöstes Problem gelten.

Minkowski¹⁾, der im Verein mit v. Mering²⁾ den Pankreasdiabetes entdeckte, meinte, daß das Pankreas direkt oder auf nervösem Wege die zuckerverbrennenden Organe beeinflusst, und daß der Pankreasdiabetes die Folge des Ausfalls dieser Funktion ist. Eine ähnliche Anschauung vertraten Chauveau und Kaufmann³⁾, indem sie sich dahin aussprachen, daß das Pankreas die Rolle eines Regulationsapparates für die zuckerbildende Funktion der Leber spielt, und daß dabei zwei nervöse Zentren mittätig sind: ein hemmendes und ein erregendes. Das hemmende wird vom Pankreas gereizt, das erregende gehemmt, während beim Fortfall der Pankreasfunktion die umgekehrte Wirkung resultiert.

Im Gegensatz hierzu glaubte Lépine⁴⁾, daß das Pankreas nicht indirekt, sondern direkt auf das Zuckermolekül wirkt, indem es ein Ferment produziert, das die Eigenschaft besitzt, Traubenzucker zu zerstören; er nannte es „ferment glycolytique“.

Daß dem Blute die Fähigkeit zukommt, beim Stehen im Brutschrank Traubenzucker zum Verschwinden zu bringen, war bereits Claude Bernard⁵⁾ bekannt und ist später auch von Pavy⁶⁾ festgestellt worden.

¹⁾ Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 91, 175, 1893.

²⁾ v. Mering u. Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 26, 37, 1889.

³⁾ Chauveau und Kaufmann, Mém. Soc. biol., 1893, 29; s. a. Centralbl. f. Physiol. 7, 317, 1893.

⁴⁾ Lépine, Compt. rend. soc. de biolog. 112, 604, 1891.

⁵⁾ Claude Bernard, Vorlesungen über den Diabetes, deutsch von K. Posner. Berlin 1878, S. 120.

⁶⁾ Pavy, ref. Centralbl. f. med. Wiss. 1877, Nr. 33.

Claude Bernard glaubte diese Eigenschaft auf ein im Blut enthaltenes Milchsäureferment zurückführen zu müssen, das außer im Blute sich auch in den Muskeln und in der Leber findet. Lépine (l. c.) dagegen hielt das glykolytische Ferment für ein ganz selbständiges und verlegte seine Bildungsstätte in das Pankreas. Denn er fand, daß nach Pankreasextirpation die glykolytische Kraft des Blutes vermindert ist, und ferner, daß das Blut der Pankreasvene weit mehr glykolytisches Vermögen besitzt als das der andern Körperven. Mit diesem letztgenannten Befund schien zum erstenmal bewiesen zu sein, daß das Pankreas vermittle einer inneren Sekretion auf den Kohlenhydratstoffwechsel wirkt.

Lépines Befunde haben sich jedoch bei späteren Nachprüfungen nicht als zutreffend erwiesen. So konnten Arthaud und Butte¹⁾ nach Unterbindung der Pankreasvene keine Vermehrung des Zuckers im Blute konstatieren, und ebenso fand Cavazzani²⁾ bei der nämlichen Versuchsanordnung die glykolytische Kraft des Blutes nicht herabgesetzt. Endlich konstatierte auch Umber³⁾, daß das Blut der Vena pancreatico-duodenalis nicht mehr Zucker zu zerstören vermag, als das übrige Venen- und Arterienblut. Damit war die Frage von der inneren Sekretion des Pankreas wieder an demselben Punkt angelangt, wie vor den Lépineschen Untersuchungen, um 13 Jahre später wieder eine Erklärung in chemischem Sinne zu finden auf Grund der Arbeiten von O. Cohnheim⁴⁾ und R. Hirsch⁵⁾. Beide hatten nämlich gleichzeitig nachgewiesen, daß, wenn man Pankreassaft mit Muskelpreßsaft resp. Leberbrei zusammenbringt, die Zuckerzerstörung eine weit größere ist, als wenn man Muskelpreßsaft oder Leberbrei allein auf Traubenzucker einwirken läßt. Cohnheim schloß aus seinen Versuchen, daß bei der Verbrennung des Traubenzuckers im Muskel ein Enzym tätig ist; dieses müsse aber erst aktiviert werden, und das geschehe durch einen Stoff, der die innere Sekretion des Pankreas liefere. Claus und Emden⁶⁾ konnten jedoch die Cohnheimschen Resultate nicht bestätigen. In einer späteren Arbeit hält indes Cohnheim das von ihm beobachtete Zusammenwirken von Pankreas und Muskel doch für zutreffend. Auch R. Hirsch erklärte den besonders starken Einfluß zugesetzten Pankreasbreies auf die glykolytische Kraft der Leber so, daß eine Aktivierung der Leberglykolyse durch das Pankreas statthat auf Grund eines im Pankreas enthaltenen, an sich unwirksamen Agens, vermutlich eines Profermentes oder einer Kinase. Zu dem nämlichen Resultat kamen auch

¹⁾ Arthaud und Butte, Compt. rend. soc. biol. 42, 59, 1890.

²⁾ Cavazzani, ref. Centralbl. f. Physiol. 7, 217, 1893.

³⁾ Umber, Zeitschr. f. klin. Med. 39, 13, 1900.

⁴⁾ O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. 39, 336, 1903.

⁵⁾ R. Hirsch, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 535, 1904.

⁶⁾ Claus und Emden, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 214 u. 343, 1905.

Arnheim und Rosenbaum¹⁾. Pflüger²⁾ nimmt an, daß der Diabetes nach Exstirpation des Pankreas eine Reflexneurose darstelle. Neuerdings sucht Zülzer³⁾ die Funktion des Pankreas so zu erklären, daß das Pankreas ein Ferment produziert, welches die Wirkung des Adrenalins — deren Effekt eben die nach der Pankreasekstirpation auftretende Glucosurie sein soll — im Organismus paralyisiert. Er stützt sich dabei auf den Befund, daß die gleichzeitige Exstirpation von Pankreas und Nebennieren keinen Diabetes mehr zustande kommen lasse. Außerdem konnte Zülzer aus dem Pankreas eine Substanz gewinnen, die nach intravenöser Einverleibung bei pankreasdiabetischen Hunden die Menge des Zuckers und des Acetons im Urin herabsetzte. Ähnlicher Natur scheint das Präparat zu sein, das Vahlen⁴⁾ aus dem Pankreas darstellte, und mit dem er sowohl bei Phloridzin- wie Adrenalinglucosurie ein Herabgehen der Zuckerausscheidung erzielte. Die gleiche Auffassung von der Pankreasfunktion wie Zülzer teilen Eppinger, Falta und Rudinger⁵⁾. Sie nehmen an, daß das Pankreas und das chromaffine System sich gegenseitig hemmen, und daß nach Ausfall der Pankreasfunktion das chromaffine System ungehindert und in verstärktem Maße seine kohlenhydratmobilisierende und zuckerbildende Eigenschaft geltend mache und so den Diabetes herbeiführe. Dabei setzen sie voraus, daß vom Pankreas eine Substanz produziert wird, die auf das autonome Vagusnervensystem einen Reiz ausübt im Gegensatz zu dem den Sympathicus reizenden Adrenalin. Die Vorstellung, daß vom Pankreas ein Stoff produziert wird, der durch Beeinflussung des sympathischen Nervensystems den Zuckerhaushalt reguliert, veranlaßte Alexander und Ehrmann⁶⁾ sowie O. Loewi⁷⁾, zu untersuchen, ob im Blute der Vena pancreatico-duodenalis eine Substanz vorhanden ist, welche nach intravenöser Zufuhr größerer Mengen solchen Blutes bei pankreasdiabetischen Hunden einen Rückgang der Glucosurie bewirkt. Die Versuche fielen indes negativ aus, und ebenso ergaben Untersuchungen von Alexander und Ehrmann, daß dem Blut der Vena pancreatico-duodenalis keine wahrnehmbare Wirkung auf den Vagus zukommt; in manchen Fällen zeigte sich aber eine mäßige Sympathicuswirkung.

Wir haben nun untersucht, ob sich hinsichtlich der Diastase, an der das Pankreas sehr reich ist, eine innere Sekretion nachweisen lasse.

1) Arnheim und Rosenbaum, Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 220, 1903.

2) Pflüger, Das Glycogen, Bonn 1905.

3) Zülzer, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1907.

4) Vahlen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 194, 1909.

5) Eppinger, Falta u. Rudinger, Zeitschr. f. klin. Med. 66, 1908.

6) Alexander und Ehrmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Therap. 5, 1, 1908.

7) O. Loewi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 1908.

Von der Überlegung ausgehend, daß, wenn ein Teil der Diastase des Blutes aus dem Pankreas stammt, sich konstant oder zu bestimmten Zeiten ein vermehrter Diastasegehalt in dem aus dem Pankreas fließenden Blute nachweisen lassen müsse, untersuchten wir daraufhin das Blut der Vena pancreatico-duodenalis. Als Methode zur quantitativen Bestimmung der Diastase diente uns das von dem einen von uns angegebene Verfahren, dessen Ausführung in der vorangehenden Arbeit eingehend geschildert ist. Wir entnahmen das Blut aus der Vena pancreatico-duodenalis mittels einer in die Vene eingebundenen Glaskanüle, fingen es in einer Porzellanschale auf und defibrierten es durch Schlagen mit einem Glasstab. Gleichzeitig, aber nicht immer, wurde Blut aus der Vena portarum gesondert aufgefangen und außerdem zum Vergleich stets noch Blut aus einer der Femoralarterien. Das Blut wurde jedesmal in der gleichen Weise behandelt, zentrifugiert und das Serum sofort auf seinen Diastasegehalt geprüft. Auf diese Weise untersuchten wir — als Versuchstiere dienten uns ausschließlich Hunde — Tiere in nüchternem Zustand, 2 bis 3 Stunden nach reichlicher Fütterung mit Fleisch, mit Kohlenhydraten, und ferner nach Verabfolgung von $n/_{10}$ -Salzsäure per os. Die Resultate, die wir anfänglich bekamen, waren recht schwankend; bisweilen beobachteten wir weit größere Mengen an Diastasen im Pankreasvenenblut als in anderen Blutportionen, dann wiederum ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede. Über diese Versuche haben wir,¹⁾ bereits vor Jahresfrist auf dem Kongreß für innere Medizin in Wien gelegentlich eines denselben Gegenstand behandelnden Vortrages von W. Schlesinger²⁾ kurz berichtet. Als wir aber sorgfältigst darauf achteten, das Blut aus der Pankreasvene so aufzufangen, daß es mit der Drüsensubstanz nicht in Berührung kam, konnten wir in keinem einzigen Falle mehr, trotzdem wir die Ernährungsbedingungen in der verschiedenartigsten Weise modifizierten, einen Unterschied in den Diastasemengen der einzelnen Blutsorten feststellen (Versuch 1 bis 5). Nur in einem Falle fanden wir einen ganz minimalen Unterschied, glauben aber diesem Be-

¹⁾ J. Wohlgemuth, Diskussionsbem. zu W. Schlesinger; Verhdl. v. Kongr. f. inn. Med., Wien 1908, 509.

²⁾ W. Schlesinger, *ibid.* S. 505.

funde keine allgemeine Bedeutung beilegen zu müssen (Versuch 6).

Wie wichtig obige, vielleicht unbedeutend erscheinende Vorsichtsmaßregel gerade bei der Untersuchung der Verhältnisse der Diastase ist, das mag folgendes Beispiel illustrieren. Wenn man Hundepankreas mit der dreifachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verreibt, kurze Zeit unter Toluol stehen läßt und dann in dem klar filtrierten Extrakt die Diastasemenge bestimmt, so erhält man Werte, welche die des Serums von dem gleichen Tier um das 600- bis 700fache übertreffen. Man kann sich danach leicht vorstellen, daß schon ganz geringe Partikelchen von Pankreasgewebe, die bei unvorsichtiger Entnahme des Blutes aus der Pankreasvene hineingelangen, oder auch nur ein Überfließen des Blutes über die Drüsensubstanz genügen, um eine wesentliche Vermehrung der Diastase in der entnommenen Blutportion herbeizuführen. Wir heben das ausdrücklich hervor, um spätere Untersucher vor Täuschungen zu bewahren, die stets mit einem Vorgehen verknüpft sind, bei dem gerade diesem Punkte nicht die allersorgfältigste Beachtung geschenkt wird.

Man konnte nun daran denken, daß vielleicht durch das aus den Duodenalästen in die Pankreasvene fließende Blut eine so starke Verdünnung des aus dem Pankreas kommenden Blutes bedingt wird, daß dadurch die Differenzen im Diastasegehalt verdeckt würden. Aus diesem Grunde unterbanden wir in mehreren Fällen sämtliche aus dem Duodenum kommende Äste und entnahmen erst dann — in einem Falle erst 24 Stunden später — mittels Kanüle aus der Vena pancreatica Blut; aber auch so konnten wir niemals einen größeren Diastasegehalt im Pankreasvenenblut gegenüber anderen Blutportionen konstatieren (Versuch 7 und 8).

Wir kommen also entgegen der Behauptung von Schlesinger zu dem Schluß, daß die Pankreasvene in ihrem Blut nicht mehr Diastase führt, als das Blut irgendeines anderen peripheren Gefäßes, wenigstens nicht soviel mehr, daß es sich mit der uns zur Verfügung stehenden Methode nachweisen ließ. Dabei war es ganz gleichgültig, ob die Tiere im nüchternen Zustand oder nach längeren Hungerperioden zur Untersuchung kamen, oder ob sie vorher reichlich gefüttert wurden, sei es mit Fleisch oder mit Brot und Kartoffeln, oder ob man ihnen

vorher $\frac{1}{10}$ -Salzsäure mittels Schlundsonde verabfolgte — stets ergab sich, wenn wir obige Kautelen strengstens beobachteten, das nämliche Resultat, daß das Pankreasvenenblut gegenüber dem Femoralisblut keinen höheren Gehalt an Diastase aufzuweisen hat.

Auch die Beobachtung von Cavazzani¹⁾, wonach das Blut der Vena portarum mehr Diastase enthalten soll als das Blut aus den peripheren Gefäßprovinzen, haben wir nicht bestätigen können. Wie aus den Protokollen ersichtlich, haben wir in den meisten Fällen neben dem Pankreasvenenblut auch das Pfortaderblut gesondert aufgefangen und in allen Fällen, wo das Pankreasblut keine Vermehrung an Diastase zeigte, auch in ihm stets die gleichen Werte feststellen können, wie in dem Femoralisblut.

Bezüglich der weiteren Einzelheiten verweisen wir auf den folgenden Abschnitt.

Experimenteller Teil.

Vorweg möchten wir bemerken, daß wir der Einfachheit halber nicht sämtliche Protokolle mitteilen, sondern uns damit begnügen werden, nur die wichtigsten Versuche gekürzt wiederzugeben.

Versuch 1.

Mittelgroßer Hund bekommt morgens 1 Pfund Pferdefleisch und wird nach 3 Stunden in Athernarkose entblutet. Blutentnahme mittels eingebundener Glaskanüle aus der Vena pancreatica und der Art. femoralis. Pankreas gerötet, Lymphgefäße stark gefüllt.

Serummenge	Femoral.	Pancreat.
0,02	+	+
0,018	+	+
0,016	+	+
0,014	limes	limes
0,012	—	—
0,01	—	—
$D_{24}^{38} =$	312,5	312,5

¹⁾ E. Cavazzani, Arch. per le scienze med. 18, Nr. 6, 1893. Ref. a. Maly, 24, 156, 1894.

Versuch 2.

Pudel wird frühmorgens mit Brötchen und Milch gefüttert 2 Stunden später unter Äthernarkose Blutentnahme aus der Vena pancreatico-duodenalis, aus der Vena portarum unterhalb der Einmündungsstelle der Ven. pancreatica und aus der Arter. femoralis.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.	Ven. portar.
0,03	+	+	+
0,02	+	+	+
0,018	+	+	+
0,016	limes	limes	limes
0,014	—	—	—
0,012	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	277,5	277,5	277,5

Versuch 3.

Hund hat 3 Tage gehungert, Blutentnahme in leichter Äthernarkose aus der Vena pancreatico-duodenalis, aus der Vena portarum unterhalb der Einmündungsstelle der Ven. pancreatica und aus der Arteria femoralis. Pankreas blaßgelb.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.	Ven. portar.
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	+	+	+
0,0125	limes	limes	limes
0,008	—	—	—
0,005	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	250	250	250

Versuch 4.

Großer Spitz bekommt nüchtern Kartoffeln und Brötchen zu fressen; nach Verlauf von $3\frac{1}{2}$ Stunden Blutentnahme aus der Vena pancreatico-duodenalis und der Art. femoralis. Pankreas lebhaft gerötet.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.
0,02	+	+
0,018	+	+
0,016	+	+
0,014	limes	limes
0,012	—	—
0,010	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	312,5	312,5

Versuch 5.

Grauer Spitz bekommt nüchtern 1 Pfund gehacktes Pferdefleisch; 2 $\frac{1}{2}$ Stunden später in leichter Äthernarkose Blutentnahme aus der Vena pancreatico-duodenalis, aus der Vena portarum und der rechten Art. femoralis. Pankreas lebhaft gerötet.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.	Ven. portar.
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	+	+	+
0,0125	limes	limes	limes
0,008	—	—	—
0,005	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	250	250	250

Versuch 6.

Mittelgroßer Hund wird mit Brötchen und Kartoffeln gefüttert; nach 2 Stunden in tiefer Äthernarkose Blutentnahme aus der Vena pancreatico-duodenalis und aus der Art. femoralis. Pankreas mäßig gerötet.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.
0,02	+	+
0,018	+	+
0,016	limes	+
0,014	—	limes
0,012	—	—
0,010	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	277,5	312,5

Versuch 7.

Kleiner Terrier bekommt nüchtern Brötchen zu fressen; 2 $\frac{1}{2}$ Stunden später werden unter Äthernarkose sämtliche vom Duodenum kommende Äste der Vena pancreatico-duodenalis unterbunden, danach Blut zunächst aus der Ven. pancreatico-duodenalis, dann aus der Ven. portarum unterhalb der Einmündungsstelle der Vena pancreatica und aus der Art. femoralis entnommen. Pankreas blaß, Lymphgefäße injiziert.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.	Ven. portar.
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	+	+	+
0,0125	+	+	+
0,008	limes	limes	limes
0,005	—	—	—
$D_{24^h}^{38^o} =$	400	400	400

Versuch 8.

Einem grauen Spitz werden in Morphinum-Äthernarkose unter antiseptischen Kautelen sämtliche vom Duodenum kommenden Äste der Vena pancreatico-duodenalis unterbunden und durchtrennt und die Bauchhöhle danach geschlossen. 24 Stunden später wird unter leichter Äthernarkose Blut aus der Vena pancreatica, der Vena portarum und der Arteria femoralis entnommen.

Serummenge	Art. femoral.	Ven. pancreat.	Ven. portar.
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	+	+	+
0,0125	limes	limes	limes
0,008	—	—	—
0,004	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	250	250	250

Untersuchungen über die Diastasen. V. Beitrag zum Verhalten der Diastase im Urin.

Von

J. Wohlgemuth.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

Das diastatische Ferment im Harn wurde zuerst von J. Cohnheim¹⁾ aufgefunden.

Béchamp²⁾ bestätigte diesen Befund und führte die diastatische Wirkung des Urins zurück auf eine „matière albuminoïde“, die er Nephrozymase nannte, weil er glaubte, daß sie aus der Niere stammt, d. h. ein Stoffwechselprodukt der Nierenzelle ist. Plósz und Tiegel³⁾ versuchten dann die Diastase aus dem Harn zu isolieren, ohne indes in ihren Bemühungen weiterzukommen, als dies bereits 10 Jahre früher Cohnheim gelungen war. Sie untersuchten auch diabetische Harne auf die Anwesenheit von diastatischem Ferment und konnte es in ihnen stets nachweisen. — Über die quantitativen Verhältnisse der Diastase im Urin wurden in ausgedehntem Maße Untersuchungen von Grützner⁴⁾ und seinen Schülern Gehrig⁵⁾, Hoffmann⁶⁾ und Rosenberg⁷⁾, ferner von Holovtschiner⁸⁾ und von Leo⁹⁾ angestellt. Das Ergebnis war, daß sich in dem Gehalt des Harns an diastatischem Ferment periodische Tagesschwankungen zeigen. So wurde gefunden, daß beim Menschen der Nachmittagsharn 4 bis 5 Stunden nach der Mittagsmahlzeit am reichsten an Diastase ist, dann folgt der Morgenharn und am wenigsten enthält, aber nicht regelmäßig der kurz nach der Hauptmahlzeit abgesonderte

1) Cohnheim, Virchows Archiv 28, 241, 1863.

2) Béchamp, Compt. rend. 60, 445, 1865.

3) Plósz und Tiegel, Pflügers Archiv 7, 391, 1873.

4) Grützner, Breslauer ärztl. Zeitschr. 1882, Nr. 17.

5) Gehrig, Pflügers Archiv 38, 38, 1885.

6) Hoffmann, Pflügers Archiv 41, 148, 1887.

7) Rosenberg, Dissert., Tübingen 1890.

8) Holovtschiner, Virchows Archiv 104, 42, 1886.

9) Leo, Verhandl. d. VII. Congr. f. inn. Medizin 1888.

Urin. — Für den Hund wurde insofern ein anderer Abscheidungsmodus gefunden, als 3 bis 4 Stunden nach der Hauptmahlzeit der Harn arm an diastatischem Ferment ist, erst etwa 8 bis 10 Stunden später wieder größere Mengen davon enthält, und die größten Quantitäten aufzuweisen hat, wenn das Tier in völlig nüchternem Zustande ist. — Ein ähnliches Verhalten wie beim Hunde glaubte Leo auch beim Menschen beobachtet zu haben und stützte sich außer auf eigene Untersuchungen besonders auf eine interessante Beobachtung von N. Zuntz an einem Hungerkünstler. Die Versuchsperson hatte unter normalen Verhältnissen außerordentlich wenig Ferment in ihrem Urin, während der Hungerperiode steigerte sich aber die Menge von Tag zu Tag im Urin, so daß „am letzten Hungertage (6. Tag) schon bei Zufügen von 2 Tropfen des mit Urin versetzten Stärkekleisters zur erhitzten Fehlingschen Lösung die Reduktion des Kupfersulfates begann“. Unter pathologischen Bedingungen speziell beim Diabetes zeigte sich nach den Untersuchungen von Leo die Harndiastase außerordentlich vermehrt. Die gleiche Beobachtung machte auch Bendersky¹⁾, während Lépine²⁾ im Gegenteil eine Verminderung der Diastase im Harn bei Diabetes feststellte. — Aus jüngster Zeit stammen eingehende Untersuchungen über die Harndiastase von Loeper und Ficai³⁾. Diese fanden nach Unterbindung des Ductus Wirsungianus eine erhebliche Abnahme der Diastase im Urin, dagegen eine Zunahme bei Obstipation und Darmverschluß, und beobachteten ferner, daß in akuten Krankheiten die Harndiastase zunimmt, in chronischen und beim Diabetes abnimmt.

Es schien nun wünschenswert, diese teils widersprechenden Angaben so weit als möglich nachzuprüfen und richtig zu stellen. Ich bediente mich dabei des von mir angegebenen Verfahrens, das auch für die Ermittlung der absoluten Diastasemengen im Harn sehr gut geeignet ist. Da die Quantitäten an diastatischem Ferment im Urin nur verhältnismäßig gering sind, so wurden die Versuche genau wie bei der Bestimmung der Diastase im Blut auf 24 Stunden ausgedehnt. Weitere Angaben über die Versuchsanordnung dürften überflüssig sein, zumal sich alles übrige ohne weiteres zum Teil aus den früheren Mitteilungen, zum Teil aus den nachfolgenden Protokollen ergibt.

Bei den häufig wechselnden Reaktionsverhältnissen im Harn galt es zunächst festzustellen, ob Änderungen der Reaktion von Einfluß auf das Resultat der Untersuchungen sein können. Dies schien auf Grund meiner früheren Untersuchungen notwendig,

¹⁾ Bendersky, Virchows Archiv 121, 554, 1890.

²⁾ Lépine, Compt. rend. 113, 1014, 1891.

³⁾ Loeper und Ficai, Arch. de méd. expér. et d'anatom. pathol. 19, 722, 1907.

die ergeben hatten, daß schon minimale Mengen freier Säure und freien Alkalis die Diastase in ihrer Wirkung ganz erheblich hemmen können. Zu dem Zwecke wurden Versuche angestellt einerseits mit sauer resp. alkalisch reagierenden nativen Harnen, andererseits wurde zum Vergleich dieselben Harnen genau neutralisiert und dann auf ihren Diastasegehalt geprüft. Dabei ergab sich, daß die Reaktion des Harns ohne wesentlichen Einfluß auf den Ausfall der Resultate war, vorausgesetzt natürlich, daß in dem Kontrollversuch der Neutralisationspunkt nicht überschritten wurde (Versuch 1). Es wurden demnach in allen weiteren Untersuchungen die Reaktionsverhältnisse des Harns nicht mehr berücksichtigt.

Sodann wurden die Diastasemengen im normalen Urin beim Menschen, beim Hunde und beim Kaninchen untersucht.

Für den Menschen ergab sich zunächst, daß das männliche Geschlecht durchschnittlich etwas mehr Diastase im Urin ausscheidet als das weibliche (Versuch 2). Ferner wurde festgestellt, daß im nüchternen Zustand der Harn die höchsten Diastasekonzentrationen besitzt, daß gleich nach der Nahrungsaufnahme dieselbe sinkt, in den folgenden 3 bis 4 Stunden weiter herabgeht, um von da ab wieder zu steigen. Dieses ist in mehrfach exakt durchgeführten Versuchen festgestellt worden, doch soll nur einer ausführlich mitgeteilt werden (Versuch 3). — Dementsprechend ergaben sich bei der Untersuchung der 24 stündigen Tagesschwankungen in Portionen, die 3 stündlich aufgefangen wurden, Werte, die jedesmal vor der Nahrungsaufnahme höher waren als nach derselben und ihr Maximum in der nüchtern gelassenen Portion hatten (Versuch 4).

Beim Kaninchen zeigte sich ein ähnliches Verhalten der Diastase im Urin, doch war hier der Unterschied kein so großer wie beim Menschen, wahrscheinlich deshalb, weil der Kaninchenmagen innerhalb 24 Stunden eigentlich nie leer wird, somit beständig Speisebrei von dem Magen in den Darm übertritt. Immerhin war aber nicht zu verkennen, daß das nüchterne Tier prozentualer mehr Diastase im Urin hat als das gefütterte (Versuch 5). Ganz besonders deutlich trat dies zutage bei solchen Tieren, die mehrere Tage hungerten. In diesen Fällen übertraf die Diastasekonzentration weit die des vom normal ernährten Tier stammenden Urins (Versuch 6).

Desgleichen beobachtete ich auch beim Hund im Hungerzustande einen deutlich höheren Diastasegehalt im Urin als nach der Fütterung (Versuch 7). Hunde eignen sich indes weniger für diese Untersuchungen, da in der Mehrzahl der Fälle sich keine Diastase oder nur äußerst geringe Mengen davon in ihrem Urin finden, eine Beobachtung, die bereits auch Grützner und seine Schüler gemacht hatten. Ist aber Diastase im Urin vorhanden, so sind die Mengen weit geringer als im menschlichen Harn. Auch der Kaninchenharn zeigt geringere Werte als der Menschenharn.

Harn von pathologischen Zuständen beim Menschen stand mir nur in geringem Maße zur Verfügung; es waren ausschließlich Fälle von Nephritis und von Diabetes. Bei den Nephritiden handelte es sich um zwei akute und zwei chronische. In sämtlichen vier Fällen waren die Diastasewerte bedeutend geringer als im normalen Urin (Versuch 8). Desgleichen war auch in den vier von mir untersuchten Fällen von Diabetes auffallend wenig Diastase im Urin vorhanden (Versuch 9). Die Zahl der Untersuchungen ist natürlich noch eine viel zu geringe, um ein definitives Urteil zu gestatten; es wäre deshalb zu wünschen, daß diese Untersuchungen an einem großen Krankenmaterial fortgesetzt würden unter ständiger Berücksichtigung der 24 stündigen Harnmenge und des spezifischen Gewichtes.

Bei meinen Untersuchungen über das Verhalten der Diastase im Blut hatte sich herausgestellt, daß die Unterbindung der Ausführungsgänge des Pankreas eine außergewöhnliche starke Vermehrung der Diastase im Blut herbeiführt. Es lag nun nahe, zu untersuchen, ob auch die Diastasemenge im Urin unter den nämlichen Versuchsbedingungen in demselben Maße beeinflußt würde. Schon Rosenberg (l. c.) hatte festgestellt, daß nach Unterbindung des Ductus Wirsungianus im Hundeharn geringe Mengen an Diastase sich zeigen, während vorher keine Diastase in ihm nachzuweisen war. Loeper und Ficaï (l. c.) dagegen waren zu dem entgegengesetzten Resultat gekommen, daß nämlich nach Unterbindung des Hauptausführungsganges des Pankreas die Diastase im Urin abnimmt. Meine Beobachtungen erstrecken sich auf eine große Reihe (10) von Fällen. Bei allen ließ sich stets zeigen, daß parallel mit dem Ansteigen der Diastase im Blut auch im Urin die Diastase beträchtlich

zunahm, und daß mit dem Abschwellen der Diastasewerte im Blut auch im Harn die Diastasemenge abnahm. Ich beschränke mich darauf, zwei Versuche hier ausführlich wiederzugeben (Versuch 10 und 11). Weiterhin stellte sich heraus, daß es keineswegs notwendig war, durch Unterbindung der Gänge eine Rückstauung und Resorption des ganzen Sekretes oder seines größten Teiles zu veranlassen um eine Vermehrung der Diastase im Urin zu erzielen, sondern es genügte schon Abschnürung einer verhältnismäßig kleinen Partie des Pankreas, um ein deutliches Ansteigen der Diastase im Urin hervorzurufen. Diese Vermehrung hielt allerdings nur ganz kurze Zeit an, um bald darauf wieder zu verschwinden (Versuch 12).

Hiernach schien es aussichtsvoll, solche menschlichen Fälle auf ihren Diastasegehalt im Urin zu untersuchen, bei denen die Symptome auf einen totalen oder wenigstens partiellen Verschuß des Ductus pancreaticus hinwiesen. Solche Fälle standen mir bisher nur zwei zur Verfügung. Der eine, den ich der Freundlichkeit des Kollegen Ehrmann verdanke, betraf eine Frau im Alter von einigen 40 Jahren und zeigte die bekannten Fettstühle mit reichlicher Durchsetzung von Muskelfasern. Die Untersuchung des Urins wurde zu verschiedenen Zeiten vorgenommen und ergab die ersten beiden Male einen so hohen Wert für die Diastase, wie ich ihn bisher noch nie am Menschen beobachtet hatte; bei den nächsten drei Untersuchungen waren die Werte schon fast normal, und späterhin wurden ausschließlich Diastasemengen beobachtet, die sich durchaus in normalen Grenzen bewegten. — Ein anderer Fall, von dem ich bisher nur einmal den Urin zur Untersuchung bekam, betraf ebenfalls eine Frau, bei der auch alle Symptome für einen mehr oder weniger völligen Verschuß des Ductus pancreaticus sprachen. Auch in diesem Falle zeigte der Urin eine hohe Diastasekonzentration. Es war mir aus äußeren Gründen leider nicht möglich, weitere Urinportionen von dieser Patientin zu bekommen (Versuch 13).

Es wäre natürlich verfrüht, schon jetzt aus diesen kurzen Beobachtungen irgendwelche Schlüsse für die Diagnostik der Pankreaserkrankungen insbesondere des Verschlusses des Ductus pancreaticus zu ziehen. Dazu bedarf es weiterer eingehender Studien an einer großen Reihe ähnlich gearteter Fälle. Es ist

aber mit großer Wahrscheinlichkeit zu erwarten, daß in allen Fällen mit partiellem oder totalem Pankreasverschluß eine Vermehrung der Diastase im Urin sich einstellen wird. Voraussetzung dabei ist natürlich, daß man den betreffenden Patienten rechtzeitig zur Untersuchung bekommt und nicht erst dann, wenn sich — wie die obigen Tierversuche illustrieren — die Störung in der Diastasekonzentration wieder ausgeglichen hat, was mitunter schon nach wenigen Tagen der Fall sein kann. — Fernerhin wird man auch in diesen Fällen dem Verhalten der Diastase in den Faeces seine Aufmerksamkeit zuwenden müssen, zumal experimentelle Untersuchungen am Tier ergeben haben, daß nach Pankreasverschluß der sonst recht beträchtliche Diastasegehalt der Faeces auf ein Minimum zurückgeht.¹⁾ Darüber und über die angewandte Methodik soll demnächst an anderer Stelle berichtet werden.

Im Anschluß hieran sei noch eine andere Beobachtung mitgeteilt, die ebenfalls von klinischem Interesse ist. Von gewissen Überlegungen ausgehend, hatte ich untersuchen wollen, wie sich bei Hunden die Diastase im Blut und im Urin verhält, wenn man durch Unterbindung des Ductus choledochus eine Stauung der Galle und einen Übertritt der Galle ins Blut hervorruft. Dabei beobachtete ich folgendes: In den ersten Tagen nach der Unterbindung des Ductus choledochus änderte sich weder der Diastasegehalt des Blutes noch der des Urins. Erst nach Verlauf von 6 bis 8 Tagen, bisweilen auch nach 14 Tagen traten ziemlich unvermittelt im Harn größere Mengen an Diastase auf, und ebenso enthielt dann das Blut mehr Diastase als normal; in den nächstfolgenden Tagen war der Diastasegehalt noch erheblich gestiegen.

Ich hatte nun zunächst daran gedacht, daß durch die Stauung der Galle in der Leber der Anteil an Diastase, der sonst durch die Galle in den Darm entleert wird, in die Blutbahn und von da in den Urin gelangt und so die Vermehrung der Diastase im Urin bedingt. Da aber, wie sich später herausstellte, die Diastasemengen in der Galle viel geringer sind, als man sie im Harn der Hunde nach Unterbindung des Ductus choledochus antrifft, vermutete ich, daß vielleicht durch die

¹⁾ Zu gleichen Resultaten ist neuerdings ganz unabhängig O. F. Wyntzen gekommen; s. Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 30.

Galle eine Aktivierung der an sich nicht großen Diastasemengen statthabte und dadurch die auffallend großen Werte bedingt werden. Diesen Gedanken habe ich experimentell verfolgt und berichte über das Ergebnis dieser Untersuchungen in der folgenden Mitteilung VI.

Immerhin blieb, selbst wenn jene Annahme in allen ihren Teilen zuträfe, noch der eine Punkt unaufgeklärt, warum erst so lange Zeit verstreichen mußte, bis die ersten Anzeichen einer Vermehrung der Diastase im Urin sich bemerkbar machten. War die Stauung der Galle tatsächlich die einzige Ursache für das Ansteigen der Diastasewerte, so war nicht einzusehen, warum nicht sofort nach der Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus diese Vermehrung auftrat. Dazu kam noch ein anderes wichtiges Symptom, das durch die Gallenstauung allein kaum zu erklären war. Wenn die Tiere nicht gar zu schnell nach dem operativen Eingriff zugrunde gingen, konnte man beobachten, daß nach dem ziemlich unvermittelten Ansteigen der Diastasewerte im Urin die nächsten 2 bis 3 Tage die Menge noch weiter wuchs, dann aber allmählich zurückging und schon nach 6 bis 8 Tagen wieder in normalen Grenzen sich bewegte (Versuch 14 und 15). Diese Beobachtung durch die Gallenstauung erklären zu wollen, war schlechterdings unmöglich. Dagegen erinnerte dieser Typus des plötzlichen Ansteigens und allmählichen Abfallens lebhaft an das Verhalten der Diastase im Urin nach Unterbindung eines Ausführungsganges des Pankreas. Auch dort beobachtet man, wie aus obigen Versuchen ersichtlich, ein plötzlich starkes Ansteigen und bald darauf ein allmähliches Absinken der Diastasemengen.

Es lag darum nahe, zu vermuten, daß die Vermehrung der Diastase im Urin nach Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus gar nicht die direkte Folge dieses operativen Eingriffes ist, sondern daß erst sekundär durch einen allmählich spontan eintretenden Verschuß des oberen Pankreasausführungsganges, der ganz in der Nähe des Ductus choledochus in den Darm mündet, diese Erscheinung hervorgerufen wird. Hierfür schienen auch die anatomischen Verhältnisse zu sprechen; denn wir wissen, daß der Ductus choledochus mit dem oberen Ausführungsgang des Pankreas in ein und dieselbe Darmpapille mündet. Es war darum wohl denk-

bar, daß, wenn man den Ductus choledochus unterbindet und durchschneidet, infolge der Narbenbildung allmählich eine Retraktion stattfindet und dadurch ein sekundärer Verschluß des dicht daneben mündenden Pankreasausführungsganges bedingt werden kann.¹⁾ Vielleicht besteht auch zwischen der Mündung des Ductus choledochus und der des oberen Pankreasausführungsganges ein gemeinsamer nervöser Mechanismus, welcher bei der Schädigung des einen Ausführungsganges gleichzeitig oder allmählich eine Beeinträchtigung des anderen bedingt. Geht doch aus den Untersuchungen von Bayliss und Starling²⁾ hervor, daß zwischen Pankreas- und Gallensekretion ein inniger Zusammenhang existiert, eine Tatsache, die neuerdings von Alexander und Ehrmann³⁾ durchaus bestätigt werden konnte.

War nun die Vermutung richtig, daß die Vermehrung der Diastase im Urin nach Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus nicht direkt auf diesen Eingriff, sondern auf einen erst später spontan erfolgenden Verschluß des in der Nähe gelegenen Ausführungsganges des Pankreas zurückzuführen war, so durfte bei Hunden, denen man vorher den oberen Pankreasgang unterbunden, und bei denen man die gewöhnlich sofort darauf erfolgende Vermehrung der Diastase im Blut sowohl wie im Urin und den später eintretenden Abfall derselben abgewartet hatte, nachher eine Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus keine Vermehrung der Diastase im Urin mehr hervorrufen. Das traf in der Tat zu. Drei Hunde, denen ich längere Zeit vorher den oberen Pankreasausführungsgang unterbunden und durchschnitten hatte, zeigten nach Durchtrennung des Ductus choledochus niemals eine Ver-

¹⁾ Bei drei Hunden, die an den Folgen der Ductusdurchschneidung zugrunde gegangen waren, ließ sich später tatsächlich feststellen, daß der bei dem Ductus choledochus mündende Pankreasgang verschlossen war. Denn bei der Injektion von Methylenblaulösung in den im Kopfe des Pankreas liegenden Hauptgang trat aus der Mündung des unteren Ausführungsganges die Farbstofflösung in feinem Strahl heraus, während aus der oberen Mündung erst auf sehr starken Druck ein paar Tropfen hervorsickerten.

²⁾ Bayliss und Starling, Journ. of Physiol. 28, 325, 1902.

³⁾ Alexander und Ehrmann, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther 5, 20, 1908.

mehrung der Diastase im Urin, wie man sie sonst stets danach beobachtet. Damit ist der Beweis erbracht, daß nicht die Unterbindung des Ductus choledochus, sondern der sich hiernach spontan sekundär entwickelnde Verschuß des in dieselbe Darm-papille mündenden Pankreasausführungsganges als die Ursache für die später eintretende Vermehrung der Diastase im Urin resp. im Blute anzusehen ist.

Auch dieser Befund darf ein klinisches Interesse für sich beanspruchen insofern, als man bei Fällen von katarrhalischem Ikterus oder solchen, bei denen aus irgend einem anderen Grunde der Abfluß der Galle nach dem Darm behindert ist, gewärtig sein kann, einem gleichzeitig oder sekundär sich entwickelnden Verschuß des oberen Pankreasausführungsganges zu begegnen. Über den Eintritt eines solchen Verschlusses dürfte am ehesten das Verhalten der Diastase im Blut oder besser noch der Diastase im Urin und in den Faeces Auskunft geben. Ich halte es darum bei allen diesen Fällen in Zukunft für geboten, will man über diesen Punkt ständig informiert sein, in kurzen Zeitintervallen (jeden 2. Tag) die Diastasemenge im Urin und in den Faeces zu kontrollieren. Am geeignetsten für die Urinuntersuchung dürfte, wie aus den vorhin mitgeteilten Versuchen am Menschen hervorgeht, diejenige Portion sein, die morgens nüchtern nach dem Nachturin entleert wird.

Experimenteller Teil.

I.

Einfluß der Reaktion des Harnes auf die Diastase.

Versuch 1.

Harn- menge	Kaninchenharn		Hundeharn		Menschenharn	
	nativ (alk.)	neutral	nativ (sauer)	neutral	nativ (sauer)	neutral
1,0	+	+	+	+	+	+
0,64	+	+	+	+	+	+
0,4	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	limes	limes	+	+
0,16	limes	limes	—	—	+	+
0,1	—	—	—	—	+	+
0,064	—	—	—	—	+	+
0,04	—	—	—	—	limes	limes
$D_{24}^{38^{\circ}}$	20	20	12,5	12,5	78	78

II.

Schwankungen der Diastasemengen im menschlichen Harn.

Versuch 2.

Harnmenge	Mann		Frau	
	nüchtern	2 Std. nach der Mahlzeit	nüchtern	2 Std. nach der Mahlzeit
0,25	+	+	+	+
0,16	+	+	+	limes
0,1	+	+	+	—
0,064	+	limes	limes	—
0,04	+	—	—	—
0,025	limes	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	125	50	50	20

Versuch 3.

Einfluß der Ernährung auf den Diastasegehalt, Stundenversuch.

Harnmenge	Nüchtern			Nach der Nahrungsaufnahme			
	1 Std.	2 Std.	3 Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.
0,2	+	+	+	+	+	+	+
0,128	+	+	+	+	+	limes	+
0,08	+	+	+	+	limes	—	limes
0,05	+	+	+	limes	—	—	—
0,032	limes	limes	limes	—	—	—	—
0,02	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	100	100	100	62,5	39	25	39
Gesamturinmenge in ccm	29	29	40	42	49	54	48

Versuch 4.

24-Stunden-Versuch, Untersuchungen des Harnes nach Verlauf von je 3 Stunden. Nahrungsaufnahmen fanden statt: um 8 $\frac{1}{2}$ Uhr früh, um 3 $\frac{1}{2}$ Uhr mittags, um 7 $\frac{1}{2}$ Uhr abends.

Harnmenge	Port. 1 8 Uhr vorm.	Port. 2 11 Uhr vorm.	Port. 3 2 Uhr nachm.	Port. 4 5 Uhr nachm.	Port. 5 8 Uhr nachm.	Port. 6 11 Uhr nachts	Port. 7 1 Uhr nachts	Port. 8 7 Uhr vorm.	Port. 9 8 Uhr vorm.
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,08	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,05	+	limes	+	limes	limes	limes	+	+	+
0,031	limes	—	limes	—	—	—	limes	limes	+
0,02	—	—	—	—	—	—	—	—	limes
0,0125	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	100	62,5	100	62,5	62,5	62,5	100	100	160

III.

Schwankungen der Diastasemengen im Kaninchenharn.

Versuch 5.

Harnmenge	Kaninchen I		Kaninchen II		Kaninchen III	
	nüchtern	ernährt	nüchtern	ernährt	nüchtern	ernährt
1,0	+	+	+	+	+	+
0,64	+	+	+	+	+	+
0,4	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	limes	+	+
0,16	+	limes	limes	—	+	limes
0,1	limes	—	—	—	limes	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	31	20	20	12,5	31	20

Versuch 6.

Kaninchen hungert während der ganzen Versuchsdauer (im ganzen 9 Tage) und bekommt am Abend des 9. Tages reichlich Futter.

Harnmenge	Norm. Tag	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag	7.Tag	8.Tag	9.Tag	10.Tag
0,125	limes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,064	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	limes
0,04	—	limes	+	+	+	+	+	+	+	+	—
0,025	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—
0,016	—	—	limes	+	+	+	+	+	+	+	—
0,01	—	—	—	limes	limes	limes	+	+	+	+	—
0,0064	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
0,004	—	—	—	—	—	—	limes	limes	+	+	—
0,0025	—	—	—	—	—	—	—	—	limes	limes	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	40	78	200	310	310	310	780	780	1250	1250	50
Urinmenge in ccm	—	—	50	35	15	17	18	4	12	6,5	230

IV.

Schwankungen der Diastasemengen im Hundeharn.

Versuch 7.

Das Versuchtier bekommt während der Dauer von 7 Tagen nichts zu fressen und wird am Abend des 7. und am Morgen des 8. Tages reichlich gefüttert.

Harnmenge	Normaltag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
0,64	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,4	limes	+	+	+	+	+	+	+	limes
0,25	—	limes	limes	+	+	+	+	+	—
0,16	—	—	—	limes	+	+	+	+	—
0,1	—	—	—	—	limes	+	+	+	—
0,064	—	—	—	—	—	limes	limes	+	—
0,04	—	—	—	—	—	—	—	limes	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	7,8	12,5	12,5	20	31	50	50	78	7,8

V.

Diastasemengen in nephritischen Harnen.

Versuch 8.

Harnmenge	Pyelonephr.	Hämorrh. Neph.	Morb. Bright.	Chron.interst. Nephrit.
1,0	+	+	+	+
0,64	+	+	+	+
0,4	+	+	+	+
0,25	limes	limes	+	+
0,16	—	—	+	limes
0,1	—	—	limes	—
0,064	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	12,5	12,5	31	20

VI.

Diastasemengen in diabetischen Harnen.

Versuch 9.

Harnmenge	Fall 1	Fall 2	Fall 3	Fall 4
1,6	+	+	+	+
0,64	+	+	+	+
0,4	limes	+	+	limes
0,25	—	limes	+	—
0,16	—	—	limes	—
0,1	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	7,8	12,5	20	7,8

VII.

Einfluß der Unterbindung der Ausführungsgänge des
Pankreas auf die Diastasemengen im Urin.

Versuch 10 (Kaninchen).

Urin- menge	1. Tag	2. Tag*	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
0,125	limes	+	+	+	+	+	+	+
0,1	—	limes	+	+	+	+	+	limes
0,064	—	—	+	+	+	+	+	—
0,04	—	—	+	+	+	+	+	—
0,025	—	—	+	+	+	+	+	—
0,016	—	—	+	+	+	+	limes	—
0,01	—	—	+	+	+	+	—	—
0,0064	—	—	limes	+	limes	+	—	—
0,004	—	—	—	limes	—	limes	—	—
Urin-D _{24^h} ^{38°}	> 40	40	500	780	500	780	200	40
Serum-D _{24^h} ^{38°}	78	—	500	—	780	500	—	78

* Unterbindung des Ductus Wirsungianus.

Versuch 11 (Hund).

Urin- menge	1. Tag	2.Tag*	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag
1,0	—	—	+	+	+	+	+	+	limes
0,5	—	—	+	+	+	+	+	+	—
0,25	—	—	+	+	+	+	+	limes	—
0,125	—	—	+	+	+	+	+	—	—
0,062	—	—	+	+	+	+	+	—	—
0,032	—	—	limes	+	+	+	limes	—	—
0,016	—	—	—	+	+	+	—	—	—
0,008	—	—	—	+	+	limes	—	—	—
0,004	—	—	—	limes	limes	—	—	—	—
D _{24^h} ^{38°}	0	0	80,5	625	625	312,5	80,5	10	> 5
Serum- D _{24^h} ^{38°}	312,5	312,5	1250	5000	2500	2500	1250	1250	625

* Unterbindung des oberen Pankreasausführungsganges.

Versuch 12 (Hund).
Abschnüren des Schwanzendes des Pankreas.

Harnmenge	1. Tag	2. Tag*	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
0,5	+	+	+	+	+	+	+
0,25	limes	limes	+	+	+	+	+
0,125	—	—	+	+	+	+	limes
0,1	—	—	+	+	+	+	—
0,064	—	—	limes	+	+	limes	—
0,04	—	—	—	+	+	—	—
0,025	—	—	—	+	limes	—	—
0,016	—	—	—	limes	—	—	—
0,01	—	—	—	—	—	—	—
Urin-D $_{24^h}^{38^o}$	10	10	50	200	125	50	20
Serum-D $_{24^h}^{38^o}$	310	—	1250	2500	—	1250	—

* Operation.

VIII.

Pankreasverschluß beim Menschen.

Versuch 13.

Harnmenge	Fall I							Fall II
	Port. 1	Port. 2	Port. 3	Port. 4	Port. 5	Port. 6	Port. 7	
0,25	+	+	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	limes	limes	+
0,062	+	+	+	+	+	—	—	+
0,032	+	+	+	+	limes	—	—	+
0,016	+	+	limes	limes	—	—	—	+
0,008	+	+	—	—	—	—	—	+
0,004	limes	+	—	—	—	—	—	limes
0,002	—	limes	—	—	—	—	—	—
D $_{24^h}^{38^o}$	625	1250	156	156	80	20	20	625

IX.

Einfluß der Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus auf die Diastasemengen im Urin.

Versuch 14.

Rehpintscher, 4500 g, wird 3 Tage bei normaler Ernährung auf seinen Diastasegehalt im Urin beobachtet. Zur Untersuchung kam stets der Urin in den ersten Vormittagsstunden, der mittels Katheters aus der Blase entleert wurde. Am 4. Tage Unterbindung und Durchschneidung des Ductus choledochus 0,5 cm vom Darm unter Morphium-Äthernarkose.

Urin- menge	1. bis 3. Tag	4. Tag (Ope- ration)	5. Tag	6. bis 8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. bis 22. Tag
1,0	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
0,5	—	—	—	—	limes	+	+	+	+	+	—
0,25	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
0,125	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
0,062	—	—	—	—	—	+	+	+	+	limes	—
0,032	—	—	—	—	—	limes	+	+	—	—	—
0,016	—	—	—	—	—	—	+	limes	—	—	—
0,008	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	limes	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0}$	0	0	0	0	5	80,5	625	156	40	20	—
Serum- $D_{24^h}^{38^0}$	312,5	—	—	312,5	—	2500	—	2500	—	1250	312,5

Versuch 15.

Spitz, 6900 g wird ebenfalls 3 Tage bei normaler Ernährung beobachtet, der Urin jeden Morgen mittels Katheters aus der Blase entnommen und sofort auf seinen Diastasegehalt untersucht. Am 4. Tage Unterbindung und Durchneidung des Ductus choledochus 0,5 cm vom Darm unter Morphinum-Äthernarkose.

Urin- menge	1. bis 3. Tag	4. Tag (Ope- ration)	5. bis 14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag	18. Tag	19. Tag	20. Tag	21. Tag	22. bis 26. Tag	26. Tag
1,0	limes	—	limes	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,5	—	—	—	limes	+	+	+	+	+	+	+	+
0,25	—	—	—	—	+	limes	+	+	+	+	+	limes
0,125	—	—	—	—	limes	—	limes	+	+	limes	limes	—
0,062	—	—	—	—	—	—	—	limes	+	—	—	—
0,032	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
0,016	—	—	—	—	—	—	—	—	limes	—	—	—
0,008	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0}$	> 5	0	> 5	5	20	10	20	40	156	20	20	10
Serum- $D_{24^h}^{38^0}$	625	—	655	—	—	—	1250	—	2500	—	—	—

Untersuchungen über die Diastasen. VI.

Über den Einfluß der Galle auf die Diastase.

Von

J. Wohlgemuth.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

Bei meinen Untersuchungen über das Verhalten der Diastase im Blut und im Urin machte ich gelegentlich die Beobachtung, daß bei Hunden nach Unterbindung des Ductus choledochus im Blut sowohl wie im Urin die Diastasewerte ganz beträchtlich anstiegen. Diese Tatsache konnte man sich zunächst so erklären, daß durch den Übertritt der Galle in den Kreislauf das Blut resp. der Urin tatsächlich einen Zuwachs an Ferment erfahren hatte, oder daß mit der Galle eine Substanz in die Blutzirkulation gekommen war, welche aktivierend auf die Diastase wirkte, oder aber, daß wir es mit dem Zusammenwirken beider Faktoren zu tun hatten.¹⁾

Aus diesem Grunde war es wichtig, festzustellen, einmal wie groß die diastatische Kraft der Galle selbst ist, sodann ob überhaupt die Galle einen Einfluß auf die diastatische Wirkung besitzt und welcher Art dieser Einfluß ist.

Was den ersten Punkt anbetrifft, so gibt Jacobsohn²⁾, der zuerst eine Diastase in der Galle beobachtet hatte, und übereinstimmend mit ihm v. Wittig³⁾ an, daß deren Mengen recht gering sind. Bezüglich

¹⁾ In Wirklichkeit hatte sich später herausgestellt, daß die Vermehrung der Diastase im Blut und im Urin nichts mit dem Übertritt der Galle in den Kreislauf zu tun hatte, sondern zurückzuführen war auf einen sekundär spontan auftretenden Verschuß des in dieselbe Darmpapille mündenden Pankreasganges (s. Mitteilung V).

²⁾ Zitiert nach v. Wittich, Pflügers Archiv 6, 181, 1872.

des zweiten Punktes findet sich in der ganzen Literatur nur eine kurze Notiz und zwar in einer Arbeit von Falk¹⁾, aus der hervorgeht, daß die Galle die Wirkung des Speichels in geringem Grade hemmt. Alle sonstigen Untersuchungen beziehen sich auf den Einfluß der Galle auf die Gärstätigkeit des Zymins (M. Hahn²⁾ und auf die Wirkung des Invertins (Spallito.³⁾)

Ich bestimmte zunächst den Eigengehalt der Galle an diastatischem Ferment, und zwar diente mir als Untersuchungsobjekt die Galle von 2 Hunden, die eine Gallenblasenfistel trugen. Die Galle kam jedesmal frisch zur Untersuchung und wurde in der gleichen Weise verarbeitet, wie das Serum resp. der Harn, d. h. es wurde eine Reihe von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen Galle beschickt, dazu je 5 ccm 1%ige Stärkelösung zugegeben, jede Portion mit etwas Toluol überschichtet, um Fäulnis zu verhüten, und die Gläschen verschlossen in einen Thermostaten gebracht. Da die Galle nur geringe diastatische Wirkung besitzt, wurden die Versuche stets über 24 Stunden ausgedehnt. Dabei ergaben sich Schwankungen zwischen $D_{24h}^{38^{\circ}} = 20$ und $D_{24h}^{38^{\circ}} = 40$. Darüber hinaus wurden niemals Werte gefunden; wohl aber blieb die diastatische Kraft bisweilen hinter dem kleineren Wert zurück (Versuch 1). Unter Toluol und Chloroform aufbewahrte Galle behält wochen- ja monatelang ihre diastatische Kraft in ungeschwächtem Maße; es ist dabei nicht einmal erforderlich, daß man sie bei niedriger Temperatur hält (Versuch 2).

Hiernach wurde untersucht, ob die Galle wirklich imstande ist, die Diastase anderer Körperflüssigkeiten günstig zu beeinflussen, oder ob die oben zitierte Beobachtung von Falk zutrifft, daß Galle die Speichelwirkung hemmt. Dabei war natürlich zu berücksichtigen, daß in der Galle Kochsalz in mäßigen Mengen vorhanden ist. Da aber Kochsalz an sich schon die Diastasewirkung nicht unerheblich verstärkt, so mußte bei der Feststellung des Einflusses der Galle der Effekt des Kochsalzes in Abzug gebracht werden. Nach Hamarsten⁴⁾ besitzt die Blasengalle des Menschen 0,29 bis 0,30% NaCl; über den Kochsalz-

1) F. Falk, Virchows Archiv 84, 119, 1881.

2) M. Hahn, Münch. med. Wochenschr. 1903, 2172.

3) F. Spallito, Arch. di farmacol. speriment. e scienze aff. 4, 200, 1905.

4) Hamarsten, Ergebn. d. Physiol. 4, 35, 1905.

gehalt der Blasengalle des Hundes habe ich keine Angaben in der Literatur gefunden. Ich habe darum in einigen Gallenportionen selber die NaCl-Menge bestimmt und Werte gefunden, die zwischen 0,34 bis 0,49^o/_o schwankten. Um ganz sicher zu gehen, verwandte ich immer in der Kontrollreihe eine nahezu doppelt so starke Kochsalzlösung von 0,9^o/_o. Die Speichelversuche mit Galle ergaben nun stets eine deutlich verstärkte Diastasewirkung gegenüber der Kontrollreihe mit Kochsalz, besonders aber gegenüber der Versuchsreihe mit Speichel allein. Am eklatantesten trat der Unterschied hervor in den Versuchen, die über 24 Stunden ausgedehnt wurden (Versuch 3, 4).

In dem gleichen Sinne fielen die Versuche aus bei Anwendung von menschlichem Pankreassaft.¹⁾ Auch hier ergab sich eine wesentliche Verstärkung gegenüber den Kontrollen (Versuch 5).

Das gleiche Resultat wurde mit der Diastase des Serums sowohl wie mit der des Urins gewonnen. In beiden Fällen waren unter dem Einfluß der Galle die Werte wesentlich erhöht (Versuch 6, 7).

Auch die Diastase der Leber wurde von der Galle in der Entfaltung ihrer Wirkung begünstigt. Es ergaben sich auch hier mitunter Werte, welche die der Kontrollreihen um das 3-, ja 4fache übertrafen (Versuch 8).

Aber nicht allein die tierischen Diastasen, sondern auch pflanzliche werden von der Galle deutlich verstärkt. Dies zeigten Versuche mit der Takadiastase, dann aber auch ganz besonders die Versuche mit der Diastase des Hafers. Letztere eignet sich für vorliegende Zwecke ausgezeichnet als Untersuchungsobjekt besonders deshalb, weil sie von Kochsalz allein so gut wie gar nicht beeinflußt wird. Die unter dem Einfluß der Galle mit der Haferdiastase erhaltenen Werte überstiegen die Kontrollreihen auch hier um das 3- bis 4fache (Versuch 9,10). Zahlreiche Versuche mit Blasengalle von Menschen, die bei der Sektion gewonnen war, hatten ganz das gleiche Resultat (Versuch 11, 12).

Aus sämtlichen Versuchen geht somit deutlich hervor, daß die Galle neben ihrer eigenen diastati-

¹⁾ Der Pankreassaft, den ich der Liebenswürdigkeit von Kollegen Rosenbach verdanke, stammt aus einer Pankreasfistel, die nach einem operativen Eingriff infolge einer Pankreasruptur zurückgeblieben war.

schen Kraft die Fähigkeit besitzt, tierische sowohl wie pflanzliche Diastase in ihren Wirkungen erheblich zu verstärken.

Diese Fähigkeit ist eine so ausgeprägte, daß schon ganz geringe Mengen von Galle (4 mg) genügen, um eine Aktivierung beispielsweise der Diastase im menschlichen Pankreassaft zustande zu bringen. Dagegen üben große Mengen von Galle einen hemmenden Einfluß auf die Diastase aus (Versuch 13).

Es fragte sich nun, worauf beruht diese Eigenschaft der Galle. Zwei Möglichkeiten kamen hierfür in Betracht: entweder mußte es sich um ein organisiertes Ferment handeln oder um irgendeinen andern Bestandteil der Galle. Um zunächst diese Frage zu entscheiden, wurden neben Versuchen mit nativer Galle, die als Kontrolle dienen sollten, solche mit vorher im siedenden Wasserbad 30 Minuten lang erhitzter Galle angestellt. Von Diastasen kamen hierbei fast alle zur Verwendung; ich will jedoch nur einen Versuch mit Leber- und einen mit Haferdiastase anführen (Versuch 14, 15). Sie ergaben alle einstimmig, daß die Galle durch Erhitzen im Wasserbad oder auch auf freier Flamme an ihrer aktivierenden Wirkung nichts einbüßt. Die aktivierende Wirkung der Galle beruht also nicht auf einem organisiertem Ferment.

Sodann wurde geprüft, welchen Einfluß die Dialyse auf den Aktivator der Galle hat. Zu dem Zweck wurde frische Hundegalle, der zur Verhütung von Fäulnis Toluol zugesetzt war, in einer Fischblase gegen fließendes Wasser 48 Stunden dialysiert und danach auf ihre Fähigkeit geprüft, die Diastase zu aktivieren. Es stellte sich heraus, daß in einem Falle die Aktivierung nicht eintrat (Versuch 16), mit einer zweiten, ebenfalls 48 Stunden dialysierten Portion nur ganz gering war gegenüber der Wirkung normaler, nicht dialysierter Galle (Versuch 17). Es geht also die Galle durch Dialyse ihrer aktivierenden Fähigkeit zum allergrößten Teil verlustig.

Weiterhin wurde untersucht, ob der aktivierende Körper der Galle in Alkohol übergeht. Es wurden einige Kubikzentimeter Galle in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad bis zur Sirupkonsistenz eingeengt, mit warmem 96%igen Alkohol extrahiert, das Extrakt durch Verdunsten vom Alkohol befreit

und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Auch mit ihm gelang es, die diastatische Wirkung ziemlich beträchtlich zu verstärken (Versuch 18).

Endlich wurde geprüft, ob die aktivierende Fähigkeit der Galle etwa auf der Gegenwart cholsaurer Salze beruht. Die Untersuchungen wurden mit taurocholsaurem Natron in den verschiedensten Konzentrationen ausgeführt, ergaben aber bisher stets ein negatives Resultat; dünne Lösungen dieses Salzes blieben ohne jeden Effekt, stärker konzentrierte hemmten wiederum die Diastase (Versuch 19).

Die Versuche werden weiter fortgesetzt.

Was also bisher mit Sicherheit festgestellt werden konnte, ist, daß es sich bei der aktivierenden Wirkung der Galle aller Wahrscheinlichkeit nach nicht um ein organisiertes Ferment handelt sondern um eine kochbeständige dialysable, in Alkohol lösliche Substanz.

Dieser Befund darf für sich ein besonderes Interesse beanspruchen im Hinblick auf die Erfahrungen, die man auf dem Gebiet des Kohlenhydratstoffwechsels bei Verschuß des Ductus choledochus gemacht hat.

Als erster hat J. Wickham Legg¹⁾ beobachtet, daß der Claude Bernardsche Zuckerstich bei Kaninchen unwirksam bleibt, wenn ihnen vorher der Ductus choledochus unterbunden worden war, und man schloß daraus, daß die Leber an Glykogen verarmt sein müsse. Diese Annahme wurde durch Versuche von v. Wittich²⁾. Külz und Frerichs³⁾ bestätigt; es zeigte sich hauptsächlich, daß nach Gallengangsunterbindung das Glykogen aus der Leber verschwindet. In besonders anschaulicher Weise demonstrierten dies Dastre und Arthus⁴⁾, indem sie nicht den ganzen Ductus choledochus, sondern einzelne Äste des Ductus hepaticus unterbanden. Auf diese Weise wurden nur einzelne Partien der Leber ikterisch, und diese enthielten dann weit weniger Glykogen als die normalen Leberteile. Auch Hergenhahn⁵⁾ konnte bei Kaninchen, denen er den Gallengang unterbunden hatte, nur Spuren von Glykogen in deren Leber nachweisen, obwohl er ihnen lange Zeit hindurch große Dosen von Zucker verabfolgt hatte. Gleichzeitig konstatierte er, daß auch die

1) J. Wickham Legg, St. Barth. Hosp. Reports 9, 175, 1873 und Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 384, 1884.

2) v. Wittich, Centralbl. f. med. Wiss. 75, 291, 1875.

3) Külz und Frerichs, Pfügers Archiv 13, 460, 1876.

4) Dastre und Arthus, Arch. de physiol. 1, 473, 1889.

5) Hergenhahn, Arb. aus d. städt. Krankenh. Frankfurt 1896, 79.

Muskeln dieser Tiere außerordentlich arm an Glykogen waren. Selbst bei einem Menschen war man in der Lage, eine ähnliche Beobachtung zu machen. Hierüber berichtet von Noorden¹⁾, und zwar handelte es sich um einen Fall von hochgradigem Ikterus, bei dem wegen Verdacht auf Leberabsceß eine Probepunktion der Leber vorgenommen worden war; dabei wurden Leberzellen erhalten, in denen mikroskopisch auch nicht eine Spur von Glykogen nachzuweisen war.

Alle diese Beobachtungen nun lassen sich zwanglos erklären durch die oben mitgeteilte Tatsache, daß die Galle imstande ist, das diastatische Ferment beträchtlich zu aktivieren. Danach kann man sich vorstellen, daß die Leber und ebenso die Muskeln die Fähigkeit verloren haben, das Glykogen in ihren Zellen aufzuspeichern, weil eben unter dem Einfluß der in ihnen befindlichen Galle der diastatische Prozeß dermaßen gesteigert ist, daß das Glykogen, kaum gebildet, sofort wieder abgebaut wird.²⁾ Wenn nun Weintraud³⁾ meint, daß diese im Tierexperiment gewonnenen Erfahrungen sich nicht in bequemen Einklang bringen lassen mit jenen Tatsachen der Krankenbeobachtung, wonach Menschen mit Ikterus nach großen Dosen von Traubenzucker keine Glucosurie bekommen (Frerichs⁴⁾, v. Noorden (l. c.) und Strauß⁵⁾, obwohl sie doch nicht imstande sind, Glykogen anzusetzen, so kann man dem entgegenhalten, daß ebenso wie der Glykogenabbau unter dem Einfluß der in den Zellen und im Blute kreisenden Galle wahrscheinlich auch der Zuckerabbau gesteigert ist, eine Vermutung, die allerdings noch der experimentellen Begründung bedarf.

¹⁾ v. Noorden, Pathologie des Stoffwechsels, 1. Aufl. 1893, 274.

²⁾ Man könnte ferner daran denken, daß die Leber- und Muskelzellen unter dem Einfluß der Galle auch an ihrer Tätigkeit, Glykogen zu bilden, Schaden genommen haben. Doch ist es nicht möglich, sich über diesen Punkt ein Urteil zu bilden, da man ja nicht einmal die für die Glykogensynthese in Betracht kommenden Faktoren kennt.

³⁾ Weintraud, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. v. Noorden 1, 868, 1906.

⁴⁾ Frerichs, Über den Diabetes. Berlin 1884, 43.

⁵⁾ Strauß, Deutsche med. Wochenschr. 1901, 757.

Experimenteller Teil.¹⁾

I. Feststellung der Diastasemengen der Galle in verschiedenen Portionen.

Versuch 1.

Gallenmenge	8. II.	11. II.	15. II.	2. VI.	9. VI.	11. VI.
1,0	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+
0,125	+	limes	+	+	limes	limes
0,062	limes	—	limes	limes	—	—
0,032	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	40	20	40	40	20	20

Versuch 2.

Galle vom 8. II. wird unter Toluol bei Zimmertemperatur aufbewahrt und von Zeit zu Zeit auf ihren Diastasegehalt untersucht.

Gallenmenge	Untersucht am						
	8. II.	2. III.	26. III.	23. IV.	14. V.	13. VI.	30. VI.
1,0	+	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+	+
0,062	limes	limes	limes	limes	limes	limes	limes
0,032	—	—	—	—	—	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	40	40	40	40	40	40	40

II. Einfluß der Galle auf die Speicheldiastase.

Versuch 3 (1stündige Versuchsdauer).

Speichelmenge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl verdünnter Galle
0,05	+	+	+
0,032	+	+	+
0,02	limes	+	+
0,0125	—	limes	+
0,008	—	—	limes
0,004	—	—	—
$D_{1^h}^{38^0} =$	156,25	250	400

¹⁾ Es sei bemerkt, daß sämtliche Versuche zu wiederholten Malen unter ständigem Wechsel der Konzentrationen angestellt wurden, daß ich mich aber darauf beschränken will, nur die allernotwendigsten Protokolle mitzuteilen.

Versuch 4 (24stündige Versuchsdauer).

Speichelmenge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,09% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit H ₂ O verdünnter Galle
0,002	+	+	+
0,001	+	+	+
0,0005	limes	+	+
0,00025	—	+	+
0,000125	—	limes	+
0,000062	—	—	limes
0,000032	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	5000	20000	40000

III. Einfluß der Galle auf die Diastase des menschlichen Pankreassaftes.

Versuch 5.

Pankreassaft	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl verdünnter Galle
0,001	+	+	+
0,0005	+	+	+
0,00025	limes	+	+
0,000125	—	+	+
0,000062	—	limes	+
0,000032	—	—	limes
0,000016	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	10000	40000	80650

IV. Einfluß der Galle auf die Diastase im Serum und im Urin.

Versuch 6 (mit Serum).

Serummenge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,09% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit H ₂ O verdünnter Galle
0,025	+	+	+
0,02	+	+	+
0,015	limes	+	+
0,01	—	limes	+
0,0075	—	—	+
0,005	—	—	limes
0,0025	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	250	333,3	666,6

Versuch 7 (mit Urin).

Urinmenge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl verdünnter Galle
0,1	+	+	+
0,064	limes	+	+
0,04	—	limes	+
0,025	—	—	+
0,016	—	—	limes
0,01	—	—	—
D _{24h} ^{38°} =	50	78	200

V. Einfluß der Galle auf die Diastase der Leber
(des Kaninchens).

Versuch 8.

Lebersaftmenge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl verdünnter Galle
0,4	limes	+	+
0,35	—	+	+
0,3	—	limes	+
0,25	—	—	+
0,2	—	—	+
0,15	—	—	+
0,1	—	—	limes
D _{24h} ^{38°} =	10	14	33,3

VI. Einfluß der Galle auf die Diastase des Hafers.

Die zu diesen Versuchen verwandte Diastaselösung war in der Weise gewonnen worden, daß gekeimter Hafer fein zermahlen, mit der doppelten Menge destillierten Wassers versetzt, unter Toluol 24 Stunden im Eisschrank gehalten und danach die Lösung abfiltriert wurde.

Versuch 9.

Hafperlösung	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl- Lösung verd. Galle
0,06	+	+	+
0,05	limes	limes	+
0,04	—	—	+
0,03	—	—	+
0,02	—	—	+
0,01	—	—	limes
D _{1h} ^{38°} =	83	83	250

Versuch 10.

Haferlösung	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm 10fach mit 0,9% NaCl- Lösung verd. Galle
0,125	+	+	+
0,062	+	+	+
0,032	limes	limes	+
0,016	—	—	+
0,008	—	—	limes
0,004	—	—	—
D _{1^h} ^{38°} =	80	80	312,5

VII. Einfluß menschlicher Galle auf die Diastase.

Versuch 11.

Leberpreßsaft vom Kaninchen	+ 0,25 ccm H ₂ O	+ 0,25 ccm 0,9% NaCl	+ 0,25 ccm unverd. menschl. Blasengalle
0,5	+	+	+
0,4	limes	+	+
0,35	—	+	+
0,3	—	limes	+
0,25	—	—	+
0,2	—	—	+
0,15	—	—	+
0,1	—	—	+
0,05	—	—	limes
D _{24^h} ^{38°} =	10	14,3	50

Versuch 12.

Urinmenge	+ 0,25 ccm H ₂ O	+ 0,25 ccm 0,9% NaCl	+ 0,25 ccm unverd. menschl. Blasengalle
0,02	limes	+	+
0,0128	—	limes	+
0,008	—	—	+
0,005	—	—	limes
0,0032	—	—	—
0,002	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	156	250	625

VIII. Feststellung der kleinsten, noch aktivierenden Menge der Galle.

Als Testobjekt diente menschlicher Pankreassaft, von dem in einem Vorversuch festgestellt war, daß 0,004 ccm bei einer Versuchsdauer von 1 Std. nicht mehr imstande sind, 5 ccm 1% iger Stärkelösung bis zum Dextrin abzubauen.

Versuch 13.

Gallenmenge ccm	Menschl. Pankreassaft ccm	1% ige Stärkelösung ccm	Hundegalle		
			frisch	alt	
1,0	0,004	5,0	—	—	Versuchs- dauer 1 Std.
0,5	0,004	5,0	—	—	
0,25	0,004	5,0	+	+	
0,125	0,004	5,0	+	+	
0,062	0,004	5,0	+	+	
0,032	0,004	5,0	+	+	
0,016	0,004	5,0	+	+	
0,008	0,004	5,0	+	+	
0,004	0,004	5,0	+	+	
0,002	0,004	5,0	—	—	

Zum besseren Verständnis der Tabelle sei hinzugefügt, daß das + Zeichen bedeutet totaler resp. partieller Abbau der Stärke, das — Zeichen keine Veränderung gegenüber der Kontrolle (0,004 ccm Pankreassaft + 5,0 ccm 1% iger Stärkelösung).

IX. Einfluß des Erhitzens auf das Aktivierungsvermögen der Galle.

Versuch 14.

Leber- preßsaft	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm auf das 20fache mit 0,9% iger NaCl-Lösung ver- dünnter Galle	
			normal	30 Min. erhitzt
1,0	+	+	+	+
0,64	limes	limes	+	+
0,4	—	—	+	+
0,25	—	—	limes	limes
0,16	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—
D _{24^h} ^{38°} =	5	5	12,5	12,5

Versuch 15.

Hafer- lösung	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,9% NaCl	+ 0,5 ccm auf das 10fache mit 0,9% iger NaCl-Lösung ver- dünnter Galle	
			normal	30 Min. erhitzt
0,06	+	+	+	+
0,05	limes	limes	+	+
0,04	—	—	+	+
0,03	—	—	+	+
0,02	—	—	limes	limes
0,01	—	—	—	—
D _{1^h} ^{38°} =	83	83	166	166

X. Einfluß der Dialyse auf das Aktivierungsvermögen der Galle.

Versuch 16.

Hafer- lösung	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,09% NaCl	+ 0,5 ccm auf das 10fache mit H ₂ O verdünnter Galle	
			nativ	dialysiert
0,06	+	+	+	+
0,05	limes	limes	+	limes
0,04	—	—	+	—
0,03	—	—	+	—
0,02	—	—	+	—
0,01	—	—	limes	—
$D_{1^h}^{38^\circ} =$	83	83	250	83

Versuch 17.

Serum- menge	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 0,09% NaCl	+ 0,5 ccm auf das 10fache mit H ₂ O verdünnter Galle	
			nativ	dialysiert
0,3	+	+	+	+
0,025	+	+	+	+
0,02	limes	+	+	+
0,015	—	+	+	limes
0,01	—	limes	+	—
0,0075	—	—	+	—
0,005	—	—	limes	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	200	333	665	250

XI. Wirkung des alkoholischen Gallenextraktes.

Versuch 18.

Pankreas- saft	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm des mit Wasser aufgenommenen alkohol. Rückstandes
0,05	+	+
0,04	limes	+
0,03	—	+
0,02	—	limes
0,01	—	—
$D_{1^h}^{38^\circ} =$	100	166

XII. Einfluß des taurocholsauren Natriums auf die Galle.

Pankreas- saft	+ 0,5 ccm H ₂ O	+ 0,5 ccm 1% tauroch. Natr.	+ 0,25 ccm 0,1% tauroch. Natr.
0,08	+	—	+
0,06	+	—	+
0,04	limes	—	limes
0,03	—	—	—
0,02	—	—	—
0,01	—	—	—
D _{1^s} ^{38°} =	100	—	100

Untersuchungen über die Diastasen. VII.

Über den Diastasegehalt verschiedener Organe des Kaninchens unter normalen und pathologischen Bedingungen.

Zugleich ein Beitrag zur Frage von dem Wesen des
Phloridzindiabetes.

Von

J. Wohlgemuth und J. Benzur, Budapest.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

Über den Gehalt der einzelnen tierischen Organe an diastatischem Ferment war bis vor kurzem noch so gut wie nichts bekannt. Zwar existieren schon seit langem in der Literatur zahlreiche Angaben darüber, daß unter bestimmten Bedingungen der Glykogengehalt oder auch die Zuckerbildung — beispielsweise in der Leber — vermehrt resp. vermindert sind; aber die Frage, wie sich die Diastase selber unter den jeweiligen Bedingungen verhält, war bis in die letzte Zeit hinein noch niemals Gegenstand der Untersuchung gewesen. Es wäre sicherlich nicht richtig, wollte man hieraus schließen, daß man dieser Frage anfänglich gleichgültig gegenüberstand. Im Gegenteil weisen fast alle einschlägigen Arbeiten darauf hin, daß man eigentlich gleich mit der Entdeckung des Glykogens den fermentativen Prozessen in der Leber- und Muskel-Zelle das lebhafteste Interesse entgegenbrachte. Aber es fehlte — und das war der eigentliche Grund — an einer zuverlässigen und bequemen Methode, die Diastase in den Organen quantitativ zu bestimmen.

Diesem Mangel suchte neuerdings Kisch¹⁾ in der Weise abzuhelpfen, daß er bei seinen Untersuchungen über den postmortalen Glykogenschwund in den Muskeln dem Muskelbrei einen großen Überschuß an Glykogen zufügte und nun feststellte, wieviel davon der Muskel in einer bestimmten Zeit und bei einer bestimmten Temperatur zu spalten vermag; die Menge des abgebauten Glykogens diente ihm als Maßstab für die Größe der Fermentwirkung. Das Resultat dieser Untersuchungen war, daß sich kein wesentlicher Unterschied im diastatischen Vermögen der Muskeln zeigte, wenn man Muskeln desselben Tieres nach Ruhe oder exzessiver Arbeit, nach dauernd geringer oder hochgradig funktioneller Beanspruchung, nach wirklicher Ernährung oder im Hungerzustande prüfte. Dagegen zeigte sich eine merkliche Steigerung der Fermentwirkung, wenn dem Muskelbrei ständig Sauerstoff zugeführt wurde. — Mit der nämlichen Methode versuchten Bang, Ljungdahl und Bohm²⁾ die Frage von den Schwankungen des Diastasegehaltes der Leber unter verschiedenen normalen und pathologischen Bedingungen zu entscheiden und sind dabei zu interessanten Ergebnissen gekommen. Auf eine Diskussion derselben werden wir im Anschluß an die Besprechung der von uns gewonnenen Resultate näher eingehen. Hier soll zunächst erörtert werden, ob man berechtigt ist, von der angewandten Methodik absolut zuverlässige Werte für die Diastase zu erwarten. Das scheint uns aber nicht der Fall zu sein. Denn wenn man bedenkt, daß die Organe, Muskel sowohl wie Leber, äußerst wechselnde Mengen an Glykogen besitzen; so kann der Zusatz von Glykogen wohl die Schwankungen in geringem Maße ausgleichen, niemals aber die Differenzen völlig beseitigen. Je größer aber beispielsweise die Menge des von vornherein im Organbrei vorhandenen Glykogens ist, eine um so kleinere Zahl muß sich bei Beendigung des Versuches für den prozentualen Gehalt des unverändert gebliebenen Glykogens ergeben und umgekehrt. Auf diese Weise können in zwei Versuchen trotz vollkommen gleichen Diastasegehaltes bei wesentlich verschiedenen Glykogenquantitäten die prozentualen Mengen des restierenden Glykogens große Divergenzen aufweisen. Bang und seine Mitarbeiter sind sich auch der Unzulänglichkeit dieser Methodik bewußt gewesen und erklären selber, daß die mit ihr gewonnenen Werte nur einen annähernden Schluß auf die Fermentmengen gestatten. — Ein anderer nicht weniger erheblicher Mangel in diesem Verfahren wird dadurch bedingt, daß die Diastase, wie Bial³⁾ festgestellt hat, durch die Abbauprodukte des Glykogens in ihrer Wirkung wesentlich gehemmt wird.

Alle diese Nachteile fallen sämtlich fort bei dem von dem einen⁴⁾ von uns angegebenen Verfahren der direkten quantitativen Diastase-

1) F. Kisch, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 210, 1906.

2) Bang, Ljungdahl und Bohm, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 408, 1907.

3) Bial, Pflügers Archiv 52, 137, 1892.

4) J. Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

bestimmung, mit dem bereits Zegla¹⁾ auf Veranlassung des einen von uns die Diastase in der Leber bestimmt hat.

Das Verfahren, das aus den vorhergegangenen Mitteilungen zur Genüge bekannt sein dürfte, eignet sich in der gleichen Weise wie für die Bestimmung der Diastase im Speichel, im Pankreassaft und im Blut auch für die quantitative Messung der Diastase in Organpreßsäften. Es ist hierbei nur am Schluß des Versuches darauf zu achten, daß man vor dem Auffüllen der Gläschen mit Wasser die über dem trüben Bodensatz befindliche klare Flüssigkeit in andere Gläschen überträgt und dann erst die Verdünnung mit Wasser vornimmt und mit $\frac{2}{10}$ -Jodlösung versetzt; sonst ändert sich nichts in der Versuchsanordnung.

Wir hatten aber, bevor wir an die Durchführung unserer Versuche herantraten, noch die Frage zu entscheiden, ob wir die Organe nach der Entblutung des Tieres so, wie wir sie aus der Leibeshöhle bekamen, verarbeiten oder ob wir sie, zuvor von allen Bestandteilen des Blutes gründlichst befreit, für unsere Zwecke verwenden sollten. Ließen wir die Blutreste, die in den Organen trotz der Entblutung noch immer vorhanden sind, unbeachtet, so liefen wir Gefahr, durch die in dem Blut vorhandene Diastase, die, wie wir oben gesehen, an Quantität nicht unbedeutend ist, die Diastasemengen der Leber um ein gar nicht zu übersehendes Quantum zu vermehren. Durchspülten wir andererseits die Leber mit physiologischer Kochsalzlösung, so war einmal, wenn wir die Temperatur nicht genau beachteten, die Gefahr vorhanden, daß bei zu niedriger Temperatur der Durchspülungsflüssigkeit die Diastase zunahm, wie dies aus den interessanten Versuchen von Bang und seinen Schülern hervorgeht. Andererseits war aber auch bei genauer Innehaltung der Körpertemperatur die Möglichkeit gegeben, daß durch die in das Organ gebrachte Flüssigkeitsmenge der Preßsaft verdünnt und die Diastasekonzentration auf diese Weise verringert würde. Von sämtlichen Versuchsfehlern schien uns der letztgenannte der kleinste zu sein, und wir entschlossen uns deshalb nach dem Vorgange von Bang und seinen Mitarbeitern, die Organe vor der Herstellung der Preßsäfte mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung zu durchspülen.

¹⁾ Zegla, diese Zeitschr. 16, 111, 1909.

Die Leber¹⁾ wurde von der Pfortader aus, die Muskeln — wir verwandten stets die Muskulatur der beiden hinteren Extremitäten — von der Aorta aus kurz vor ihrer Teilungsstelle mit körperwarmer 0,85%iger NaCl-Lösung durchspült. Die Nieren, welche nach der Entblutung nur noch Spuren von Blut enthielten, wurden mit der Schere zerkleinert und mit warmer physiologischer Kochsalzlösung so lange ausgelaugt — unter ständiger Erneuerung der Lösung —, bis das Wasser sich beim Abpressen der Stückchen nicht mehr färbte. In dieser Weise wurde bei sämtlichen Versuchen ausnahmslos verfahren und dadurch überall für gleiche Versuchsbedingungen gesorgt.

Als Versuchstiere dienten uns ausschließlich Kaninchen, die vorher reichlich ernährt waren. Die Tiere wurden durch Entbluten aus der Carotis getötet, sodann die Leber und die Nieren schnell aus der Bauchhöhle entnommen, in der oben beschriebenen Weise mit physiologischer Kochsalzlösung vom Blut befreit, rasch zerkleinert, gesondert in ein Preßtuch getan und mittels einer stabilen Handpresse ausgepreßt. Von dem Leberpreßsaft wurde die erste abfließende Portion vernachlässigt und nur der letzte Anteil zur Bestimmung der Diastase verwandt. — Die Nieren lieferten so wenig Preßsaft, daß es gerade zur Anstellung eines Versuches jedesmal hinreichte. — Gleichzeitig mit Leber und Nieren wurde die Muskulatur der beiden hinteren Extremitäten in der oben beschriebenen Weise vom Blut befreit, sofort zerkleinert und ebenfalls unter die Handpresse gebracht. Der Saft sah stets hellgelb aus und zeigte gleichfalls keine Spur von Blut mehr. Mit den einzelnen Saftportionen wurde sofort der übliche Reihenversuch angestellt, ebenso mit dem Serum eines jeden Tieres; die Gläschen wurden zur Verhütung von Fäulnis mit Toluol beschickt, mit Watte verschlossen und auf 24 Stunden in den Brutschrank gebracht; nach Ablauf der Frist wurde dann der Versuch unter Innehaltung obiger Vorschriften in der sonst üblichen Weise zu Ende geführt.

¹⁾ Zegla war in der Weise vorgegangen, daß er das zerkleinerte Organ mit physiologischer Kochsalzlösung auslaugte und die einzelnen Stücke mit der Hand auspreßte und so das Organ von Blute befreite. Wir überzeugten uns in besonderen Versuchen davon, daß dieses Vorgehen keinen nennenswerten Unterschied ergibt gegenüber dem von uns angewandten Verfahren der Leberdurchspülung von der Pfortader aus.

So wurde zunächst bei sechs normalen Kaninchen der Diastasegehalt der Leber, der Nieren, der Muskeln und des Blutes bestimmt. Für die Leber ergaben sich Schwankungen zwischen $D_{24^h}^{38^\circ} = 5$ und $D_{24^h}^{38^\circ} = 12,5$; darüber hinaus ging der Wert nie, blieb aber mitunter hinter $D_{24^h}^{38^\circ} = 5$ zurück. Für die Niere wurde gefunden $D_{24^h}^{38^\circ} = 20$ bis $31,25$, für den Muskel $D_{24^h}^{38^\circ} = 7,8$ bis $31,25$ und endlich für das Blut $D_{24^h}^{38^\circ} = 62,5$ bis 156 . Hiernach hat, wenn wir einstweilen von den Diastasemengen des Blutes absehen, die Niere die größte Diastasekonzentration, dann folgen der Muskel und die Leber. Nehmen wir aber als Maßstab die absoluten Mengen, so käme an erster Stelle der Muskel, an zweiter die Leber und an dritter die Niere.

Es war nun von Interesse, festzustellen, ob an dieser Reihenfolge sich unter dem Einfluß von Phloridzin, Phloretin und Adrenalin etwas ändert. Aus den diesbezüglichen Untersuchungen von Bang und seinen Mitarbeitern¹⁾ geht hervor, daß ein wesentlicher Unterschied zwischen der Wirkung des Phloridzins und der des Phloretins besteht; während dieses eine deutliche Steigerung der Fermentproduktion in der Leber bewirkt, war das Glykosid ohne Einfluß geblieben. Im Gegensatz hierzu fand Zegla²⁾ mit der Methode von Wohlgemuth, daß auch Phloridzin befähigt ist, die Diastasemenge in der Leber zu steigern.

Wir untersuchten zunächst den Einfluß des Phloridzins auf die Diastase in den einzelnen Organen und verwandten bei unseren Versuchen die gleiche Giftdosis, wie sie die vorhergenannten Autoren verabfolgt hatten. Das Resultat war, was zuvörderst den Diastasegehalt der Leber anbetrifft, ein von den bisherigen Resultaten etwas abweichendes. Es stellte sich nämlich heraus, daß unter vier Fällen nur in zweien die Leberdiastase vermehrt war, in den beiden andern sich durchaus in normalen Grenzen bewegte. Bezüglich des Blutes sahen wir entsprechend den früheren Versuchen des einen von uns³⁾ keine

¹⁾ Bang, Ljungdahl und Bohm, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 312, 1907.

²⁾ Zegla, l. o.

³⁾ J. Wohlgemuth, Mitteilung III.

Vermehrung, und ebenso zeigte der Diastasegehalt des Muskelpreßsaftes normale Werte. Dagegen beobachteten wir in sämtlichen Fällen in den Nieren einen gegen die Norm gesteigerten Gehalt an Diastase.

In dem gleichen Sinne fielen die Versuche mit Phloretin aus. Auch hier war nicht in allen Fällen — obwohl wir genau die gleiche Dosis wie Bang und seine Schüler anwandten — eine Steigerung der Diastasemenge in der Leber zu beobachten, sondern nur in zwei Fällen von im ganzen fünf. Das Blut zeigte niemals eine Vermehrung der Diastase, ebensowenig die Muskulatur. Dagegen enthielten wiederum die Nieren weit größere Mengen an Diastase als in der Norm.

Nach Adrenalininjektionen hatte Zegla in einem von zwei Fällen eine deutliche Vermehrung der Leberdiastase gefunden. Da nun außerdem von Agadschanianz¹⁾ im Laboratorium von E. Salkowski festgestellt war, daß unter dem Einfluß des Adrenalins das Muskelglykogen weit schneller verschwindet als das Leberglykogen, so interessierte uns ganz besonders, das Verhalten der Diastase nach Injektion von Adrenalin in Organen, speziell im Muskel zu verfolgen. In sämtlichen vier Versuchen konnten wir im Gegensatz zu Zegla niemals eine Vermehrung der Diastase der Leber beobachten. Bei nochmaliger Durchsicht seiner beiden Versuche finden wir gerade in dem mit dem positiven Ausfall die Angabe, daß das Versuchstier durch Halschnitt entblutet wurde. Dabei war aber die Möglichkeit gegeben, daß die beiden Vagi verletzt oder gar durchgeschnitten wurden, und daß auf diese Weise (s. Bang usw. l. c. S. 19) eine Vermehrung der Diastase in der Leber hervorgerufen worden war. Auch im Blut war ein Zuwachs an Diastase nicht zu konstatieren, und ebensowenig war in dem Muskel die Diastase vermehrt. Dagegen zeigten in drei Fällen wiederum die Nieren eine wenn auch nicht überall so beträchtliche, so doch jedenfalls deutliche Zunahme in ihrem Diastasegehalt.

Von den hier mitgeteilten Ergebnissen steht zunächst im Vordergrund des Interesses die Beobachtung, daß unter dem Einfluß des Phloridzins und des Phloretins die Diastasemengen der Nieren ganz erheblich zunehmen. Das scheint uns darauf

¹⁾ Agadschanianz, diese Zeitschr. 2, 148, 1907.

hinzuweisen, wie man sich die Entstehung des Phloridzindiabetes zu erklären hat.

Daß die Niere dabei eine ausschlaggebende Rolle spielt, hat bereits v. Mehring¹⁾, der Entdecker des Phloridzindiabetes, ausgesprochen, zumal er an Fröschen und Gänsen hatte feststellen können, daß, wenn er ihnen die Leber extirpiert hatte, sie trotzdem nach Phloridzinvergiftung Zucker durch den Harn ausschieden. Minkowski²⁾ schloß sich dieser Erklärung vollkommen an und brachte weitere experimentelle Beweise hierfür. Einmal beobachtete er, daß Vögel, die nach Pankreasextirpation keine Glucosurie bekommen, nach Phloridzininjektion alsbald Zucker ausscheiden. Ferner konnte bei pankreaslosen Hunden durch Phloridzininjektion die Zuckerausscheidung noch gesteigert werden. Und endlich zeigten Phloridzintiere nach der Extirpation beider Nieren entweder gar keinen oder nur einen geringen Anstieg des Blutzuckers, während beim pankreaslosen Hund nach dieser Operation der an sich schon erhöhte Blutzuckergehalt erheblich gesteigert wurde, — Einen weiteren sehr interessanten experimentellen Beweis dafür, daß tatsächlich die Nieren in erster Reihe am Phloridzindiabetes beteiligt sind, erbrachte Zuntz³⁾ durch folgende geistreiche Versuchsanordnung: Er band bei einem Hunde in jedem Urether eine Kanüle ein und injizierte in die Arterie der einen Niere eine 0,5%ige Phloridzinlösung. Der aus dieser Niere fließende Harn war schon nach wenigen Minuten zuckerhaltig, während der aus der anderen Niere kommende es erst weit später wurde und auch dann viel geringere Mengen Zucker enthielt. Zuntz schloß daraus, daß der Phloridzindiabetes dadurch zustande kommt, daß unter dem Einfluß des Phloridzins das Anziehungsvermögen der Nierenepithelien für den Blutzucker erhöht wird. Da dabei der Zuckergehalt des Blutes nicht wesentlich sinkt, so müsse der Organismus einen Regulationsmechanismus für das Konstantbleiben des Prozentgehaltes an Zucker im Blute besitzen. — Auf einem andern Wege bemühten sich Gläßner und E. P. Pick⁴⁾, festzustellen, wo im Organismus die Wirkung des Phloridzins ansetzt, und untersuchten, welche Organe die größte Affinität zum injizierten Gift besitzen. Sie konnten zwar die an sich interessante Tatsache feststellen, daß das Phloridzin außer im Blut und in der Niere auch in der Leber nachweisbar ist, und daß bei nephrektomierten Tieren das Phloridzin in Gaben bis zu 3 g im Blute und in der Leber weder physiologisch noch chemisch nachweisbar ist. Aber für die Frage von dem Mechanismus der Phloridzinwirkung war damit nicht viel gewonnen. — Erst Bang und seine Mitarbeiter haben durch den Befund von der

1) v. Mehring, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1886.

2) Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31, 85, 1893.

3) Zuntz, Verhdl. d. physiol. Ges. zu Berlin. Du Bois Arch. physiol. Abt. 1895, 570.

4) Gläßner und Pick, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 473, 1907.

Steigerung der Diastase in der Leber nach Phloretininjektionen den Nachweis geliefert, daß aller Wahrscheinlichkeit nach hierbei auch die Leber eine gewisse Rolle spielt. Und Zegla hat diesen Befund dahin erweitert, daß auch Phloridzin eine Vermehrung der Diastase der Leber bedingt. Wir müssen indessen auf Grund unserer eigenen Erfahrungen einschränkend sagen, daß das keinesfalls für alle Fälle zutrifft. Haben wir doch in manchen Fällen weder nach Phloretin noch nach Phloridzin eine gesteigerte Fermentproduktion der Leber nachweisen können.

Weit wichtiger scheinen uns aber von unseren Resultaten diejenigen zu sein, die für die Rolle der Niere aus unseren Untersuchungen sich ergeben. Während die bisherigen Erfahrungen mit Phloridzin resp. Phloretin auf einen Vorgang in der Niere schließen ließen, der vorwiegend physikalischer Natur war, und den man als den Ausdruck einer gesteigerten Durchlässigkeit des Nierenepithels auffaßte, geht aus unsern Versuchen hervor, daß sich bei dieser Vergiftung Prozesse in den Nieren abspielen, die unzweifelhaft auf eine gesteigerte Fermenttätigkeit ihrer Zellen hinweisen. An eine solche Möglichkeit haben auch schon Pavy, Brodie und Siau¹⁾ gedacht auf Grund ihrer an künstlich durchbluteten Nieren gewonnenen Beobachtungen. Sie fanden nämlich, daß, wenn sie Nieren mit defibriniertem Blute, dem sie zuvor Phloridzin zugesetzt hatten, durchbluteten, im Harn dieser Nieren mehr Zucker auftrat, als durch die Abnahme des Blutzuckers erklärt werden konnte. Sie deuteten diese Tatsache so, daß die Nieren unter dem Einfluß des Phloridzins befähigt sind, aus den Eiweißkörpern des Blutes, die Kohlenhydratgruppen besitzen, den Zucker abzuspalten, und verglichen diesen Vorgang mit der Bildung des Milchsuckers in der Milchdrüse. Ob diese Erklärung der Zuckerspaltung aus Eiweiß in Wirklichkeit zutrifft, erscheint uns recht fraglich. Immerhin lassen ihre Versuche die Vermutung zu, daß sich in den Nierenzellen unter dem Einfluß des Phloridzins irgendwelche katabolischen Prozesse abspielen, als deren Endeffekt eine vermehrte Zuckerausscheidung durch den Harn angesehen werden muß. Für diese Vermutung erbringen wir nun den experimentellen Beweis, indem wir zeigen konnten, daß tatsächlich in der Niere nach Phloridzin- resp. Phloretininjektionen eine vermehrte Fermentproduktion statt hat. Ob und wie aber die gesteigerte Diastase-

¹⁾ Pavy, Brodie und Siau, Journ. of Physiol. 29, 407, 1903.

menge mit der Zuckerausscheidung in Verbindung steht, darüber sagen naturgemäß unsere Versuche nichts aus. Es liegt aber nahe zu vermuten, daß ein Zusammenhang zwischen gesteigerter Zuckerausfuhr und gesteigerter Diastaseproduktion besteht. Daß aber als Quelle hierfür die Kohlenhydratgruppen der Bluteiweißkörper in Betracht kommen, wie Pavy, Brodie und Siau annehmen, scheint uns, wie gesagt, aus mehrfachen Gründen durchaus unwahrscheinlich. Vielleicht können weitere Untersuchungen über den Glykogen- resp. Zuckergehalt der Nieren bei normalen und phloridzinvergifteten Tieren Aufschluß hierüber geben.

Nach Adrenalinvergiftung beobachteten wir in sämtlichen vier Fällen niemals eine Vermehrung der Diastase in der Leber, dagegen in dreien eine gesteigerte Diastasemenge in den Nieren. Bei der noch herrschenden Unklarheit über das Wesen des Adrenalinidiabetes dürfte es müßig sein, weitere Erörterungen über diesen Befund anzuknüpfen. Hervorheben möchten wir aber doch, daß das Adrenalin befähigt zu sein scheint, eine gesteigerte Fermenttätigkeit der Niere hervorzurufen.

Experimenteller Teil.

I. Vorversuche mit normalen Tieren.

Versuch 1.

Kaninchen, 2600 g, wird durch Entbluten aus der Carotis getötet, das Blut geschlagen und zentrifugiert. Danach werden Leber und Nieren entnommen, in der oben beschriebenen Weise schnell vom Blut befreit, zerkleinert und unter der Handpresse der Preßsaft hergestellt. In der nämlichen Weise wird gleichzeitig mit den von Blut befreiten Muskeln der Oberschenkel verfahren. In sämtlichen drei Organsäften und im Serum wird dann die Diastase in der üblichen Weise bestimmt.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	limes	+	+	0,128	+
0,4	—	+	+	0,08	+
0,25	—	limes	+	0,05	+
0,16	—	—	limes	0,032	+
0,1	—	—	—	0,02	limes
$D_{24^h}^{38^0} =$	5	12,5	20	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 2.

Kaninchen, 2210 g, wird durch Entbluten aus der Carotis getötet, die Organe in der gleichen Weise verarbeitet.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	limes	+	+	0,08	+
0,25	—	+	+	0,05	limes
0,16	—	limes	limes	0,032	—
0,1	—	—	—	0,02	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	7,8	20	20	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	156

Versuch 3.

Kaninchen, 2050 g, Verfahren wie vorhin.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	limes	+	+	0,2	+
0,64	—	+	+	0,128	+
0,4	—	limes	+	0,08	+
0,25	—	—	+	0,05	limes
0,16	—	—	+	0,032	—
0,1	—	—	limes	0,02	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	> 5	7,8	31,25	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	62,5

Versuch 4.

Kaninchen, 2450 g, Verfahren wie vorhin.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	limes	+	+	0,128	+
0,4	—	+	+	0,08	+
0,25	—	limes	+	0,05	limes
0,16	—	—	+	0,032	—
0,1	—	—	limes	0,02	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	5	12,5	31,25	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	62,5

Versuch 5.

Kaninchen, 1850 g, Verfahren wie vorhin.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	limes	+	+	0,05	limes
0,16	—	limes	+	0,032	—
0,1	—	—	limes	0,02	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	12,5	20	31,25	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 6.

Kaninchen, 2150 g, Verfahren wie vorhin.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	limes	limes	+	0,05	+
0,16	—	—	limes	0,032	limes
0,1	—	—	—	0,02	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	12,5	12,5	20	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

II. Einfluß des Phloridzins auf den Diastasegehalt.

Versuch 7.

Kaninchen, 2100 g, erhält intraperitoneal 0,75 g Phloridzin, gelöst in 1,0 com 2%iger Piperazinslösung + Wasser. Nach 30 Minuten Zucker im Urin, entblutet 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	+	+	+	0,05	limes
0,16	limes	limes	+	0,032	—
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	20	20	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 8.

Kaninchen, 2450 g, erhält intraperitoneal 0,75 g Phloridzin, gelöst in 1,0 ccm 2%iger Piperazinslösung + Wasser. Nach 25 Minuten Zucker im Urin, entblutet 2¹/₂ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	limes	+	+	0,05	+
0,16	—	limes	+	0,032	limes
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	12,5	20	78	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	100

Versuch 9.

Kaninchen, 2350 g, erhält intraperitoneal 0,75 g Phloridzin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinslösung + Wasser. Nach 40 Minuten Zucker im Urin, entblutet 3 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	limes	+	+	0,128	+
0,4	—	+	+	0,08	+
0,25	—	limes	+	0,05	limes
0,16	—	—	+	0,032	—
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	5	12,5	50	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	62,5

Versuch 10.

Kaninchen, 1950 g, erhält intraperitoneal 0,6 g Phloridzin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinslösung + Wasser. Im Urin nach 20 Minuten Zucker, entblutet 2 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	+	+	+	0,05	+
0,16	limes	+	+	0,032	+
0,1	—	limes	+	0,02	limes
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	+	—	—
0,025	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	20	31,25	125	$D_{24^h}^{38^{\circ}} =$	156

III. Einfluß des Phloretins auf den Diastasegehalt.

Versuch 11.

Kaninchen, 2400 g, erhält intraperitoneal 0,5 g Phloretin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinslösung + Wasser. Im Urin nach ca. 30 Min. Zucker, entblutet 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	limes	+	+	0,05	limes
0,16	—	limes	+	0,032	—
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	12,5	20	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 12.

Kaninchen, 2050 g, erhält intraperitoneal 0,5 g Phloretin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinslösung + Wasser. Im Urin nach 20 Minuten Zucker, entblutet 2 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	limes	+	+	0,128	+
0,4	—	+	+	0,08	+
0,25	—	+	+	0,05	+
0,16	—	+	+	0,032	limes
0,1	—	limes	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	+	—	—
0,025	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	5	31,25	125	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

Versuch 13.

Kaninchen, 1890 g, erhält intraperitoneal 0,4 g Phloretin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinslösung + Wasser. Im Urin nach 40 Minuten Zucker, entblutet 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	+	+	+	0,05	+
0,16	limes	limes	+	0,032	limes
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	20	20	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

Versuch 14.

Kaninchen, 2310 g, erhält intraperitoneal 0,5 g Phloretin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinlösung + Wasser. Im Urin nach 20 Minuten Zucker, entblutet 2 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	limes	+	+	0,08	+
0,25	—	+	+	0,05	limes
0,16	—	+	+	0,032	—
0,1	--	limes	+	0,02	—
0,064	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	7,8	31,25	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 15.

Kaninchen, 2200 g, erhält intraperitoneal 0,5 g Phloretin, gelöst in 1 ccm 2,0%iger Piperazinlösung + Wasser. Im Urin nach 15 Minuten Zucker, entblutet 2 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	+	+	+	0,05	+
0,16	limes	+	+	0,032	limes
0,1	—	limes	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	20	31,25	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

IV. Einfluß des Adrenalins auf den Diastasegehalt.

Versuch 16.

Kaninchen, 2050 g, erhält intraperitoneal 1 ccm einer 1 $\frac{1}{100}$ igen Adrenalinlösung. Nach 40 Minuten Zucker im Urin, entblutet 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	limes	+	+	0,128	+
0,4	—	+	+	0,08	+
0,25	—	limes	+	0,05	limes
0,16	—	—	+	0,032	—
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	5	12,5	50	$D_{24^h}^{38^0} =$	62,5

Versuch 17.

Kaninchen, 2400 g, erhält intraperitoneal 1 ccm einer 1 $\frac{1}{100}$ igen Adrenalinlösung. Nach 45 Minuten Zucker im Urin, entblutet 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	limes	+	+	0,08	+
0,25	—	+	+	0,05	+
0,16	—	+	+	0,032	limes
0,1	—	limes	+	0,02	—
0,064	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	7,8	31,25	50	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

Versuch 18.

Kaninchen, 2500 g, erhält intraperitoneal 1 ccm einer 1 $\frac{1}{100}$ igen Adrenalinlösung. Nach 35 Minuten Zucker im Urin, entblutet 2 $\frac{3}{4}$ Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,22	+
0,64	+	+	+	0,18	+
0,4	limes	+	+	0,08	+
0,25	—	+	+	0,05	+
0,16	—	+	+	0,032	limes
0,1	—	limes	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24^h}^{38^0} =$	7,8	31,25	78	$D_{24^h}^{38^0} =$	100

Versuch 19.

Kaninchen, 2320 g, erhält intraperitoneal 1 ccm einer 1⁰/₀₀igen Adrenalinlösung. Nach 40 Minuten Zucker im Urin, entblutet 3 Stunden nach der Injektion. Weiteres Verfahren wie sonst.

Fermentmenge	Lebersaft	Muskel-saft	Nieren-saft	Fermentmenge	Serum
1,0	+	+	+	0,2	+
0,64	+	+	+	0,128	+
0,4	+	+	+	0,08	+
0,25	limes	+	+	0,05	limes
0,16	—	limes	+	0,032	—
0,1	—	—	+	0,02	—
0,064	—	—	+	—	—
0,04	—	—	limes	—	—
$D_{24h}^{38^0} =$	12,5	20,0	78	$D_{24h}^{38^0} =$	62,5

Untersuchungen über die Diastasen. VIII.

Über den Einfluß der Radiumemanation auf die Wirkung des diastatischen Fermentes.

Von

S. Loewenthal und J. Wohlgemuth.

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

(Eingegangen am 7. August 1909.)

So ausgedehnt unsere Erfahrungen über die Wirkung des Radiums auf die Hautoberfläche sind, so spärlich sind bisher noch unsere Kenntnisse von dem Einfluß, den das Radium oder einer seiner Bestandteile auf die innerhalb des Organismus sich abspielenden fermentativen Vorgänge auszuüben vermag. Die Ursache hierfür ist in erster Reihe darin zu suchen, daß es bisher schlechterdings unmöglich war, Radium innerlich zu verabfolgen. Erst seitdem man in der Lage ist, Radiumemanation ohne großen Kostenaufwand in beliebigen Mengen einverleiben und genau dosieren zu können, hat man sie auch für die innere Therapie verwandt. Wenn nun auch die Beobachtungen noch viel zu gering sind, um ein abschließendes Urteil über den therapeutischen Nutzen der Emanation zu gestatten, so geht doch so viel aus den bisher mitgeteilten Versuchen hervor, daß die Emanation, per os verabfolgt, im kranken Organismus gewisse Reaktionen auszulösen imstande ist. Welcher Art diese Reaktionen sind, läßt sich bis jetzt noch nicht mit Sicherheit sagen. Es liegt aber nahe, anzunehmen, daß es in erster Reihe die fermentativen Prozesse im Organismus sind, die eine Beeinflussung erfahren. Strikte Beweise hierfür stehen allerdings bisher noch aus.

Zwar haben Bergell und Bickel¹⁾ am Pepsin zeigen können, daß es durch Emanation in seiner Wirkung begünstigt wird, und ebenso Loewenthal und Edelstein²⁾ festgestellt, daß auch die autolytischen Vorgänge in isolierten Organen durch Emanation eine Beschleunigung erfahren, ganz ähnlich derjenigen, welche schon früher Neuberg³⁾ sowie auch Wohlgemuth⁴⁾ durch Radiumbestrahlung gefunden hatten. Doch war man keinesfalls berechtigt, aus diesen Versuchen auf ein analoges Verhalten der für den intermediären Stoffwechsel wichtigen Fermente zu schließen.

Aus diesem Grunde schien es uns wertvoll, an einem Ferment, das im Blut und in sämtlichen Organen jederzeit anzutreffen ist, den Einfluß der Radiumemanation genau zu untersuchen. Als Objekt wählten wir das diastatische Ferment, einmal, weil es im intermediären Kohlenhydratstoffwechsel eine wichtige Rolle spielt, dann aber auch, weil die von dem einen von uns (W.) ausgearbeitete Methode ohne Schwierigkeit gestattet, Schwankungen in den Mengenverhältnissen der Diastase quantitativ leicht zu bestimmen.

Zu unserer Orientierung stellten wir zunächst Versuche mit menschlichem Speichel und menschlichem Pankreassaft an.

Die Versuchsanordnung wählten wir so, daß je zwei Reihen Reagensgläser mit absteigenden Mengen verdünnten Speichels resp. menschlichen Pankreassaftes und der gleichen Menge (5 ccm) 1^o/₁₀iger Stärkelösung beschickt wurden, zu jedem Gläschen der ersten Reihe 3 ccm Emanation⁵⁾ und zu jedem der entsprechenden Kontrollreihe die gleiche Menge destillierten Wassers zugefügt wurde. Überdies erhielt, um eine Mitwirkung von Bakterien auszuschließen, jedes Gläschen ca. 0,5 ccm Toluol und wurde daraufhin fest verkorkt. Da beim Zusatz des emanationshaltigen Wassers ein teilweises Entweichen der Emanation nicht zu verhindern war, so suchten wir den Verlust dadurch auf ein Mindestmaß zu beschränken, daß wir die Emanationslösung ganz zuletzt zu den einzelnen Gläsern zusetzten, nachdem sie bereits mit Ferment, Stärkelösung und Toluol beschickt waren, und sie sofort mit einem Stopfen verschlossen. Um jedem weiteren Entweichen der Emanation während des Versuches vorzubeugen, wurden die Gläser mit geschmolzenem

¹⁾ Bergell und Bickel, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden 1906.

²⁾ Loewenthal und Edelstein, diese Zeitschr. 14, 484, 1908.

³⁾ Neuberg, Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges. 1904, 157.

⁴⁾ Wohlgemuth, Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges. 1904, 158.

⁵⁾ Die Emanation entnahmen wir einem „Bade-Emanator“ der Radiogen-Gesellschaft, dessen Wasserreservoir wir mit destilliertem Wasser gefüllt hatten.

Stearin sorgfältig abgeschlossen und kamen dann auf 24 Stunden in den Brutschrank. Nach Ablauf der Frist wurde der Versuch unterbrochen und in der üblichen Weise zu Ende geführt. Dabei ergab sich zunächst, daß in den Emanationsreihen die diastatische Wirkung des Speichels sowohl wie des Pankreassaftes eine deutlich stärkere war als in den Kontrollreihen (Versuch 1 u. 2).

Nach diesen Vorversuchen prüften wir den Einfluß der Emanation auf die Diastase des Blutes und konnten auch hier zunächst eine günstige Beeinflussung durch die Emanation beobachten (Versuch 3). Dann aber begegneten wir auch Versuchen, bei denen sich nicht nur keine Begünstigung der Blutdiastase erkennen ließ, sondern im Gegenteil eine ausgesprochene Hemmung. Man konnte nun daran denken, daß bei weiterer Fortführung des Versuches sich diese Hemmung gegenüber der Kontrollreihe ausgleichen und vielleicht erst später wieder eine Beschleunigung zeigen würde. Und in der Tat ergab sich bisweilen, daß, wenn wir die Versuche über 72 oder gar 96 Stunden ausdehnten, zunächst nach 24 Stunden eine Hemmung in der Emanationsreihe, nach 48 Stunden ein Ausgleich in der Differenz mit der Kontrollreihe und nach 72, mitunter auch erst nach 96 Stunden eine Beschleunigung in der Emanationsreihe zu konstatieren war (s. Versuch 4 u. 5). Diesen Effekt der Emanation haben wir des öfteren an der Blutdiastase und später auch an der Speicheldiastase feststellen können (s. Versuch 6).

Aber nicht in allen Fällen war ein späterer Ausgleich der nach 24stündiger Versuchsdauer beobachteten Hemmung zu finden. Oft blieb die Emanationsreihe, sei es, daß wir Serum oder Speichel oder Pankreassaft verwandt hatten, auch noch nach Verlauf von 96 Stunden in ihrer Wirkung hinter der Kontrollreihe zurück (Versuch 7).

Das Serum, mit dem wir die Untersuchungen anstellten, stammte in erster Reihe von normalen Hunden und Kaninchen. In zwei Fällen hatten wir aber auch Gelegenheit, Serum von pankreasdiabetischen Hunden zu untersuchen. In dem einen Falle ergab sich nach 24 Stunden eine Hemmung, nach 48 Stunden ein Ausgleich und nach 72 Stunden eine Beschleunigung in der Emanationsreihe, in dem andern Falle nach 24 und 48 Stunden eine Hemmung, die sich erst nach 96 Stunden mit der Kontrollreihe völlig ausgeglichen hatte (Versuche 8 und 9).

Von dem erstgenannten Tier konnten wir auch die Lymphge,

die wir aus dem Ductus thoracicus mittels eingebundener Kanüle aufgefangen hatten, untersuchen. Es ergab sich hier wie beim Serum in der Emanationsreihe nach 24 Stunden eine Hemmung, nach 48 Stunden ein Ausgleich, dann aber selbst nach 96stündiger Versuchsdauer keine Verstärkung gegenüber der Kontrollreihe (Versuch 10).

Endlich stellten wir noch Versuche mit Preßsaft von Hundeleber an und konnten in 2 Fällen eine Begünstigung der diastatischen Wirkung unter dem Einfluß der Emanation konstatieren. In einem Falle trat die Verstärkung bereits nach 24 Stunden ein, im zweiten Falle war nach 24 Stunden noch kein Unterschied in beiden Reihen zu vermerken, erst nach 48 Stunden ergab sich in der Emanationsreihe ein deutlicher Vorsprung gegenüber der Kontrolle (Versuch 11 und 12).

Überblicken wir noch einmal die oben mitgeteilten Versuche, die wir — nebenbei bemerkt — viel häufiger ausführten, als wir sie in dem nachfolgenden Protokoll zur Kenntnis bringen, so ergibt sich, daß die Radiumemanation imstande ist, die Wirkung des diastatischen Fermentes, sei es des Blutes, der Leber, des Speichels und des Pankreassaftes zu begünstigen. Diese Begünstigung ist nicht immer sofort zu beobachten, sondern sehr oft begegnet man während der ersten 24 Stunden einer Hemmung, die sich im weiteren Verlauf allmählich ausgleicht, und erst bei genügend langer Fortführung des Versuchs findet man eine Beschleunigung. In einer andern Reihe von Fällen war unter dem Einfluß der Emanation nur eine Hemmung zu konstatieren, die sich selbst bei noch so langer Ausdehnung des Versuches nicht wieder auszugleichen vermochte.

Wie diese verschiedenen Wirkungen der Emanation zu deuten sind, ist schwer zu sagen. Vielleicht liegen hier die Verhältnisse ähnlich, wie Ch. Richet¹⁾ sie bei der Milchsäuregärung unter dem Einfluß verschiedener Metallsalze beobachtet hat. R. fand nämlich, daß starke Metallsalzlösungen eine Verzögerung der Milchsäuregärung bedingen, mittlere Lösungen eine Beschleunigung, noch schwächere wieder eine Verzögerung und außerordentlich schwache Konzentrationen abermals eine Beschleunigung des Gärungsprozesses hervorrufen. Hiernach ist es wohl denkbar, daß auch die Wirkung des diastatischen

¹⁾ Ch. Richet, diese Zeitschr. 13, 136, 1908.

Fermentes eine Beschleunigung resp. Hemmung erfährt je nach der Konzentration der Radiumemanation und vielleicht auch je nach der Konzentration der Fermentlösung. Es dürfte sich verlohnen, diesen Gedanken weiterhin experimentell zu untersuchen.

Experimenteller Teil.

Versuch 1 mit Speichel.

Fermentmenge	+ 3,0 ccm Emanation	+ 3,0 ccm dest. Wasser
0,001	+	+
0,00064	+	limes
0,0004	+	—
0,00025	+	—
0,00016	+	—
0,0001	+	—
0,000064	limes	—
0,00004	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	50000	5000

Versuch 2 mit menschlichem Pankreassaft.

Fermentmenge	+ 3,0 ccm Emanation	+ 3,0 ccm dest. Wasser
0,0025	+	+
0,0016	+	+
0,001	+	limes
0,00064	+	—
0,0004	+	—
0,00025	+	—
0,00016	limes	—
0,0001	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	20000	3125

Versuch 3 mit Hundeserum.

Fermentmenge	+ 3,0 ccm Emanation	+ 3,0 ccm dest. Wasser
0,02	+	+
0,0128	+	+
0,008	+	limes
0,005	+	—
0,0032	+	—
0,002	+	—
0,00128	limes	—
0,0008	—	—
$D_{24^h}^{38^\circ} =$	2500	320,5

Versuch 4 mit Hundeserum.

Ferment- menge	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden		Nach 72 Stunden	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,02	+	+	+	+	+	+
0,0128	limes	+	+	+	+	+
0,008	—	+	+	+	+	+
0,005	—	limes	+	+	+	+
0,0032	—	—	limes	limes	+	+
0,002	—	—	—	—	+	limes
0,00128	—	—	—	—	+	—
0,0008	—	—	—	—	limes	—
$D^{38^\circ} =$	250	625	1000	1000	3205	1562,5

Versuch 5 mit Hundeserum.

Ferment- menge	Nach 24 Std.		Nach 48 Std.		Nach 72 Std.		Nach 96 Std.	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,05	+	+	+	+	+	+	+	+
0,032	limes	+	+	+	+	+	+	+
0,02	—	+	+	+	+	+	+	+
0,0128	—	+	+	+	+	+	+	+
0,008	—	limes	limes	+	+	+	+	+
0,005	—	—	—	limes	limes	limes	+	+
0,0032	—	—	—	—	—	—	+	limes
0,002	—	—	—	—	—	—	+	—
0,00128	—	—	—	—	—	—	limes	—
0,0008	—	—	—	—	—	—	—	—
$D^{38^\circ} =$	100	320,5	320,5	625	625	625	2500	1000

Versuch 6 mit Speichel.

Ferment- menge	Nach 3 Std.		Nach 24 Std.		Nach 48 Std.		Nach 72 Std.	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,001	—	+	—	+	+	+	+	+
0,00064	—	limes	—	+	+	+	+	+
0,0004	—	—	—	+	+	+	+	+
0,00025	—	—	—	limes	+	+	+	+
0,00016	—	—	—	—	limes	limes	+	+
0,0001	—	—	—	—	—	—	+	limes
0,000064	—	—	—	—	—	—	+	—
0,00004	—	—	—	—	—	—	+	—
0,000025	—	—	—	—	—	—	limes	—
0,000016	—	—	—	—	—	—	—	—
$D^{38^\circ} =$	—	5000	—	12500	20000	20000	125000	31250

Versuch 7 mit Kaninchenserum.

Ferment- menge	Nach 24 Std.		Nach 48 Std.		Nach 72 Std.		Nach 96 Std.	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,2	—	+	+	+	+	+	+	+
0,128	—	+	+	+	+	+	+	+
0,08	—	+	limes	+	+	+	+	+
0,05	—	+	—	+	limes	+	+	+
0,032	—	limes	—	+	—	+	+	+
0,02	—	—	—	+	—	+	limes	+
0,0128	—	—	—	limes	—	limes	—	+
0,008	—	—	—	—	—	—	—	limes
0,005	—	—	—	—	—	—	—	—
$D^{38^{\circ}} =$	—	100	32,0	250	62,5	250	156	320

Versuch 8 mit Hundeserum (Pankreasdiabetes).

Ferment- menge	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden		Nach 72 Stunden	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,05	+	+	+	+	+	+
0,032	limes	+	+	+	+	+
0,02	—	+	+	+	+	+
0,0125	—	limes	limes	limes	+	+
0,008	—	—	—	—	+	limes
0,005	—	—	—	—	+	—
0,00032	—	—	—	—	limes	—
0,002	—	—	—	—	—	—
$D^{38^{\circ}} =$	100	250	250	250	1000	400

Versuch 9 mit Hundeserum (Pankreasdiabetes).

Ferment- menge	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden		Nach 96 Stunden	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,05	—	+	+	+	+	+
0,032	—	+	limes	+	+	+
0,02	—	+	—	+	+	+
0,0125	—	+	—	+	+	+
0,008	—	limes	—	+	+	+
0,005	—	—	—	limes	limes	limes
0,0032	—	—	—	—	—	—
$D^{38^{\circ}} =$	—	400	100	625	625	625

Versuch 10 mit Hundelymphe (Pankreasdiabetes).

Ferment- menge	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden		Nach 96 Stunden	
	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser	+ 3 ccm Ema- nation	+ 3 ccm dest. Wasser
0,05	limes	+	+	+	+	+
0,032	—	+	+	+	+	+
0,02	—	limes	+	+	+	+
0,0125	—	—	limes	limes	+	+
0,008	—	—	—	—	limes	limes
0,005	—	—	—	—	—	—
0,0032	—	—	—	—	—	—
$D^{38^\circ} =$	—	156,25	250	250	400	400

Versuch 11 mit Preßsaft von Hundeleber.

Fermentmenge	+ 3,0 ccm Emanation (0,9% NaCl-haltig)	+ 3,0 ccm physiolog. NaCl-Lösung
	0,25	+
0,16	+	+
0,1	+	+
0,0625	+	limes
0,04	+	—
0,025	+	—
0,016	limes	—
0,01	—	—
$D^{38^\circ}_{24h} =$	200	50

Versuch 12 mit Preßsaft von Hundeleber.

Ferment- menge	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden	
	+ 3 ccm Emanation (NaCl-haltig)	+ 3 ccm 0,9% NaCl	+ 3 ccm Emanation (NaCl-haltig)	+ 3 ccm 0,9% NaCl
0,25	+	+	+	+
0,16	+	+	+	+
0,1	limes	limes	+	+
0,0625	—	—	+	limes
0,04	—	—	+	—
0,025	—	—	limes	—
0,016	—	—	—	—
0,01	—	—	—	—
$D^{38^\circ} =$	31,25	31,25	125	50

Zur Frage des Vorkommens von Glykokoll im normalen menschlichen Harn.

Von

G. Oehler.

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

(Eingegangen am 30. August 1909.)

Die Angaben über das Vorkommen von freien Aminosäuren, besonders von Glykokoll, im normalen Urine des Menschen widersprechen einander. Die positiven Befunde von Embden und seinen Mitarbeitern sind von anderen Seiten bestritten, zum mindesten bezüglich der Mengen der ausgeschiedenen Aminosäure stark eingeschränkt worden (Forssmann, Kionka, Abderhalden und Bergell, Ignatowski, Erben, Abderhalden und Schittenhelm, Wohlgemuth und Neuberg, Samuely u. a.). Während nach den ersten Mitteilungen Embdens die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen war, daß die Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen (wie Alkaleszenzgrad des Harnes bei der Behandlung mit β -Naphthalinsulfochlorid und Zeitdauer des Schüttelns) von ausschlaggebender Bedeutung sei, soll nach den späteren Angaben von Embden und Marx ein relativ breiter Spielraum in diesen Punkten bestehen, ohne daß das positive Ergebnis dadurch geändert wird. Trotzdem habe ich mich zum Zwecke einer Nachprüfung in allen Punkten peinlich an die letzten Vorschriften Embdens und seiner Mitarbeiter¹⁾ gehalten, von deren Wiedergabe ich daher absehen kann.

¹⁾ Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 308, 1908, bzw. 7, 411, 1905.

Zur Verarbeitung kam der Harn verschiedener gesunder Praktikanten des Laboratoriums, und zwar die 24stündige Quantität oder nahezu die Tagesmenge. Aus der Übersichtstabelle geht hervor, daß in 11 von 12 Fällen lediglich unwägbarbare Mengen, in einem einzigen Falle wenige Centigramme eines sicherlich noch nicht analysenreinen Produktes gewonnen werden konnten. Daß irgendwelche Zufälligkeiten bei der Verarbeitung völlig ausgeschlossen sind, zeigen die Versuche 13 und 14, die ganz ebenso nach den Embdenschen Angaben, aber nach Zusatz von reinem Glykokoll ausgeführt worden sind. Hier wurde ohne Schwierigkeit β -Naphthalinsulfoglycin erhalten und identifiziert, selbst wenn weniger Aminosäure zugefügt wurde, als z. B. Embden und Marx (l. c.) in normalem Harn fanden.

Nummer	Harmenge	Menge des isolierten β -Naphthalinsulfoglycins
1	1900	unwägbarbare Menge
2	1855	do.
3	1520	do.
4	1725	do.
5	1160	do.
6	1950	do.
7	1000	0,054 g
8	1560	Spur
9	1150	unwägbarbare Menge
10	1200	do.
11	1250	do.
12	1300	do.
13	1400	0,4890 g (nach Zusatz von 0,50 g Glykokoll)
14	1330	0,2770 g („ „ „ 0,30 g „)

Es sei noch bemerkt, daß ein Einengen des nativen Harnes sowie jede Erwärmung im Hinblick auf die Arbeiten von F. Lippich¹⁾ unterblieben ist. Denn in diesen ist gezeigt, daß die Aminosäuren schon beim Erwärmen mit wässrigen Harnstofflösungen Uraminosäuren liefern, die nicht mehr mit Naphthalinsulfochlorid reagieren²⁾. Im Harn sind natürlich an sich die Bedingungen für die Bildung von Uraminosäuren aus Harnstoff und Aminosäuren vorhanden. Daß der Harnstoff des Urins die sekundäre Entstehung von Carbamidderivaten veranlassen kann,

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 2953 u. 2974, 1908.

²⁾ Lippich (l. c. S. 2955); Embden u. Reese gaben allerdings (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 424, 1905) für Uraminoalanin das Gegenteil an.

geht aus den Versuchen von M. Jaffé¹⁾ hervor. (Vgl. hierzu auch P. Mayer²⁾.)

Von einem regelmäßigen Vorkommen größerer Mengen freien Glykokolls (und anderer Aminosäuren) im Urin gesunder Menschen (Männer) habe ich mich nicht überzeugen können³⁾; die abweichenden Befunde der Frankfurter Forscher bleiben vorläufig unaufgeklärt.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 532, 1897.

²⁾ Diese Zeitschr. 17, 145, 1909.

³⁾ Zu einem gleichen Ergebnis ist ganz neuerdings auch H. Mal-fatti (Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 499, 1909) gelangt. An der Hand einer völlig anderen Methode hat er präformiertes Glykokoll nicht sicher im normalen Harn finden können; dagegen hat dieser Forscher eine Neubildung von Glykokoll beim Aufbewahren von menschlichem Urin festgestellt. Die Möglichkeit einer solchen Neubildung, d. h. Abspaltung von Glykokoll aus anderen Verbindungen, hatten schon Wohl-gemuth und Neuberg (Medizin. Klinik 1906, Nr. 9) betont, sie war jedoch von Embden und Marx (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 310, 1908) bekämpft worden.

1

Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institute der Universität Genf.)

(Eingegangen am 12. August 1909.)

Mit 2 Figuren im Text.

I.

Die vorliegende Arbeit stellt die Fortsetzung einer Reihe von Mitteilungen dar, die wir über die Atmung überlebender Tiergewebe veröffentlicht haben. Dieses analytische Studium bezweckt, das Problem des Mechanismus der Tierverbrennungen, worüber wir bis jetzt keine klare experimentell begründete Vorstellung haben, der Lösung näher zu bringen.

In einer früheren Arbeit¹⁾ haben wir gezeigt, daß die Intensität der Gewebeatmung (in vitro) nach dem Tode des Tieres allmählich abnimmt. So weist z. B. die Leber gleich nach dem Tode des Tieres einen bedeutend stärkeren Gaswechsel auf, als eine Stunde später. Nach einem allmählichen Sinken der Atmungsintensität bleibt dieselbe in mehreren Geweben (Leber, Niere, Milz usw.) während mehr oder weniger langer Zeit, mehrere Stunden bis mehrere Tage, konstant.

Nehmen wir als Beispiel die Leber des Hundes, so finden wir, daß die Intensitätsverminderung der Respirationstätigkeit durch folgende Figur (Fig. 1), welche die durch 100 g Hundeleber aufgenommene Sauerstoffmenge zu verschiedenen Zeiten nach dem Tode des Tieres bei einer Temperatur von 38° repräsentiert, dargestellt werden kann.

¹⁾ Battelli u. Stern, Recherches sur la conservation de l'activité respiratoire dans les différents tissus animaux après la mort. Journ. de Physiol. et de Pathol. générale 1907, 410.

Es gibt also zwei Phasen in der Atmung der isolierten Tiergewebe. Während der ersten Phase nimmt die Atmungsintensität allmählich ab, während der zweiten Phase bleibt dieselbe konstant.

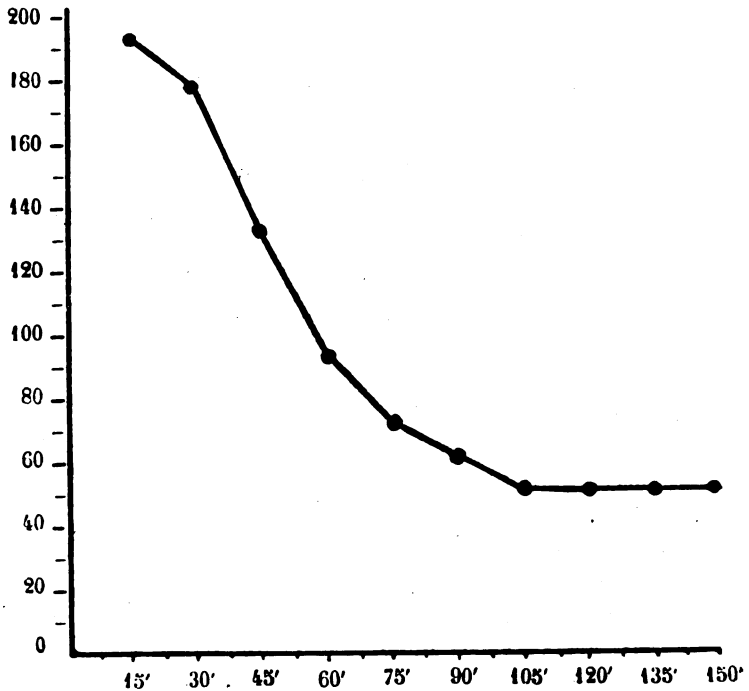


Fig. 1. Sauerstoffmengen in cc (Ordinate) durch 100 g Leber während 30 Minuten in reinem Sauerstoff zu verschiedenen Zeiten nach dem Tode des Tieres absorbiert.

Wir haben eine Reihe von Untersuchungen angestellt, um zu ergründen, ob die Atmung der zweiten Phase nur eine Abschwächung der Atmung der ersten Phase sei, oder ob es sich um zwei ganz verschiedene Prozesse handele. Wir haben nun die Beobachtung gemacht, daß der Charakter der Atmung in den beiden Phasen große und deutliche Verschiedenheiten aufweist, und wir haben daher die Ansicht gewonnen, daß es sich um Prozesse verschiedener Natur handele; doch wollen wir gleich bemerken, daß es nur eine Hypothese ist. Immerhin haben wir es für nützlich gefunden, diesen Unterschied hervorzuheben, um das Studium der Gewebeatmung zu erleichtern.

Wir haben als Hauptatmung¹⁾ den Process bezeichnet, dessen Intensität nach dem Tode des Tieres allmählich geringer wird, und wir bezeichnen als akzessorische Atmung den Vorgang, der längere Zeit nach dem Tode konstant fortbesteht. Der durch die Hauptatmung in vitro verursachte Gaswechsel ist bedeutend größer, als der der akzessorischen Atmung, wie es bereits in der Fig. 1 angedeutet ist.

In dieser Arbeit untersuchen wir die akzessorische Atmung. Am Schlusse dieser Mitteilung werden wir auf die Unterschiede zurückkommen, die zwischen den beiden Formen der Atmung bestehen. Wie in unseren vorhergehenden Arbeiten haben wir auch hier die hauptsächlichsten Gewebe (Muskeln, Leber, Lunge, Niere, Gehirn usw.) der verschiedenen Tierarten untersucht, um auf diese Weise Resultate von allgemeiner Tragweite und nicht nur solche, die sich auf Einzelfälle beschränken, zu erzielen.

II. Methode.

Allgemeine Methode. Die von uns angewandte Untersuchungsmethode ist dieselbe, wie wir sie in unserer ersten Mitteilung über die Atmung der Gewebe beschrieben haben.²⁾ Die Gewebe werden schnell und fein mit Hilfe einer feinflöcherigen Fleischhackmaschine zerrieben. Der Gewebebrei wird mit Wasser versetzt, so daß ein recht flüssiges Gemenge entsteht (100 ccm Wasser z. B. zu je 30 g Gewebe). Das Ganze wird in eine große Flasche gebracht und energisch geschüttelt. Der Schüttelapparat kann mehrere Flaschen aufnehmen, die sich auf diese Weise unter denselben Bedingungen befinden. Die Flaschen tauchen in ein auf die gewünschte Temperatur erwärmtes Wasserbad. Am Schlusse des Versuches wird die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs und die der produzierten Kohlensäure gemessen.

Wahl des Gewebes. Unter den verschiedenen Geweben eignet sich die Leber am besten für das Studium der akzessorischen Atmung, aber man kann auch sehr gut die Niere, die Milz, das Gehirn usw. verwenden. Vorerst muß man sich überzeugen, daß in dem betreffenden Gewebe die Hauptatmung nicht mehr stattfindet. Die beste Art, sich von der Abwesenheit der Hauptatmung zu überzeugen, besteht darin, daß man untersucht, ob das Pnein (wässriger Muskelauszug von Rind oder Pferd usw.) die Atmung des zu untersuchenden Gewebes nicht mehr aktiviert. Ist das Pnein ohne Wirkung, so kann man annehmen, daß

¹⁾ Battelli und Stern, *Recherches sur la respiration principale et la respiration accessoire des tissus animaux*. Soc. de Biol. 66, 372, 1909.

²⁾ Battelli und Stern, *Recherches sur la respiration élémentaire des tissus*. Journ. de Physiol. et de Pathol. générale 1907, 1.

die Hauptatmung verschwunden ist und daß also das Gewebe nur noch die akzessorische Atmung besitzt. Die Leber und die Niere des Pferdes verlieren sehr bald die Hauptatmung, in der Leber und der Niere des Rindes, des Hundes und des Hammels schwindet dieselbe langsamer. So kann z. B. die Atmungstätigkeit der Rinderniere und der Hammelleber selbst 5 oder 6 Stunden nach dem Tode noch aktiviert werden. Übrigens gibt es in dieser Hinsicht ziemlich große individuelle Unterschiede. Man muß auch in Betracht ziehen, daß die Hauptatmung um so länger andauert, je niedriger die Temperatur ist, wie wir es bereits in einer früheren Arbeit gezeigt haben. Folglich wird man, um die Hauptatmung schnell zum Verschwinden zu bringen, das Gewebe bei einer Temperatur von 38°, oder besser noch im Körper des toten Tieres lassen.

Die Gasanalyse. Die Bestimmung der verbrauchten Sauerstoffmenge bietet keine Schwierigkeit. Man verfährt hierbei nach den allgemein üblichen Methoden. Wir haben in diesen Untersuchungen auch die totale, während der Atmung gebildete Kohlensäuremenge gemessen, was wir in unseren früheren Untersuchungen unterlassen hatten. Hierbei muß man natürlich die präexistierende und die neugebildete Kohlensäuremenge unterscheiden.

In einen Kontrollkolben wird die gleiche Menge Gewebe, Wasser, Alkali usw. gebracht und sofort die nötige Phosphorsäuremenge, um einen Säuregrad von 1:100 zu erzielen, hinzugesetzt. Der Kolben wird einige Minuten lang geschüttelt und die in der Gasatmosphäre des Kolbens existierende Kohlensäure auf die gewöhnliche Art gemessen. Die in Lösung befindliche Kohlensäure wird durch die Quecksilberpumpe extrahiert und gemessen.

Der eigentliche Versuchskolben, in dem das zu untersuchende Gewebe atmen soll, wird die gewünschte Zeitlang geschüttelt, sodann wird die nötige Phosphorsäuremenge hinzugesetzt, um einen Säuregrad von 1:100 zu erzielen, und im übrigen verfährt man, wie oben bereits beschrieben. Zieht man von der gesamten Kohlensäuremenge des zweiten Kolbens die in dem ersten Kolben bestimmte präexistierende Kohlensäuremenge ab, so erhält man die Menge der neugebildeten Kohlensäure.

III. Die Intensität der akzessorischen Atmung in den verschiedenen Geweben.

Eine große Zahl von Resultaten findet man bereits in unseren früheren Arbeiten, namentlich dort, wo wir die Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres verwandten; aber in denselben ist bloß die Sauerstoffaufnahme in exakter Weise gemessen worden. In unseren neuen Versuchen haben wir auch die Menge der während der Atmung neugebildeten Kohlensäure gemessen und uns vorerst überzeugt, daß die Hauptatmung verschwunden war.

In der Tabelle I stellen wir die Durchschnittsresultate einer großen Anzahl von Versuchen zusammen. In allen hierher gehörigen Versuchen haben wir stets große Gewebemengen, 50 g z. B., verwandt, um deut-

lichere Resultate erzielen zu können. Bei der Berechnung des respiratorischen Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ ist bloß die neugebildete Kohlensäure in Betracht gezogen worden.

Tabelle I.

Intensität der akzessorischen Atmung in den verschiedenen Geweben. Die Dauer des Schüttelns beträgt 1 Stunde bei 40°. Die Flasche ist mit Luft gefüllt. Die Suspensionsflüssigkeit ist eine Ammoniaklösung von 0,3 : 1000. Die Werte beziehen sich auf 100 g Gewebe.

Gewebe	Absorbierter O ₂ ccm	Neugebildete CO ₂ ccm	Respiratorischer Quotient	Präexistierende CO ₂ ccm
Leber vom Pferd	53	45	0,87	16
" " Rind	58	42	0,72	19
" " Hammel	64	40	0,62	15
" " Hund	52	37	0,71	18
Niere " Pferd	36	29	0,81	26
" " Rind	32	21	0,66	29
" " Hund	35	26	0,74	21
Milz vom Rind	33	21	0,64	12
" " Pferd	30	17	0,57	19
Lunge vom Pferd	23	9	0,39	14
" " Hammel	19	7	0,37	13
Pankreas vom Rind	23	16	0,70	17
" " Pferd	21	13	0,62	22
Gehirn vom Hund	26	17	0,65	14
" " Hammel	25	16	0,64	18

Bei der näheren Durchsicht der in der Tabelle I zusammengestellten Versuchsergebnisse bemerkt man, daß die akzessorische Atmung in allen daraufhin untersuchten Geweben existiert, daß sie aber in der Leber der verschiedenen Tiere bedeutend stärker ist.

Man darf nicht außer acht lassen, daß die in der Tabelle I wiedergegebenen Zahlen nur Durchschnittswerte sind. Es existieren recht große individuelle Abweichungen für ein und dasselbe Gewebe derselben Tiergattung.

In der Tabelle I haben wir die Werte für die Muskeln der verschiedenen Tiere nicht angegeben, weil wir mit Sicherheit nicht entscheiden konnten, ob die Muskeln überhaupt eine akzessorische Atmung aufweisen. In der Tat gibt es gewisse Muskeln, z. B. die Muskeln des Hundes und des Kaninchens, die nach und nach ihre Atmungstätigkeit einbüßen und häufig 1 bis 2 Tage nach dem Tode des Tieres eine äußerst unbedeutende Atmungs-

tätigkeit aufweisen, die aber durch Einwirken von Pnein aktiviert werden kann. Die Atmung der Muskeln des Rindes oder des Pferdes sinkt allmählich während mehrerer Tage und wird stets durch Pnein aktiviert.

In der akzessorischen Atmung haben wir es nicht bloß mit einer Sauerstoffaufnahme zu tun, sondern es findet hier auch eine Neubildung von Kohlensäure statt. Die Kohlensäurebildung ist im allgemeinen in den Geweben, die viel Sauerstoff aufnehmen, wie die Leber und die Niere, am größten.

Was nun den respiratorischen Quotienten betrifft, so finden wir, daß er in allen daraufhin untersuchten Geweben niedriger als 1 ist und oft sehr geringe Werte aufweist.

IV. Einfluß der Temperatur auf die Intensität der akzessorischen Atmung.

Wir haben eine Reihe von Versuchen angestellt, um den Einfluß der verschiedenen Temperaturen auf die Intensität des Gaswechsels bei der akzessorischen Atmung der Gewebe zu studieren. Unsere Versuche haben sich hauptsächlich auf die Leber und die Niere beschränkt, die, wie wir bereits gesehen haben, die stärkste akzessorische Atmungstätigkeit aufweisen.

Die Flüssigkeit des Versuchskolbens wurde zuerst auf die Temperatur des Thermostaten erwärmt und dann erst das zu untersuchende Gewebe hineingebracht. Man wartete dann noch weitere 3 Minuten, bevor man mit dem Schütteln begann. Die Dauer des Schüttelns betrug hier nur 30 Minuten. Wir haben in diesen Versuchen die Dauer des Schüttelns aus zweierlei Gründen abgekürzt. Einerseits nimmt bei höheren Temperaturen (55°, 60° usw.) die akzessorische Atmung nach einer gewissen Zeit ab; würde man also den Versuch längere Zeit fortsetzen, so würde die begünstigende Wirkung höherer Temperaturen durch die mit der Zeit eintretende Abschwächung des Atmungsprozesses maskiert werden können. Andererseits ist der Gaswechsel häufig in der ersten halben Stunde viel intensiver als in der Folge. Durch Einschränken der Versuchsdaure tritt also der Einfluß der Temperaturwirkung deutlicher hervor.

In der Tabelle II geben wir bloß einige Versuchstypen, die sich auf die Leber des Pferdes und die Niere des Rindes beziehen, wieder.

Tabelle II.

Einfluß der Temperatur auf die Intensität der akzessorischen Atmung. Die Dauer des Schüttelns beträgt stets 30 Minuten; die Flaschen sind mit Luft gefüllt; die Suspensionsflüssigkeit besteht aus einer Ammoniaklösung von 0,3:1000. Die Werte für O₂ und CO₂ beziehen sich auf 100 g Gewebe.

Gewebe	Temperatur Grad	Aufgenommener O ₂ ccm	Neugebildete CO ₂ ccm	Respiratorischer Quotient
Leber vom Pferd	10	14	6	0,43
	20	19	11	0,58
	30	32	23	0,72
	40	39	28	0,72
	50	43	32	0,74
	55	46	34	0,74
	60	35	25	0,71
	65	22	10	0,45
Niere vom Rind	70	16	2	0,125
	10	8	2	0,25
	20	13	7	0,54
	30	21	14	0,67
	40	28	23	0,82
	50	30	25	0,83
	55	31	22	0,71
	60	27	16	0,59
65	14	7	0,50	
70	9	2	0,22	

Auf Grund der in der Tabelle II zusammengestellten Versuchsergebnisse läßt sich folgende, auf die bei den verschiedenen Temperaturen durch die Pferdeleber absorbierte Sauerstoff- und neugebildete Kohlensäuremenge beziehende Kurve (Fig. 2) konstruieren. Die bei Anwendung der Leber des Hundes und des Rindes sowie der Niere des Rindes und des Pferdes erzielten Werte ergeben ganz analoge Kurven.

Die auf Grund der Versuche an der Hammelleber zu konstruierenden Kurven weisen einige Verschiedenheiten auf, und zwar ist die optimale Temperatur für dieses Gewebe ungefähr 45° und nicht 55°, wie für die anderen Gewebe. Wir werden übrigens auch sehen, daß die akzessorische Atmung der Hammelleber gegen höhere Temperaturen weniger widerstandsfähig ist als die Atmung anderer Gewebe.

Die in der Fig. 2 gezeichneten Kurven zeigen, daß die optimale Temperatur für die akzessorische Atmung der Pferdeleber (ebenso wie für die Leber und die Niere verschiedener anderer Tiere) ungefähr 55° beträgt. In dieser Beziehung weist also die akzessorische Atmung eine gewisse Analogie mit der Urikase und anderen oxydierenden Fermenten auf, wie wir es bereits in einer früheren Arbeit gezeigt haben.¹⁾

Die die Sauerstoffaufnahme darstellende Kurve deckt sich nicht vollständig mit der Kurve der Kohlensäurebildung. Bei niedrigen Temperaturen ist die Kohlensäurebildung sehr schwach. Oberhalb 55° nimmt die Kohlensäurebildung schneller ab als die Sauerstoffaufnahme. Bei 70° hört die Kohlensäureproduktion fast völlig auf, während die Sauerstoff-

¹⁾ Battelli und Stern, Untersuchungen über die Urikase in den Tiergeweben. Diese Zeitschr. 19, 219 bis 254.

aufnahme mit einer gewissen Intensität noch fort dauert. Daraus resultiert, daß der respiratorische Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei niedrigen Temperaturen und oberhalb 55° kleiner ist als bei mittleren Temperaturen, wie es aus der Tabelle II zu ersehen ist.

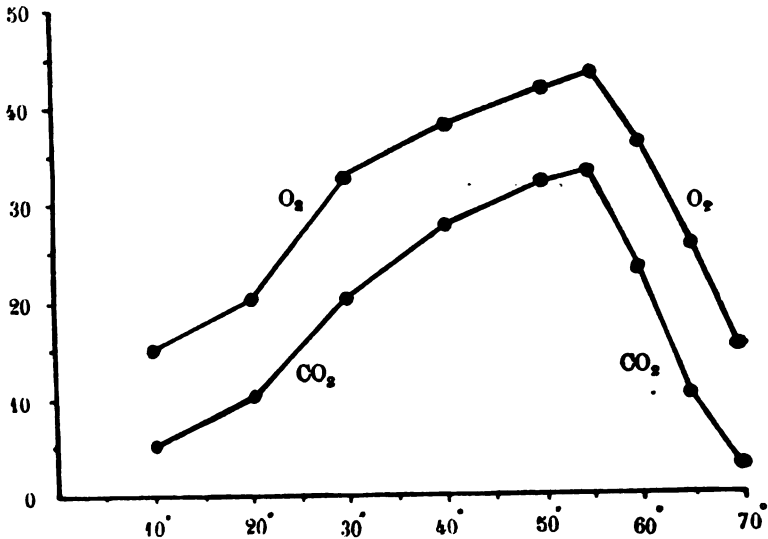


Fig. 2. Die Werte des absorbierten Sauerstoffs und der produzierten Kohlensäure in cc (Ordinate) bei der akzessorischen Atmung der Pferdeleber (100 g) bei verschiedenen Temperaturen (Abzisse) im Laufe von 30 Minuten.

Als Ergänzung zu den soeben beschriebenen Versuchen haben wir eine Reihe von Untersuchungen angestellt, um die Widerstandsfähigkeit der akzessorischen Atmung gegen die Einwirkung mehr oder weniger hoher Temperaturen zu studieren. Wir verfahren hierbei in folgender Weise: In einen Kolben bringt man 50 g des zu untersuchenden, fein zerriebenen Gewebes sowie 120 cc einer 0,03%igen Ammoniaklösung. Der Kolben wird verschlossen und in ein Wasserbad von gewünschter konstanter Temperatur getaucht. Nachdem der Kolbeninhalt die erforderliche Temperatur erlangt hat, läßt man denselben eine gewisse Zeit bei dieser Temperatur stehen. In den meisten Versuchen betrug diese Dauer 20 Minuten. Hierauf läßt man auf 40° abkühlen, bringt das Gemenge in einen großen Kolben und läßt es energisch schütteln, wie in den übrigen Versuchen. Ein anderer Teil desselben Gewebes wird auf 40° erwärmt und dient als Kontrollprobe.

Die Resultate einiger solcher Versuchstypen sind in der Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Die Widerstandsfähigkeit der akzessorischen Atmung gegen längere Einwirkung höherer Temperaturen. Die Dauer des Schüttelns betrug immer 1 Stunde bei 40°. Die Flaschen sind mit Luft gefüllt. Die Werte des absorbierten Sauerstoffs und der neugebildeten Kohlensäure beziehen sich auf 100 g Gewebe.

Gewebe	Erreichte Temperatur Grad	Absorbierter O ₂ ccm	Neugebildete CO ₂ ccm	Respiratorischer Quotient
Leber vom Pferd	40	49	38	0,78
	55	51	37	0,73
	60	47	31	0,66
	65	31	12	0,39
	70	18	0	—
	80	12	0	—
Leber vom Hammel	95	12	0	—
	40	56	34	0,61
	55	39	21	0,54
	60	23	7	0,30
	65	21	3	0,14
	70	14	0	—
80	13	0	—	
95	12	0	—	
Leber vom Rind	95	11	0	—
Niere vom Pferd	95	8	0	—
Milz vom Rind	95	9	0	—
Lunge vom Pferd	95	6	0	—
Gehirn vom Hammel	95	9	0	—
Pankreas vom Rind	95	7	0	—
Muskel vom Rind	95	5	0	—
Muskel vom Hund	95	4	0	—

Die in der Tabelle III wiedergegebenen Versuchsergebnisse zeigen, daß der Prozeß der akzessorischen Atmung der Pferdeleber unter dem 20 Minuten währenden Einflusse einer Temperatur von 55° keine Schädigung erleidet. Doch bewirkt ein längeres Einwirken dieser Temperatur (nicht mitgeteiltes Versuchsergebnis) eine leichte Abschwächung der akzessorischen Atmung. Ein Erwärmen auf 60° während 20 Minuten setzt die Sauerstoffaufnahme kaum herab, vermindert aber deutlich die Neubildung von Kohlensäure. Erhitzen auf 65° bewirkt eine merkliche Abnahme der Sauerstoffabsorption und eine sehr starke Verminderung der Kohlensäurebildung. Endlich hebt das Erhitzen auf 70° die Kohlensäurebildung völlig auf, während die Sauerstoffaufnahme selbst nach einem Erhitzen auf 95° noch fort dauert, wenn auch in geringem Maße.

Man sieht also, daß unter der Einwirkung höherer Temperaturen die Gewebe die Fähigkeit der Kohlensäurebildung viel schneller einbüßen, als die der Sauerstoffaufnahme.

Die Leber des Hundes und des Rindes, die Niere des Pferdes, des Rindes und des Hundes, die Lunge des Pferdes und die Milz des Rindes verhalten sich in dieser Beziehung ganz analog der Leber des Pferdes,

d. h. die akzessorische Atmungstätigkeit dieser Gewebe wird durch ein 20 Minuten langes Erwärmen auf 55° nicht beeinträchtigt.

Die Leber des Hammels hingegen zeigt eine größere Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen. Erhitzen auf 55° während 20 Minuten schwächt sowohl die Sauerstoffaufnahme wie die Kohlensäurebildung ganz bedeutend.

Man beobachtet außerdem, daß die verschiedenen Gewebe durch Erhitzen auf 95° die Fähigkeit der Sauerstoffaufnahme nicht ganz einbüßen. Es handelt sich hier wahrscheinlich um autoxydable Substanzen, die wir nicht näher untersucht haben. Wir wissen übrigens nicht, ob diese Substanzen im normalen Gewebe präexistieren oder ob sie unter dem Einflusse der hohen Temperatur erst entetanden sind. Doch scheint uns letzteres wenig wahrscheinlich.

Unter den verschiedenen daraufhin untersuchten Geweben besitzt Leber nach dem Erhitzen auf 95° die Fähigkeit der Sauerstoffaufnahme im größten Maße, während die Muskeln in dieser Beziehung den letzten Platz einnehmen.

V. Einfluß der Reaktion des Mediums.

In diesen Versuchen wird die alkalische Reaktion durch Anwendung von NH_3 oder NaOH und die saure Reaktion durch HCl oder $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ erzielt. Um die Berechnung zu vereinfachen, wird 1 g Gewebe gleichwertig mit 1 ccm Wasser betrachtet.

Wir bringen in der Tabelle IV einige Versuchstypen.

Tabelle IV.

Einfluß der Reaktion des Mediums auf den Gasaustausch bei der akzessorischen Atmung. Die Dauer des Schüttelns beträgt stets 1 Stunde; die Flaschen sind mit Luft gefüllt. Die Sauerstoff- und Kohlensäurewerte beziehen sich auf 100 g Gewebe.

Gewebe	Reaktion des Mediums	Absor- bierter O_2 ccm	Neugebil- dete CO_2 ccm	Respira- torischer Quotient
Leber vom Pferd . .	neutral	63	51	0,80
	NH_3 $\frac{1}{2000}$	69	52	0,75
	NH_3 $\frac{1}{1000}$	65	39	0,60
	NH_3 $\frac{2}{1000}$	63	30	0,48
	NH_3 $\frac{4}{1000}$	61	14	0,23
	NaOH $\frac{1}{2000}$	66	49	0,74
	NaOH $\frac{1}{1000}$	61	43	0,70
	NaOH $\frac{2}{1000}$	57	27	0,47
	NaOH $\frac{4}{1000}$	56	11	0,20
	NaOH $\frac{2}{100}$	238	0	—
	HCl $\frac{1}{4000}$	43	39	0,91
	HCl $\frac{1}{2000}$	19	16	0,84
	HCl $\frac{1}{1000}$	8	6	0,75
	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ $\frac{1}{2000}$	49	44	0,90
	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ $\frac{1}{1000}$	24	22	0,92
	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ $\frac{2}{1000}$	11	10	0,91

Die in Tabelle IV zusammengestellten Versuchsergebnisse zeigen deutlich, daß bei alkalischer Reaktion die Sauerstoffaufnahme eine Tendenz zur Steigerung aufweist, wenn die Alkalinität schwach ist, daß sie aber leicht abnimmt, wenn die Alkalinität eine mittlere Konzentration erreicht. Im allgemeinen hat die Alkalinität einen recht geringen Einfluß auf die Sauerstoffabsorption bei der akzessorischen Atmung.

Die Kohlensäurebildung hingegen wird durch die Alkalinität bedeutend beeinflusst. Mit zunehmender Alkalinität nimmt die Kohlensäurebildung ab, so daß der respiratorische Quotient in dem Maße, wie die Alkalinität zunimmt, niedriger wird.

Die saure Reaktion verursacht eine Verminderung sowohl der Sauerstoffaufnahme als auch der Kohlensäurebildung. Doch nimmt mit steigender Acidität die Sauerstoffaufnahme stärker ab als die Kohlensäurebildung. Die Folge davon ist, daß der respiratorische Quotient mit steigender Acidität größer wird.

Bei Anwendung einer sehr starken Alkalinität, z. B. 2 bis 4%iger NaOH-Lösung, beobachtet man eine enorme Steigerung der Sauerstoffaufnahme, aber in diesem Falle handelt es sich nicht mehr um einen biologischen Prozeß.

Die Leber des Rindes, des Hundes, des Hammels, zeigt dasselbe Verhalten wie die Leber des Pferdes. Bei den anderen Geweben (Niere, Lunge, Pankreas usw.) ist der Einfluß der alkalischen und sauren Reaktion auf den respiratorischen Quotienten weniger ausgesprochen, doch beobachtet man auch hier eine Steigerung bei saurer und eine Verminderung bei alkalischer Reaktion des Mediums.

VI. Einfluß der Sauerstofftension und der Gegenwart von Blut auf die Intensität der akzessorischen Atmung.

Die meisten in den vorhergehenden Kapiteln zitierten Versuche sind in einer Luftatmosphäre ausgeführt worden. Wir haben aber eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu bestimmen, ob der Gaswechsel in reinem Sauerstoff intensiver sei. Wir haben die Beobachtung gemacht, wie wir bereits in einer früheren Arbeit hervorgehoben haben, daß die Sauerstofftension im allgemeinen einen deutlichen, wenn auch nicht starken Einfluß auf den Gaswechsel der Leber, der Niere, der Milz usw. ausübt, wenn diese Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres

untersucht werden, zu einer Zeit also, wo sie bloß noch die akzessorische Atmung besitzen. In einigen Fällen jedoch war die Sauerstofftension ohne jeden Einfluß.

In einer unserer früheren Arbeiten¹⁾ hatten wir außerdem konstatieren können, daß, wenn man unter sonst gleichen Bedingungen das Wasser durch Blut ersetzt, der Gaswechsel der Leber, der Niere, des Gehirns usw. nicht oder kaum gesteigert wird, wenn die betreffenden Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres verwandt werden. In einigen Fällen konnte man vielmehr eine Herabsetzung des Gaswechsels konstatieren, wohl durch die Gegenwart hemmender Substanzen im Serum verursacht.

Bei Anwendung gewaschener roter Blutkörperchen, also bei Ausschluß des Blutserums, erzielt man eine deutliche, wenn auch nicht starke Steigerung der akzessorischen Atmungsaktivität. Die gewaschenen und hernach hämolytierten Blutkörperchen haben dieselbe Wirkung. Es ist wahrscheinlich, daß diese begünstigende Wirkung der roten Blutkörperchen dem darin enthaltenen Hämoglobin zuzuschreiben ist. Das Hämoglobin wirkt wahrscheinlich in derselben Weise wie die Tensionssteigerung des Sauerstoffs.

VII. Einfluß der Dauer des Schüttelns.

Die Dauer des Schüttelns schwankte in unseren Versuchen zwischen 10 Minuten bis 2 Stunden. Die hierbei erzielten Resultate sind sehr verschieden. Im allgemeinen kann man sagen, daß die Intensität der akzessorischen Atmung während der ersten Minuten des Schüttelns größer ist als in den folgenden. In einigen Fällen scheint der Gaswechsel nach 1 Stunde und selbst nach $\frac{1}{2}$ Stunde völlig aufgehört zu haben, während er in anderen Fällen mit einer gewissen Intensität während 2 Stunden andauert. Dieselben Resultate haben wir in einer früheren Arbeit erzielt.

VIII. Einfluß einiger Substanzen auf die akzessorische Atmung.

In früheren Arbeiten²⁾ haben wir bereits die Wirkung mehrerer Substanzen auf den Gaswechsel der Gewebe studiert. Hier wollen wir

¹⁾ Battelli u. Stern, Recherches sur l'activité respiratoire. 2. mémoire. Journ. de Physiol. et Pathol. générale 1907, 34.

²⁾ Battelli u. Stern, Action des sels et du glucose sur l'activité respiratoire des tissus animaux isolés. Arch. internat. de physiol. 4, 465, 1907. — Idem, Action de quelques substances sur l'activité respiratoire des tissus isolés. Journ. de Physiol. et Pathol. générale 1907, 228 u. 410.

uns damit begnügen, die Resultate, die sich auf die Gewebe beziehen, welche einige Stunden nach dem Tode des Tieres zur Untersuchung gelangten, zu einer Zeit also, wo sie die Hauptatmung nicht mehr besaßen und nur noch die akzessorische Atmung aufwiesen, anzuführen.

Mehrere Salze, wie die chlorsauren, phosphorsauren* und kohlen-sauren Salze, haben nur wenig Einfluß auf die akzessorische Atmung und man muß dieselben in starker Konzentration verwenden, um eine Verminderung des Gaswechsels zu erzielen. Das flußsaure Natrium ist in schwacher Konzentration wirkungslos, und die akzessorische Atmung ist selbst bei Anwendung einer 1%igen Lösung dieses Salzes noch recht energisch. Die Glucose und die milchsäuren Salze sind ohne Wirkung, die Ameisensäuren Salze verursachen oft eine leichte Steigerung.

Aldehyde, Chloroform, Äther, Chloral, arsenige Säure und Blausäure setzen auch die akzessorische Atmungstätigkeit herab, doch muß man diese Substanzen in viel stärkerer Konzentration verwenden, als nötig ist, um die Hauptatmung herabzusetzen. Aceton wirkt nur in starken Dosen.

Alkohol, wenn er nicht in zu starker Konzentration verwandt wird, ruft in der Leber verschiedener Tiere eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme hervor.

IX. Die akzessorische Atmung in den Gewebeauszügen.

Zu den in den vorhergehenden Kapiteln beschriebenen Versuchen sind die Gewebe total verwandt worden. Wir haben außerdem eine Reihe von Versuchen gemacht, um die Atmungstätigkeit in den Auszügen und in den Rückständen der Gewebe zu studieren. Wir verfahren auf folgende Weise: 60 g fein zerriebenen Gewebes werden mit 120 ccm Wasser versetzt, durchgerührt, 5 Minuten lang stehen gelassen und dann durch ein Tuch gepreßt. Man erhält auf diese Weise einen flüssigen Teil und einen Rückstand. Der flüssige Teil wird schnell zentrifugiert. Man erhält eine trübe Flüssigkeit, die wir als wässerigen Auszug bezeichnen. Der Rückstand wird mit dem 4fachen Volumen Wasser versetzt. Im übrigen verfährt man in der gewöhnlichen Weise, indem sowohl der flüssige Teil als auch der Rückstand energisch geschüttelt werden.

Wir stellen in der Tabelle V einige typische Versuche zusammen.

Tabelle V.

Intensität der akzessorischen Atmung in dem wässerigen Auszuge und dem Rückstande der Gewebe. Die Dauer des Schüttelns beträgt 1 Stunde bei 40°; die Flaschen sind mit Luft gefüllt. Die angegebenen Werte beziehen sich auf den Auszug und den Rückstand von 60 g Gewebe.

Gewebe	Aufgenom- mener O ₂ ccm	Neu- gebildete CO ₂ ccm	Respira- torischer Quotient
Leber vom Pferd:			
wässriger Auszug	22	12	0,54
Rückstand	13	10	0,77
Leber vom Hammel:			
wässriger Auszug	24	13	0,54
Rückstand	17	12	0,71
Niere vom Rind:			
wässriger Auszug	16	10	0,62
Rückstand	12	10	0,83
Niere vom Pferd:			
wässriger Auszug	14	6	0,43
Rückstand	9	8	0,89
Milz vom Pferd:			
wässriger Auszug	15	6	0,40
Rückstand	7	4	0,57

Aus den Versuchen der Tabelle V sieht man deutlich, daß der akzessorische Atmungsprozeß zum größeren Teile in den wässrigen Auszug übergeht. Der wässrige Auszug besitzt die Fähigkeit, nicht nur Sauerstoff aufzunehmen, sondern auch Kohlensäure zu bilden. In unseren Versuchsbedingungen war die durch den Auszug absorbierte Sauerstoffmenge größer, als die durch den Rückstand aufgenommene, während die Kohlen-säurebildung in den beiden Teilen ziemlich gleich war, und in-folgedessen ist der respiratorische Quotient des Rückstandes höher als der des Auszuges.

Aus diesen Versuchsergebnissen könnte man bereits den Schluß ziehen, daß die Substanzen, die bei der akzessorischen Atmung in Betracht kommen, wasserlöslich sind. Immerhin muß man bedenken, daß der wässrige Auszug selbst nach energischem Zentrifugieren trübe bleibt und Zelltrümmer ent-hält; doch ist jedenfalls der größte Teil der Zellen und Zell-trümmer im Rückstande enthalten, der trotzdem einen weniger regen Gaswechsel aufweist als der wässrige Auszug, wie aus den Versuchen der Tabelle V zu ersehen ist. Der beste Be-weis für die Wasserlöslichkeit der die akzessorische Atmung bedingenden Substanzen wird durch die Atmung der durchaus klaren Flüssigkeit, die man durch Ausziehen der Alkohol- oder Aceton-Niederschläge der Gewebe enthält, erbracht.

In bezug auf die Muskeln läßt sich sagen, daß der wässrige Auszug derselben einen höchst geringen Gaswechsel aufweist, wie wir bereits in einer früheren Arbeit gezeigt haben.

X. Die akzessorische Atmung in dem Alkohol- oder Acetonniederschläge der Gewebe.

Die Alkohol- oder Aceton-Niederschläge, die nach der weiter unten angegebenen Methode bereitet sind, weisen einen ziemlich regen Gaswechsel auf. Die Atmungstätigkeit dieser Gewebe nimmt schnell ab und hört nach einer gewissen Zeit fast vollkommen auf, wie wir bereits in unserer Arbeit über die Urikase gezeigt haben. Diese Niederschläge müssen also schnell nach der Zubereitung verwandt werden, und infolgedessen ist es schwer, völlig trockene Präparate zu erzielen. Dieser Übelstand ist unwichtig, wenn es sich um Acetonniederschläge handelt, weil das Aceton selbst in einer Konzentration von 0,5:100 keinerlei Einfluß auf die Atmungstätigkeit ausübt. Für die Alkoholniederschläge liegt die Sache anders.

In einer früheren Arbeit hatten wir bereits darauf hingewiesen, daß unter dem Einflusse des Alkohols in der Leber die Sauerstoffaufnahme gesteigert wird, während die Kohlensäurebildung keinerlei Änderung erfährt. Wir haben nun gefunden, daß diese Steigerung der Sauerstoffaufnahme durch eine Oxydase bewirkt wird. Diese Oxydase kann durch Alkohol sowie Aceton gefällt werden und ist wahrscheinlich der von Buchner und Gaunt¹⁾ in den Bieressigbakterien entdeckten Alkoholoxydase analog. Wir wollen diese Oxydase der üblichen Nomenklatur gemäß als Alkoholase bezeichnen. Die Alkoholase oxydiert den Alkohol zu Essigsäure ohne Kohlensäurebildung. Wir werden dieses Ferment in einer späteren Arbeit eingehender studieren. An dieser Stelle wollen wir nur noch bemerken, daß der Alkoholniederschlag, selbst wenn er scheinbar völlig trocken ist, kleine Mengen Alkohols enthält, die durch die Alkoholase oxydiert werden können. Daraus folgt, daß man bei Verwendung von Alkoholniederschlägen nicht entscheiden kann, ob die Sauerstoffaufnahme einzig und allein der akzessorischen Atmungstätigkeit zuzuschreiben sei oder ob sie zum großen Teile durch die Alkoholase bewirkt wird. Aus dem Grunde kann der Alkoholniederschlag der Gewebe nur zum Studium der Kohlensäurebildung benutzt werden. Jedenfalls ist es vorteilhafter, die Acetonfällung zu benutzen, weil hierbei die akzessorische Atmungstätigkeit weniger beeinträchtigt wird.

Die Alkohol- und Acetonniederschläge wurden auf folgende Art bereitet: Das fein zerriebene Gewebe wurde mit dem 2fachen Volumen Alkohol oder reinen Acetons versetzt, 5 Minuten lang verrührt und durch ein Tuch stark gepreßt. Der Niederschlag wird sodann zwischen

¹⁾ Buchner und Gaunt, Über die Essiggärung. Liebigs Ann. 349, 140, 1906.

Filtrierpapier ausgepreßt und im Vakuum über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur (20° ungefähr) getrocknet. Das Vakuum wurde durch eine Wasserstrahlpumpe hergestellt. Nach 2 bis 3 Stunden ist der Niederschlag trocken genug, um zu den Versuchen verwandt zu werden. Man darf nicht länger warten, weil, wie wir bereits gesagt haben, der Niederschlag seine Atmungsfähigkeit allmählich verliert.

Der Alkohol- oder Acetonniederschlag kann ohne jede weitere Vorbehandlung benutzt werden, oder man kann ihn zuerst mit Wasser extrahieren. Bei Verwendung des Niederschlages selbst setzt man das 6fache Volumen Wasser sowie die nötige Menge Ammoniak hinzu und verfährt im übrigen wie gewöhnlich. Wenn man aber den wässerigen Auszug des Niederschlages verwenden will, setzt man zum Niederschlage das 8fache Volumen einer 0,15%igen NH_3 -Lösung (die Alkalinität begünstigt die Extraktion der bei der akzessorischen Atmung beteiligten Substanzen), läßt das Ganze während 2 bis 3 Stunden bei niedriger Temperatur und bei Luftabschluß unter häufigem Schütteln stehen. Die recht klare Flüssigkeit wird abgehoben, mit HCl neutralisiert und im übrigen wie gewöhnlich behandelt.

Da die dabei erzielten Werte nicht sehr hoch sind, empfiehlt es sich, die Versuchskolben mit reinem Sauerstoff zu füllen, um die Atmungs-tätigkeit des Niederschlages oder seines wässerigen Auszuges zu erhöhen. Außerdem muß man zu den Versuchen recht große Mengen des Niederschlages verwenden, z. B. 30 bis 50 g, um deutliche Resultate zu erzielen, namentlich wenn es sich um den wässerigen Auszug des Niederschlages handelt.

In der Tabelle VI stellen wir nur die Versuche mit den Acetonniederschlägen zusammen, weil hier die Resultate nicht durch die gleichzeitige Oxydation des Alkohols kompliziert sind.

Tabelle VI.

Gaswechsel der Acetonniederschläge und ihrer wässerigen Auszüge. Die Dauer des Schüttelns betrug stets 1 Stunde. Die Flaschen sind mit Sauerstoff gefüllt.

Niederschläge oder Auszüge derselben	Aufgenommener O_2 ccm	Neugebildete CO_2 ccm
Niederschlag der Leber vom Pferd (30 g) .	24	13
Wässeriger Auszug desselben (35 g)	13	8
Niederschlag der Leber vom Rind (30 g) .	27	11
Wässeriger Auszug desselben	12	5
Niederschlag der Leber vom Hammel (30 g)	21	11
Wässeriger Auszug desselben (35 g)	10	6
Niederschlag der Niere vom Rind (30 g) .	16	12
Wässeriger Auszug desselben	9	5
Niederschlag der Niere vom Pferd (30 g) .	14	9
Wässeriger Auszug desselben (35 g)	8	4
Niederschlag des Muskels vom Rind (30 g) .	3	1
Niederschlag des Muskels vom Hund (30 g)	2	1

Aus den in der Tabelle VI zusammengestellten Versuchsergebnissen ersieht man, daß der Acetonniederschlag der Gewebe, welche eine akzessorische Atmung besitzen, wie die Leber und die Niere, einen ziemlich energischen Gaswechsel aufweisen. Man kann nicht nur eine Sauerstoffaufnahme, sondern auch eine Kohlensäurebildung feststellen. Wie zu erwarten war, ist dieser Gaswechsel niedriger als der des entsprechenden Gewichtes des frischen Gewebes. In der Tat entsprechen 30 g Niederschlag der Leber ungefähr 100 g frischen Gewebes. Wenn man nun die Werte der Tabelle I mit denen der Tabelle VI vergleicht, so sieht man, daß durch die Acetonfällung die Hälfte oder noch mehr der Atmungstätigkeit der Gewebe vernichtet ist.

Der Acetonniederschlag der Leber besitzt einen höheren Gaswechsel als das entsprechende Gewicht des Niederschlages der Niere, wie übrigens auch die frische Leber eine größere Atmungstätigkeit aufweist als die frische Niere.

Der Gaswechsel ist noch geringer, wenn man den wässrigen Auszug des Niederschlages verwendet. Es ist wahrscheinlich, daß die bei der akzessorischen Atmung mitwirkenden Substanzen durch die Acetonbehandlung ihre Löslichkeit zum Teil eingebüßt haben. Immerhin ist der Gaswechsel dieser wässrigen Auszüge noch ziemlich bedeutend. Da nun diese Auszüge völlig klar sind, so ist hier die Intervention von Zelltrümmern auszuschließen, und man muß also annehmen, daß die bei der akzessorischen Atmung wirkenden Substanzen in Wasser löslich sind, und daß folglich die akzessorische Atmung auch bei Ausschluß der Zellen oder der Zelltrümmer vor sich gehen kann.

Der Acetonniederschlag der Muskeln weist einen nur äußerst geringen Gaswechsel auf. Dieses Resultat, verbunden mit der Tatsache, daß der wässrige Auszug der Muskeln eine äußerst geringe Atmungstätigkeit besitzt, läßt mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen, daß in den Muskeln die akzessorische Atmung kaum oder überhaupt nicht existiert.

XI. Unterschiede zwischen der Hauptatmung und der akzessorischen Atmung der isolierten Gewebe.

Wir fassen die Unterschiede zwischen der Hauptatmung und der akzessorischen Atmung kurz zusammen. Diese Unter-

schiede ergeben sich teils aus den in vorliegender Arbeit beschriebenen Versuchen, teils aus den in früheren Arbeiten mitgeteilten Untersuchungen.

1. Einfluß der seit dem Tode des Tieres verflissenen Zeit. Wir haben bereits erwähnt, daß die Hauptatmung allmählich abnimmt und schließlich ganz verschwindet. Das Verschwinden der Hauptatmung ist je nach den Geweben mehr oder weniger rapid. Die akzessorische Atmung hingegen bleibt mehrere Stunden und selbst mehrere Tage hindurch konstant.

2. Wirkung der Gifte. Eine große Anzahl von giftigen Stoffen (arsenige Säure, Cyanwasserstoff, Aldehyde usw.) setzen die Hauptatmung herab oder heben dieselbe ganz auf, selbst in äußerst geringen Dosen. Diese Gifte haben hingegen auf die akzessorische Atmung eine bedeutend weniger ausgesprochene Wirkung. Man muß relativ große Dosen dieser Gifte verwenden, um die akzessorische Atmung herabzusetzen.

3. Einfluß der Temperatur. Das Temperaturoptimum für die Hauptatmung liegt bei ungefähr 40° ; bei 50° erleidet der Gaswechsel eine starke Verminderung. Die akzessorische Atmung dagegen ist bei 50° energischer als bei 40° . Die einer Temperaturwirkung von 52° während 20 Minuten ausgesetzten Gewebe verlieren zum weitaus größten Teile die Hauptatmung, während die akzessorische Atmung in den meisten Fällen intakt bleibt.

4. Einfluß der Alkalinität. Die Hauptatmung ist in einem leicht alkalischen Medium bedeutend intensiver als bei neutraler Reaktion, namentlich wenn die Alkalinität durch die Gegenwart von Phosphaten reguliert ist. Ein höherer Alkalinitätsgrad (NaOH 2:1000 z. B.) hebt die Hauptatmung fast völlig auf. Die akzessorische Atmung vollzieht sich ziemlich gleich bei neutraler wie bei leicht alkalischer Reaktion des Mediums; ein stärkerer Alkalinitätsgrad vermindert die Kohlen säurebildung, ohne die Sauerstoffaufnahme zu schädigen.

5. Einfluß des Pneins. Wir haben als Pnein eine Substanz (nicht isoliert und von unbekannter Natur) bezeichnet, die für die Atmung der isolierten Muskeln unentbehrlich zu sein scheint.¹⁾ Diese Substanz ist wasserlöslich und geht sehr

¹⁾ Battelli und Stern, Recherches sur la pnéine et le processus respiratoire fondamental. Soc. de Biol. 65, 489, 1908.

leicht in den wässrigen Auszug über. Das Pnein findet man namentlich in den roten Muskeln in großer Menge. Diese Substanz erhöht die Hauptatmung der Muskeln, der Leber, der Niere, des Gehirns usw. Die akzessorische Atmung wird hingegen durch Zusatz von Pnein nicht beeinflusst. Wir haben bereits früher gesagt, daß die Anwendung von Pnein die leichteste Methode ist, um zu entscheiden, ob ein gegebenes Gewebe die Hauptatmung noch besitzt, oder bloß die akzessorische Atmung aufweist.

6. Die Alkohol- oder Acetonfällung. Die Hauptatmung wird durch Behandeln des Gewebes mit Alkohol oder Aceton vernichtet, während die akzessorische Atmung dadurch nicht aufgehoben wird. Der Niederschlag weist eine ziemlich energische Atmungstätigkeit auf.

7. Wasserlöslichkeit. Der von Zelltrümmern möglichst befreite wässrige Auszug weist eine äußerst geringe oder überhaupt keine Hauptatmung auf. Hingegen sind die bei der akzessorischen Atmung beteiligten Substanzen in Wasser löslich und gehen in den wässrigen Auszug über.

8. Gegenwart von Zellen. Natur der beiden Atmungsprozesse. Aus den bisher aufgezählten Charakterunterschieden der Hauptatmung und der akzessorischen Atmung kann man den Schluß ziehen, daß die Hauptatmung in Abwesenheit von Zellen nicht stattfinden kann, und daß sie an das Leben der Zellen eng geknüpft ist. Die verschiedenen Faktoren, die die Vitalität der Zellen beeinträchtigen, schwächen gleichzeitig auch die Hauptatmung. Unsere Kenntnisse, betreffend den Mechanismus der Hauptatmung, sind natürlich bis jetzt äußerst beschränkt, wie auch alle anderen intimen Vorgänge des Zellebens uns wenig bekannt sind.

Die akzessorische Atmung kann hingegen auch bei Ausschluß von Zellen oder Zelltrümmern stattfinden, und es ist anzunehmen, daß die akzessorische Atmung fermentativer Natur sei, wie wir es im folgenden Kapitel auseinandersetzen werden.

XII. Allgemeine Betrachtungen.

Auf Grund der in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsergebnisse sind wir zu dem Schlusse gelangt, daß die akzessorische Atmung sich auf fermentative Prozesse zurückführen

läßt. In der Tat sind die die akzessorische Atmung verursachenden Substanzen in Wasser löslich, durch Alkohol und Aceton fällbar und können aus den Fällungen mit Wasser von neuem extrahiert werden. Höhere Temperaturen vernichten in den Geweben die Fähigkeit, Kohlensäure zu bilden, und setzen die Sauerstoffzunahme stark herab, ohne sie jedoch völlig aufheben zu können. Dieser letztere Umstand könnte durch die Existenz autooxydabler Substanzen vielleicht erklärt werden.

Man kann also annehmen, daß die akzessorische Atmung durch die Wirkung einer oder mehrerer Oxydasen, deren Natur wir bis jetzt nicht kennen, bedingt sei. Wir kennen bereits ein gut charakterisiertes respiratorisches Ferment, die Urikase, unter deren Einfluß nicht nur eine Sauerstoffaufnahme, sondern auch eine Kohlensäurebildung hervorgerufen werden. Nun hat die Urikase mehrere Charaktereigentümlichkeiten mit der akzessorischen Atmung gemein. Unter diesen gemeinsamen Charakteren muß man das Temperaturoptimum hervorheben, das sowohl für die Urikase wie für die akzessorische Atmung der meisten Gewebe bei 55° liegt. Die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase wäre also nur ein Spezialfall der akzessorischen Atmung.

Wir haben die Beobachtung gemacht, daß bei genügend alkoholischer Reaktion des Mediums die Sauerstoffaufnahme bei der akzessorischen Atmung nicht beeinträchtigt ist, daß aber die Kohlensäurebildung stark herabgedrückt und selbst völlig aufgehoben werden kann. Diese Tatsache könnte durch verschiedene Hypothesen erklärt werden. Man könnte z. B. annehmen, wie es mehrere Forscher getan, daß die Kohlensäurebildung durch einen anderen Proceß zustande komme als die Sauerstoffaufnahme. Wir haben über diesen Punkt keine eingehenden Untersuchungen angestellt und enthalten uns daher hier jeder weiteren theoretischen Diskussionen. Wir können immerhin die Bemerkung machen, daß wir bis jetzt nie den entgegengesetzten Fall beobachtet haben, nämlich eine Kohlensäurebildung in Abwesenheit von Sauerstoff. Außerdem wollen wir hier noch erwähnen, daß die starke Alkalinität den durch die Harnsäureoxydation in Gegenwart von Urikase bedingten respiratorischen Quotienten nicht verändert. Diese Oxydation

führt immer zur Allantoinbildung unter gleichzeitiger Entwicklung der theoretischen Kohlensäuremenge.

In bezug auf die Rolle der akzessorischen Atmung im lebenden Organismus müßte man, um sie verstehen zu können, die Natur der Substanzen kennen, die hierbei verbrannt werden. Man kann immerhin annehmen, daß diese akzessorische Atmung eine andere Rolle spiele als die Hauptatmung. Die hauptsächlichste Funktion der Hauptatmung besteht in der Umwandlung der chemischen Energie der organischen Verbindungen, während die akzessorische Atmung die Oxydation gewisser besonderer, vielleicht schädlicher Substanzen bezweckt, wie die Oxydation der Harnsäure durch die Urikase. Selbstverständlich findet auch hier eine Umwandlung chemischer Energie statt.

Es ist wahrscheinlich, daß im lebenden Organismus die Hauptatmung und die akzessorische Atmung in verschiedenen Geweben nebeneinander existieren, ebenso wie die Urikase gleichzeitig mit anderen Verbrennungsprozessen wirkt. Der Gaswechsel gewisser Organe, wie der Leber, der Niere, des Gehirns usw., ist die Summe der beiden Atmungsprozesse, wie es auch in vitro der Fall ist, wenn wir die Organe sofort nach dem Tode des Tieres untersuchen.

Man muß endlich auch erwähnen, daß in einer großen Anzahl von Versuchen, die von verschiedenen Forschern an ausgeschnittenen oder künstlich durchbluteten Organen vorgenommen wurden, die Gewebe gewöhnlich einige Stunden nach dem Tode des Tieres zur Untersuchung gelangten. Es ist also wahrscheinlich, daß in diesen Fällen die Forscher nur die akzessorische Atmung vor sich hatten, mit Ausnahme der Muskeln, die lange Zeit die Hauptatmung bewahren. Dies ist auch der Fall in unseren ersten Versuchen gewesen, als wir das schnelle Verschwinden der Hauptatmung in gewissen Organen noch nicht kannten. In diesen unseren ersten Versuchen ist der Gaswechsel der Leber, der Niere, des Gehirns usw. als ausschließlich durch die akzessorische Atmung bedingt anzusehen.

Experimentelle Ergebnisse.

1. Mehrere Tiergewebe weisen zweierlei Atmungsprozesse, die wahrscheinlich verschiedener Natur sind, auf: die Hauptatmung und die akzessorische Atmung. Die Hauptatmung

nimmt allmählich ab und verschwindet völlig einige Zeit nach dem Tode des Tieres; die akzessorische Atmung bleibt lange Zeit nach dem Tode konstant.

2. Der Gaswechsel der akzessorischen Atmung wird durch Pnein nicht beeinflusst.

3. Unter den Geweben besitzt die Leber der verschiedenen Tiere die stärkste akzessorische Atmungstätigkeit. In zweiter Reihe kommen die Niere, die Milz, das Gehirn, das Pankreas und die Lunge. In den Muskeln ist die akzessorische Atmung aller Wahrscheinlichkeit nach sehr schwach.

4. In den verschiedenen Geweben ist der respiratorische Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ der akzessorischen Atmung recht niedrig.

5. Das Temperaturoptimum der akzessorischen Atmung der verschiedenen Gewebe liegt zwischen 50° bis 55°. Eine Ausnahme hiervon bildet die Leber des Hammels, deren Temperaturoptimum bei ungefähr 45° liegt. Der respiratorische Quotient ist bei niedrigen Temperaturen wie auch oberhalb 55° niedriger als bei mittleren Temperaturen. Durch vorheriges Erwärmen der Gewebe auf 70° verlieren die Gewebe die Fähigkeit, Kohlensäure zu bilden. Die Sauerstoffaufnahme dauert, wenn auch in geringem Maße, selbst nach Erhitzen auf 95° fort.

6. Bei der akzessorischen Atmung findet die Sauerstoffaufnahme im neutralen Medium mit derselben Intensität statt, wie im alkalischen. Die Kohlensäurebildung nimmt hingegen bei alkalischer Reaktion ab und kann sogar völlig aufhören, wenn die Alkalinität einen genügenden Grad erreicht. Die Atmung beschränkt sich in diesem Falle auf einer Sauerstoffaufnahme. Die saure Reaktion des Mediums vermindert den Gaswechsel im allgemeinen, und zwar hauptsächlich die Sauerstoffaufnahme.

7. Die Intensität der akzessorischen Atmung ist in reinem Sauerstoff nicht viel größer als in gewöhnlicher Luftatmosphäre. Ebenso wenig wird dieselbe gewöhnlich durch Hinzufügen von roten Blutkörperchen beeinflusst.

8. Die akzessorische Atmung dauert häufig lange Zeit mit derselben Intensität fort. In anderen Fällen hört sie nach einer ziemlich kurzen Versuchsdauer bereits auf.

9. Die akzessorische Atmung wird durch verschiedene Gifte (arsenige Säure, Cyanwasserstoff, Aldehyde usw.) bedeutend weniger beeinflußt als die Hauptatmung. Glucose, Essigsäure, Milchsäure usw. haben keinen Einfluß auf die akzessorische Atmung. Der Alkohol vermehrt die Sauerstoffaufnahme in einigen Geweben, dank seiner Oxydation durch eine spezielle Oxydase — die Alkoholase.

10. Die bei der akzessorischen Atmung mitwirkenden Substanzen gehen zum großen Teil in den wässrigen Auszug über.

11. Der Aceton- oder Alkohol-Niederschlag der Gewebe besitzt die akzessorische Atmungsfähigkeit.

12. Die akzessorische Atmung kann auch bei Ausschluß von Zellen oder Zelltrümmern vor sich gehen, während die Hauptatmung nur in Gegenwart von Zellen stattfindet. Die akzessorische Atmung ist wahrscheinlich fermentativer Natur und wird durch die Wirkung einer oder mehrerer Oxydasen bedingt.

Über die Hitzebeständigkeit der Blutkörperchenreceptoren.

Von

R. Muir.

(Aus dem Pathologischen Laboratorium der Universität Glasgow.)

(Eingegangen am 6. August 1909.)

In einer vor kurzer Zeit erschienenen Arbeit über das Bindungsvermögen der Stromata bespricht Forssman¹⁾ frühere Beobachtungen von Muir und Ferguson²⁾ über die hämolytischen Receptoren der roten Blutkörperchen; er behauptet, daß unsere Methode auf einem fundamentalen Irrtum begründet sei und daß die daraus gezogenen Schlußfolgerungen hinsichtlich dieser Frage keinen Wert besitzen. Ein so scharfer Angriff darf nicht ohne Antwort bleiben. Die Streitfrage erstreckt sich auf zwei Hauptpunkte: Der erste betrifft die Bindung des Komplements durch die Stromata, mit und ohne Vermittelung des Immunkörpers; der zweite betrifft die Hitzebeständigkeit der Receptoren der roten Blutkörperchen. Es sind dies diejenigen Receptoren, welche sich mit dem Immunkörper verbinden und nach allgemeiner Ansicht als Antigene fungieren. Die beiden Fragen sollen im folgenden der Reihe nach erörtert werden.

1. Forssman gibt an, daß das Komplement von den Stromata allein ebenso absorbiert wird, wie unter dem Einfluß der Immunkörper. Er sagt zwar nicht ausdrücklich, daß unter beiden Umständen (d. h. mit und ohne Zusatz des Immunkörpers) die gleiche Komplementmenge gebunden wird; jedoch muß das seine Meinung sein, da sonst die Angabe keine Bedeutung hätte. In einer Arbeit,³⁾ die vor einigen Jahren pu-

¹⁾ Forssman, diese Zeitschr. 15, 19.

²⁾ Muir und Ferguson, Journ. Path. and Bact. 11, 84.

³⁾ Muir, The Lancet 1908, 2, 446.

bliziert wurde, konnte ich bereits selbst zeigen, daß die gewaschenen Stromata von Ochsenblutkörperchen an und für sich Komplement absorbieren, wenn auch eine verhältnismäßig große Menge der getrennten Stromata erforderlich war, um eine bedeutende Komplementabsorption zu erreichen. Die Frage betrifft demnach lediglich die Menge des fixierten Komplements. Um einen analogen Fall anzuführen, sei an das Verhalten der Bakterien erinnert: Bakteriensuspensionen absorbieren Komplement an und für sich; nach Zugabe des homologen Immunkörpers wird aber die Menge des gebundenen Komplements ganz beträchtlich erhöht. Man besitzt also in der Komplementbindungsmethode ein zuverlässiges Verfahren zur Entdeckung von Bakterienreceptoren.

In der Arbeit von Muir und Ferguson ist bei jedem Versuch die Menge des gebundenen Komplements genau angegeben, wie auch die hämolytische Dosis des Komplements und die angewandte Menge des Immunkörpers in hämolytischen Einheiten. In jedem Falle entsprach die verwendete Stromatamenge 1 ccm einer 5%igen Ochsenblutkörperchen-Suspension, so daß die absorbierende Fähigkeit der Stromata und der intakten Blutkörperchen verglichen werden konnte. (Besondere Versuche der Verfasser zeigten, daß das gelöste Hämoglobin eine Absorption des Komplements auch bei Vorhandensein von Immunkörper nicht bewirkte.) Aus diesen Beobachtungen ergab sich, daß bei Zusatz von gleichen Immunkörpermengen (a) zu einer Blutkörperchensuspension (b) zu derselben Menge von Stromata in Hämoglobinlösung (nach der durch Wasser oder Ather bedingten Hämolyse) genau dieselben Mengen von Komplement absorbiert werden. Die gebundene Menge kann ein vielfaches Multiplum der zur Hämolyse erforderlichen Komplementdosis betragen. Nimmt Forssman an, daß eine solche Komplementmenge bei Abwesenheit des Immunkörpers von den Blutkörperchen oder ihren Stromata allein gebunden werden kann? Das folgende Versuchsprotokoll zeigt, welche verhältnismäßig kolossale Mengen des Komplements durch Vermittlung des Immunkörpers gebunden werden können.

20 ccm einer 5%igen gewaschenen Ochsenblutkörperchensuspension werden zentrifugiert und die klare Flüssigkeit abpipettiert; dann wird destilliertes Wasser bis zur kompletten Hämolyse zugefügt; darauf wird

das Volumen auf das ursprüngliche — 20 ccm — gebracht unter Zugabe von genügendem NaCl, um die ursprüngliche Konzentration von 0,85% herzustellen. Wir erhalten also eine Suspension der Stromata in Hämoglobinlösung, die der ursprünglichen Blutkörperchensuspension entspricht.

In eine Reihe von Röhren wird je 1 ccm der Stromatasuspension abgemessen, dazu kommen je 12 hämolytische Dosen des Immunkörpers (spezifisches Antiserum für Ochsenblut vom Kaninchen).

Zu den einzelnen Röhren werden steigende Mengen des Komplements (frisches normales Meerschweinchenserum) zugefügt, und zwar 0,05 ccm bis 0,35 ccm. Die Röhren werden dann geschüttelt und $1\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° C im Brutschrank digeriert. Nach dieser Zeit erfolgt Zusatz von je 1 ccm sensibilisierter 5% iger Ochsenblutaufschwemmung und weiteres $1\frac{1}{2}$ stündiges Verweilen bei 37° C.

Als Resultat ergab sich, daß komplette Hämolyse der zugefügten Blutkörperchen erst in dem Röhren, das 0,25 ccm Komplement enthielt, erfolgte. Die hämolytische Dosis des Komplements betrug nur 0,01 ccm. Es waren also mehr als 20 Dosen von 1 ccm der Stromatasuspension unter dem Einfluß des Immunkörpers absorbiert worden. (Dieses Resultat weist gleichzeitig auf einen Umstand hin, auf den ich schon früher aufmerksam gemacht habe, nämlich daß, wenn wir nach der üblichen Methode die minimalen hämolytischen Dosen von Komplement und Immunkörper bestimmen, durch die Vermittlung von n Dosen des Immunkörpers mehr als n Dosen des Komplements absorbiert werden.)

Die Bestimmung der Komplementmenge, die von den Stromata allein fixiert wird, muß wegen ihrer geringen Quantität sehr vorsichtig ausgeführt werden.

Je 1 ccm der Stromatasuspension werden in einer Reihe von Röhren wie oben abgemessen, und wechselnde Mengen des Komplements zugefügt; man steigt von etwas geringeren bis zu etwas größeren Mengen, als die hämolytische Dosis (0,01 ccm im Durchschnitt) beträgt. Als Kontrolle dient eine Reihe mit je 1 ccm 0,85% iger NaCl-Lösung, zu denen die gleichen Komplementmengen kommen. Nach $1\frac{1}{2}$ stündigem Verweilen im Brutschrank setzt man die sensibilisierten Blutkörperchen zu usw.

Es ergibt sich, daß bei 0,01 ccm Komplement in der Kochsalzlösungskontrollreihe die Hämolyse komplett ist, während 0,01 ccm nach Einwirkung auf die Stromata fast komplette Hämolyse ergibt.

Man kann also schließen, daß die Menge des Komplements, die von den Stromata allein gebunden wird, höchstens einen

unbeträchtlichen Bruchteil der hämolytischen Dosis beträgt und schwer zu beurteilen ist.

Das allgemeine Ergebnis, welches aus den oben geschilderten Versuchen gezogen werden kann, beweist, daß die angewandte Stromatamenge keine wahrnehmbare oder höchstens nur eine unbeträchtliche Komplementabsorption bedingt, während nach Zusatz des Immunkörpers eine große Menge von Komplement gebunden wird. Es kann daher die Komplementbindungsmethode als ein zuverlässiges Mittel zum Nachweis der spezifischen Receptoren in den Stromata dienen.

2. Wir haben uns jetzt mit der Widerstandsfähigkeit der Receptoren (Amboceptor fixierende Substanzen) gegenüber Erhitzung zu beschäftigen. Das wesentliche Resultat, zu dem Muir und Ferguson gelangt sind, war, daß nach der Einwirkung einer Temperatur von über 65° C ein gewisser Teil der Receptoren zugrunde geht und daß der Grad der Zerstörung von der Dauer der Erhitzung sowohl wie von der Temperatur abhängig ist. Immerhin blieb noch nach Einwirkung einer Temperatur von 100° C für einige Minuten ein Teil der Receptoren unzerstört erhalten, deren Existenz durch die von uns verwendete Methode nachgewiesen werden kann. Diese Methode beruht auf der Komplementabsorption. Kontrollserien wurden immer angestellt und der Versuch gestaltete sich derart, daß zu einer Reihe von Röhren aufsteigende Mengen von Komplement zugesetzt wurden. Als Folge dieser Methodik war die Menge des absorbierten Komplements quantitativ nachzuweisen, man konnte also genau sagen, wieviel Komplement fixiert worden war. Nur auf solche Weise ist es möglich, ein zuverlässiges Urteil zu gewinnen; da z. B. ein Teil der Receptoren durch Erhitzen zerstört wird, ist es ganz leicht möglich, eine so gewählte Komplementmenge hinzuzusetzen, daß sie von den nicht erhitzten Stromata plus Immunkörper vollkommen gebunden wird, während von derselben Komplementmenge nach Digerieren mit den erhitzten Stromata sowohl bei dem Vorhandensein wie bei der Abwesenheit von Immunkörpern mehr als eine lösende Dosis frei bleibt.

Anscheinend hat Forssmann unsere Versuche nicht wiederholt, denn er geht auf die Einzelheiten gar nicht ein. Auf Grund von Versuchen, die nach andern Methoden ausgeführt

sind, kommt er zum Schluß, daß die erhitzten Stromata allein an und für sich ebensoviel Komplement als durch Vermittlung des Immunkörpers binden. Er befindet sich auch im Irrtum, wenn er behauptet, daß wir die durch Zentrifugieren getrennten Stromata benutzten. In unseren Versuchen wurden vielmehr Stromata erhitzt, die von der durch Hämolyse bedingten Hämoglobulinlösung nicht getrennt worden waren. Dieses Verfahren haben wir gewählt, um die Menge der benutzten Stromata genau dosieren zu können, und zwar entsprach in jedem Röhrchen die Stromatamenge 1 ccm der 5%igen Ochsenblutkörperchenaufschwemmung. Es ist unmöglich, durch Zentrifugieren nach den üblichen Methoden die Stromata aus einer Suspension der gelösten Blutkörperchen vollkommen zu entfernen.

Unsere früheren Versuche habe ich wiederholt und ergänzt nach derselben Methode. Die Resultate ergeben eine vollkommene Bestätigung unserer früheren Angaben.

Eine bestimmte Menge einer 5%igen Ochsenblutkörperchenaufschwemmung in 0,85%iger NaCl-Lösung wurde zentrifugiert und die Flüssigkeit abpipettiert; das Sediment wurde mit destilliertem Wasser gelöst und das Originalvolumen unter Zugabe von NaCl bis zur 0,85%igen Konzentration wiederhergestellt. Das Gemisch von Stromata und Hämoglobulinlösung wurde 40 Minuten lang auf 100° C erhitzt. (Daß die Hämoglobulinlösung keine hämolytischen Receptoren enthält, wurde in unserer früheren Arbeit vollkommen bewiesen.) Wir besitzen also jetzt eine Suspension der gelösten und erhitzten Blutkörperchen, die der originalen 5%igen Aufschwemmung entspricht. Durch die Erhitzung entstehen braun gefärbte Flocken, und wir haben früher darauf hingewiesen, daß die nachweisbare Receptorenmenge höchst wahrscheinlich kleiner ist als die wirklich vorhandene, weil sowohl der Immunkörper, als auch das Komplement die Flocken nur schwierig durchdringen können, um die Receptoren zu sättigen. Diese Ansicht ist jetzt vollkommen bestätigt worden; wenn man nämlich die Flüssigkeit wiederholt zentrifugiert und das Sediment gut zerreibt, so erhält man eine fein verteilte Suspension, die eine größere Menge des Immunkörpers bindet.

Die Suspension wird gut geschüttelt und je 1 ccm in jedes einer Reihe von Röhrchen abgemessen. Die Immunkörper- und Komplementbindungsfähigkeit wurde in gewöhnlicher Weise bestimmt. Als Immunkörper diente das durch Hitze inaktivierte Serum eines Kaninchens, das wiederholt mit gewaschenen Ochsenblutkörperchen intraperitoneal vorbehandelt war. Als Komplement benutzte ich normales Meerschweinserserum, das von dem normalen Zwischenkörper für Ochsenblut durch 1stündiges Digerieren mit Ochsenblutsediment bei 0° C befreit war.

Um ein Urteil über die Komplementmenge, welche gebunden werden kann, zu erhalten, geht man in folgender Weise vor:

Man fügt wechselnde Dosen des Komplements zu den Röhren, die je 1 ccm der erhitzten Suspension enthalten; zwei solche Serien werden angestellt, die eine mit und die andere ohne Immunkörper. Nach 1½ stündigem Aufenthalt bei 37° C werden die Röhren zentrifugiert und die klaren Flüssigkeiten in andere Röhren abpipettiert, welche je 1 ccm sensibilisierte Blutkörperchen enthalten. Die Gemische werden für 1½ Stunden wieder in den Brutschrank bei 37° C gesetzt. Am Ende dieser Zeit kann man aus dem Grade der Hämolyse in einfacher Weise die Menge des Komplements berechnen, die in dem ersten Stadium des Versuches gebunden wurde. Mehrere derartige Versuche ergaben immer das gleiche Resultat; das Vorhandensein des Immunkörpers erhöht ganz beträchtlich die Menge des gebundenen Komplements, wofür einige Beispiele angeführt seien.

Beispiel I.

Reihe A. Jedes Röhren enthält 1 ccm der gelösten und erhitzten Blutkörperchenaufschwemmung.

Reihe B. Jedes Röhren enthält 1 ccm der gelösten und erhitzten Blutkörperchenaufschwemmung, zusammen mit je 12 hämolytischen Dosen des Immunkörpers.

Hämolyse der sensibilisierten Blutkörperchen, die zu den klaren, von der Suspension abzentrifugierten Flüssigkeiten hinzugefügt wurden, nachdem diese 1½ Stunden bei 37° C verweilt hatten.	Komplementmengen in den einzelnen Röhren		
	0,01 ccm	0,02 ccm	0,03 ccm
Reihe A	gerade komplett	komplett	komplett
Reihe B	0	mäßig	gerade komplett

Komplement-Dosis = 0,01 ccm.

Resultat: Die gelösten und erhitzten Blutkörperchen allein absorbieren an und für sich nur einen kleinen Bruchteil einer hämolytischen Dosis des Komplements, während durch Vermittlung des Immunkörpers fast 2 Dosen absorbiert werden.

Beispiel II.

Reihe A. Jedes Röhren enthält 1 ccm der gelösten und erhitzten Blutkörperchenaufschwemmung.

Reihe B. Jedes Röhren enthält 1 ccm der gelösten und erhitzten Blutkörperchenaufschwemmung, zusammen mit je 15 hämolytischen Dosen des Immunkörpers.

Hämolyse der sensibilisierten Blutkörperchen, die zu den klaren, von der Suspension abzentrifugierten Flüssigkeiten hinzugefügt wurden, nachdem diese 1 1/2 Stunden bei 37° C verweilt hatten.	Komplementmengen in den einzelnen Röhrchen				
	0,01 ccm	0,02 ccm	0,03 ccm	0,05 ccm	0,075 ccm
Reihe A	sehr deutl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
Reihe B	0	Spürchen	Spur	mäßig	kompl.

Komplement-Dosis = 0,01 ccm.

Resultat: Die erhitzten und gelösten Stromata allein absorbieren an und für sich nur einen Bruchteil einer hämolytischen Dosis des Komplements, während durch Vermittlung des Immunkörpers 0,065 ccm des Komplementes gebunden werden, d. h. es mußten in letzterem Falle mehr als 6 Komplementdosen zugefügt werden, bevor eine Dosis frei blieb. In diesem Falle war die Suspension sehr fein verteilt; deswegen war die Menge des gebundenen Komplementes verhältnismäßig groß.

Als Kontrollen wurden Versuche mit heterologen Blutkörperchen angestellt, z. B. mit erhitzten Meerschweinchenblutkörperchen unter Verwendung des Immunkörpers für Ochsenblut. Es ergab sich, daß gerade so viel Komplement von den Blutkörperchen allein absorbiert wurde als bei Vorhandensein des Immunkörpers.

Ich habe auch eine Reihe von Versuchen ausgeführt, um die Absorption des Immunkörpers durch erhitzte Blutkörperchen nach der direkten Methode zu bestimmen, und bin auch auf diese Weise zu dem Resultat gelangt, daß Receptoren vorhanden sind. Zu den erhitzten Ochsenblutkörperchen wurde eine bestimmte Menge des Immunkörpers zugefügt, nach genügend langer Zeit für die Bindung wurde die Flüssigkeit getrennt und die Menge der darin zurückbleibenden Immunkörper titriert. Vergleicht man die Menge der Flüssigkeit, die zur Hämolyse notwendig ist, mit der ursprünglichen Dosis, so erkennt man, ob eine Absorption stattgefunden hat oder nicht. Falls eine Verankerung des Immunkörpers eingetreten ist, kann man die gebundene Menge quantitativ berechnen. Als Kontrolle werden heterologe Blutkörperchen (vorher gelöst und erhitzt) z. B. des Meerschweinchens mit dem Immunkörper behandelt und die in der Flüssigkeit zurückbleibende Menge dann bestimmt.

Beispiel I.

20 ccm einer 5%igen Ochsenblutaufschwemmung wurden zentrifugiert, das getrennte Sediment mit Wasser gelöst und bis auf 20 ccm unter Zugabe von NaCl bis zur 0,85%igen Konzentration aufgefüllt. Das Gemisch wurde 40 Minuten lang bei 100° C erhitzt und danach zentrifugiert. Das Sediment wird dann zur Behandlung des Immunkörpers benutzt. Kochsalzlösung, die 20 hämolytische Dosen des Immunkörpers enthält, wurde zum Sediment zugefügt; das Gemisch wurde gut geschüttelt und 2 Stunden im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Flüssigkeit durch Zentrifugieren getrennt und die Menge des darin zurückbleibenden Immunkörpers bestimmt.

Resultat: Dosis des Immunkörpers

vor der Behandlung = 0,001 ccm,

nach „ „ = 0,002 + ccm.

Mehr als die Hälfte des Immunkörpers ist also absorbiert worden.

Ein gleichzeitig angestellter Kontrollversuch mit erhitzten Meerschweinchenblutkörperchen ergab fast gar keine wahrnehmbare Absorption des Immunkörpers; die Dosis vor und nach der Behandlung war fast dieselbe.

In anderen Fällen übten die erhitzten Meerschweinchenblutkörperchen eine ganz deutliche absorptive Wirkung auf den Immunkörper aus, jedoch war die Absorption immer viel geringer als nach der Behandlung mit den Ochsenblutkörperchen.

Beispiel II.

Zu 10 ccm der Suspension von gelösten und erhitzten (40 Minuten bei 100° C) Ochsenblutkörperchen wurden 100 Dosen des Immunkörpers zugefügt. Der weitere Vorgang war wie oben beschrieben.

Resultat: Dosis des Immunkörpers

vor der Behandlung = 0,001 ccm,

nach „ „ = 0,0035 ccm.

Das ist die größte Absorption, die wir bei unseren Versuchen gefunden haben. Es ist zu bemerken, daß in diesem Falle die Suspension durch sorgfältiges Zerreiben sehr fein verteilt war.

Ein Versuch über die Komplementbindung, der zur selben Zeit ausgeführt wurde, zeigte ebenfalls, daß eine außerordentlich große Komplementmenge durch das Zusammenwirken des Immunkörpers gebunden wurde.

Ich habe schon erwähnt, daß die gelösten und erhitzten Blutkörperchen des Meerschweinchens eine gewisse Menge des Immunkörpers für Ochsenblutkörperchen binden. Wahrscheinlich

ist dies ein Beispiel der nicht spezifischen Adsorption, weil der so gebundene Immunkörper auch keine Verankerung des Komplements bewirkt.

Als allgemeines Resultat ergibt sich demnach, daß sowohl durch die direkte Methode (Bindung des Immunkörpers) als auch durch die indirekte Methode (Fixierung des Komplements durch Vermittlung des Immunkörpers) das Vorhandensein der spezifischen Receptoren in den Stromata der gelösten Blutkörperchen nach 40 Minuten langem Erhitzen auf 100° C leicht und einfach nachzuweisen ist.

In der Komplementbindungsmethode mit den nötigen Kontrollen besitzen wir eine zuverlässige und sogar die beste Methode zum Nachweis der spezifischen Receptoren.

Über die Unabhängigkeit der autolytischen Eiweißspaltung von der Anwesenheit des Blutes.

Von

Ernst Bloch.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses Moabit.)

(Eingegangen am 14. August 1909.)

Für die biologische Beurteilung der Autolyse ist es von großer Wichtigkeit zu wissen, ob wir es mit selbständigen, intracellulären Organfermenten zu tun haben, unter deren Einwirkung im Leben die Eiweißspaltung stattfindet, oder ob die in den Geweben vorgefundenen Enzyme einfach Blutfermente sind. Cohnheim (1) hat vor kurzem diese Bedenken gegen die selbständige Auffassung der Autolyse erhoben und sich dabei vor allem auf Untersuchungen von Abderhalden u. Deetjen (2) gestützt, nach denen man annehmen könnte, daß die eiweißspaltenden Fermente in den verschiedenen Geweben einfach aus den roten und weißen Blutzellen oder auch aus den Blutplättchen stammen. Gegenüber diesem Einwande hat Jacoby (3) bereits darauf hingewiesen, daß sich auch im Ei, und zwar in einem Stadium, in welchem noch kein Blut vorhanden ist, proteolytische Fermente finden; ferner daß das Blutserum die Autolyse hemmt, und daß endlich die Aldehydase sich in guter Wirksamkeit in der Leber findet, wenn man aus letzterer durch energisches Vorgehen wirklich jeden Blutrest entfernt. Doch hat es bis jetzt an ganz entsprechenden Versuchen gefehlt, um den von Cohnheim erhobenen schwerwiegenden Einwand zu entkräften. Denn die Versuche Pretis (4) sind nach dieser Richtung und für diesen Zweck nicht ausreichend. Er hat die

Autolyse bluthaltiger und blutfreier Lebern verglichen, und zwar bei zwei verschiedenen Tieren. Er fand dabei in der vorher durch Ausspülen vom Blut befreiten Leber mehr unkoagulierten Stickstoff als in der bluthaltigen.

Unsere Versuche gingen dahin, durch Ausspülen die Leber von allen Blutresten zu befreien und es auf diese Weise zu vermeiden, daß sich Enzyme im Blute dem zu untersuchenden Gewebe beimengen. Die vollständige Entblutung eines Organs gehört nun zu den schwierigen Aufgaben. Nach mancherlei Versuchen hat sich uns folgende Methode bewährt: Kombinierte Morphium-Äthernarkose; Eröffnung der Carotis und gleich darauf des Brustkorbs; Freilegung der absteigenden Aorta und Einbinden einer Glaskanüle in dieselbe oberhalb des Zwerchfells. Dann Eröffnung der Bauchhöhle und der Vena cava inferior. Durchspülung von der Aorta aus unter mäßigem Druck mit physiologischer Kochsalzlösung, deren Temperatur man zweckdienlich einige Grad über Bluttemperatur wählt derart, daß die aus der Vene auslaufende Flüssigkeit ungefähr Bluttemperatur besitzt. Während des ganzen Versuches wird jede Berührung oder Zerrung der Leber vermieden. Dieselbe ist bei gut gelungenem Versuch gelblichbräunlich und von ziemlich fester Konsistenz und zeigt keinerlei Flecken von retiniertem Blut. Die Durchspülung wird mindestens so lange fortgesetzt, bis die Ablaufflüssigkeit weder mit Guajactinktur-Terpentinöl noch mit Wasserstoffsperoxyd auch nur eine Spur von Reaktion ergibt. Zweckmäßig setzt man nach diesem Zeitpunkt die Durchspülung noch einige Zeit fort.

Versuch A.

Kleiner Hund. Dauer des Versuches $3\frac{1}{2}$ Stunden. Verbrauchte Flüssigkeit 17 l. Entnahme der Leber, Entfernung der Gallenwege und des sichtbaren groben Bindegewebes. Leber fein zerrieben.

Versuch a. 30 g Leber mit 100 ccm destilliertem Wasser aufgenommen, langsam zum Sieden erhitzt. Zusatz von 3 Tropfen Essigsäure; Neutralisation mit schwacher Sodalösung; filtriert; Rückstand quantitativ auf Filter gebracht, mit heißem Wasser ausgewaschen. Das leicht getrübbte Filtrat wird auf 300 ccm

aufgefüllt. Stickstoffbestimmung mit zweimal je 50 ccm des Filtrats.

Versuch 1. 0,18 % N und 0,18 % N.

Versuch 2. 0,18 % N und 0,19 % N.

Versuch b. 2mal 30 g Leber mit je 100 g destilliertem Wasser und 10 g Toluol versetzt und unter öfterem Umschütteln 4 Tage im Brutschrank belassen. Dann Weiterbehandlung wie in Versuch a.

Versuch 1. 0,71 % N und 0,72 % N.

Versuch 2. 0,96 % N und 0,94 % N.

Versuch B.

Kleiner Hund. Dauer des Versuchs 3 $\frac{1}{2}$ Stunden. Verbrauchte Flüssigkeit 20 l. Weiterverarbeitung der Leber wie bei Versuch A.

Versuch a. 1. 0,18 % N und 0,19 % N.

2. 0,18 % N und 0,17 % N.

Versuch b. 1. 0,82 % N und 0,83 % N } 4 Tage im Brut-
2. 0,86 % N und 0,84 % N } schrank.

Versuch C.

Größerer Hund. Dauer des Versuchs 4 $\frac{1}{2}$ Stunden. Verbrauchte Flüssigkeit fast 30 l. Weiterverarbeitung wie oben. Nur werden vor dem Erhitzen 3 Tropfen Essigsäure zugesetzt und nach dem Aufkochen ein kleiner Löffel reines Kochsalz.

Versuch a. 1. 0,31 % N und 0,28 % N.

2. 0,24 % N und 0,24 % N.

Versuch b. 1. 1,21 % N und 1,34 % N } 3 Tage im Brut-
2. 1,18 % N und 1,15 % N } schrank.

Das Ergebnis der Versuche ist ein sehr klares: die Differenz im Stickstoffgehalt vor und nach der Autolyse deutlich hervortretend. Wir können aus diesem Ergebnis schließen, daß die Enzyme nicht allein im Blute vorhanden sind und von hier aus zu den Geweben treten, sondern daß in der Tat intracelluläre, autochthone Organfermente während des Lebens tätig sind und speziell der Spaltung des Eiweißes in der Zelle vorstehen.

Literatur.

1. O. Cohnheim, Die Physiologie der Verdauung und Ernährung. Berlin und Wien 1908.

2. E. Abderhalden u. H. Deetjens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51 u. 53.

3. M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30 u. 33. — Derselbe, Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 3. — Derselbe, Handb. d. Biochemie 2, 2. Heft.

4. L. Preti, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52.

Studien in der Chlorophyllgruppe. IV.

Von

L. Marchlewski.

Über Zinkchlorophylle und Zinkprophyllotaonine.

Von

Henryk Malarski und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau.)

(Eingegangen am 17. August 1909.)

In einer vorläufigen Mitteilung¹⁾ hat der eine von uns darauf hingewiesen, daß es möglich ist, Chlorophyllan, ein Umwandlungsprodukt der Chlorophylle unter dem Einflusse von Säuren, in eine Zinkverbindung überzuführen, welche sich Alkalien gegenüber genau so verhält wie die ursprünglichen Chlorophylle selbst, d. h. ein Gemisch von Verbindungen liefert, welches die Charaktere des Alkachlorophylls besitzt.

Im nachstehenden geben wir eine genauere Beschreibung der entstehenden Substanzen.

I. Darstellung des Zinkchlorophylls aus Brennesselchlorophyllan.

Das nötige Chlorophyllan wurde entweder durch Einwirkung von verd. Salzsäure oder von Oxalsäure auf alkoholische Rohextrakte getrockneter Brennesseln dargestellt.²⁾ Die Reinigung desselben geschah nach dem Verfahren, welches Schunck zur Reinigung des Phylloxanthins verwandte, d. h. das Rohprodukt wurde in Chloroform gelöst, die Lösung filtriert, bis zur Sirupkonsistenz eingedampft und mit Alkohol versetzt. Diese Pro-

¹⁾ Diese Zeitschr. 16, 3, 1909.

²⁾ Die Lösungen zeigten die regelrechte Kraussche Reaktion.

zedur wurde dreimal wiederholt. Das gereinigte Chlorophyllan wurde nun in Alkohol suspendiert (auf 5 g 2 l Alkohol), frisch dargestelltes und gut gewaschenes Zinkhydrat zugesetzt und während des Erwärmens Kohlensäure eingeleitet. Die Kohlensäurebehandlung wird abwechselnd in der Wärme und in der Kälte ausgeführt. Nach ca. 3 tägiger Einwirkung des Zinkhydrates und der Kohlensäure wird filtriert. Die ursprüngliche olivbraune Farbe der Lösung hat inzwischen einer brillanten blaugrünen Platz gemacht. Falls das ganze Chlorophyllan in Reaktion getreten ist, beobachtet man beim Erkalten des Filtrats keine Abscheidungen von braunen, dem Glas anhaftenden Häuten. Sollte ein Teil nicht in Reaktion getreten sein, dann beobachtet man im Gegenteil, besonders auf den Wänden des Trichters, dünne braune Häutchen, welche in Äther leicht mit rotbrauner Farbe löslich sind. Sollte letzteres bemerkt werden, so ist dies ein Zeichen, daß ein Teil des Chlorophyllans der Reaktion sich entzogen hat, und daß mit der Zink- und Kohlensäurebehandlung dann fortgefahren werden muß. Im Falle des Brennesselchlorophyllans ist in der Regel der in Reaktion schwierig tretende Anteil nur gering. Anders beim Ahornchlorophyllan. In diesem Falle hatte es sich gezeigt, daß vermittels der beschriebenen Reaktion das Chlorophyllan in zwei Teile zergliedert werden kann; der eine reagiert mit $Zn(OH)_2$ viel energischer als der zweite, und letzterer kann daher auf Grund dieses Verhaltens abgeschieden werden, wie weiter unten gezeigt werden soll.

Zur Isolierung der gebildeten Zinkverbindung verfährt man wie folgt. Das Filtrat von überschüssigem Zinkhydrat wird durch Destillation stark eingeengt, so weit, daß etwa 300 ccm Flüssigkeit resultieren. Beim Erkalten derselben scheidet sich ein großer Teil der Zinkverbindung ab. Ohne die Abscheidung zu beachten, wird mit dem 2fachen Volum Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Das „Zinkchlorophyll“ geht mit schöner blaugrüner Farbe mit Leichtigkeit in den Äther über. Die ätherische Schicht wird zweimal mit dem gleichen Volum Wasser gewaschen und dann über entwässertem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Filtrieren wird der Äther abdestilliert. Krystallinisch konnte das Produkt ebensowenig erhalten werden wie echtes, unverändertes Chlorophyll.

Eigenschaften des Zinkchlorophylls aus Brennesselchlorophyllan.

Äthyl- und Methylalkohol lösen Zinkchlorophyll verhältnismäßig schwer. Den Lösungen entzieht Petroleumäther den größten Teil des Farbstoffs; im Alkohol verbleibt nur ein kleiner Teil. Diesbezüglich verhält sich also das künstliche Produkt den echten Chlorophyllen viel ähnlicher als das krystallisierbare Chlorophyll von Borodin und Monteverde.

In Äther löst sich Zinkchlorophyll äußerst leicht, etwas schwieriger, aber auch leicht in Benzol und Amylalkohol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

Die Farbe der Lösungen ist prächtig blaugrün. Die Fluoreszenz ist sehr stark blutrot. Das Spektrum ist dem eines rohen Chlorophyllextraktes ähnlich. Zur Beobachtung gelangte eine ätherische Lösung, welche in 500 cem 0,1 g Zinkchlorophyll enthielt.

	1 mm	5 mm	10 mm	15 mm
Band I	663,5—649,5	668—630,3	672,3—628,0	675,0—618,0
„ II	—	—	614,0—597,8	615,0—594,0
„ III	—	—	570,0—555,8	571,5—554,0
„ IV	—	—	531,5—513,3	531,5—512,5
			20 mm	
Band I	} 678,0—590,5			
„ II				
„ III				
„ IV				

Für die verschiedenen Lösungen wurden außerdem, soweit dies möglich war, die Absorptionsverhältnisse mittelst des König-Martenschen Apparates bestimmt.

Für die 1 mm dicke Schicht:

- a) gelbes Hg-Licht: $\alpha_1 = 83,30^\circ$; $\alpha_2 = 67,65^\circ$; $\alpha_1 - \alpha_2 = 15,65^\circ$
- b) grünes „ $\alpha_1 = 80,80^\circ$; $\alpha_2 = 69,45^\circ$; $\alpha_1 - \alpha_2 = 11,35^\circ$
- c) blaues „ $\alpha_1 = 80,55^\circ$; $\alpha_2 = 70,95^\circ$; $\alpha_1 - \alpha_2 = 9,60^\circ$

Für die 20 mm dicke Schicht:

- a) gelbes Hg-Licht: $\alpha_1 = 165,25^\circ$; $\alpha_2 = 8,90^\circ$; $\alpha_1 - \alpha_2 = 156,35^\circ$
- b) grünes „ $\alpha_1 = 152,90^\circ$; $\alpha_2 = 16,15^\circ$; $\alpha_1 - \alpha_2 = 136,75^\circ$

Die Absorptionen im Violett und Ultraviolett wurden nach den Methoden bestimmt, die der eine von uns in der Monographie „Die Chemie der Chlorophylle und ihre Beziehung zur Blutfarbstoffchemie“ beschrieben hat.¹⁾ Angewandt wurde ebenfalls eine Lösung, welche im Liter 0,2 g enthielt. Photographiert wurden die Schichtendicken 5, 7,5, 10, 12,5, 15 mm. Es wurde auf diese Weise konstatiert, daß das Zinkchlorophyll im brechbareren Teile des Spektrums drei Absorptionsbänder verursacht:

¹⁾ Braunschweig 1909, Verlag von Vieweg & Sohn.

Schichtendicke	Band III	Band II	Band I
5 mm	403,5—411,0 $\mu\mu$	419,0—429,0 $\mu\mu$	—
7,5 „	397,5—413,0 „	417,0—431,5 „	—
10,0 „	394,0 „	434,0 „	Spuren
12,5 „	392,0 „	436,5 „	—
15,0 „	—	438,5 „	444,0—456,0 $\mu\mu$

Chemische Eigenschaften des Zinkchlorophylls aus Brennesseln.

In konz. Salpetersäure löst sich das Zinkchlorophyll mit brauner Farbe. Nach dem Erwärmen der Lösung hinterbleibt eine hellgelb gefärbte Flüssigkeit, auf deren Oberfläche Tropfen einer öligen Flüssigkeit zu bemerken sind.

Die ätherische Lösung des Farbstoffs gibt an 10%ige Salzsäure keinen Farbstoff ab. Auch 20%ige Salzsäure wird nur spurenweise angefärbt, aber die Farbe der ätherischen Lösung wird allmählich olivbraun. Im Spektroskop erscheint dann das bekannte fünfbandige Chlorophyllanspektrum.

Kohlensäure wird hierbei nicht abgeschieden.

Unter dem Einfluß von wässriger 10%iger Natronlauge wird die ätherische Lösung wenig verändert; abgeschieden werden hierbei einzelne grüne Flocken, aber die wässrige Lösung wird nur spurenweise angefärbt.

Wird die alkoholische Lösung des Farbstoffs in Wasser gegossen, so erhält man eine opaleszierende Flüssigkeit, aus welcher Äther erst nach starkem Schütteln, sofort nach Natriumchloridzusatz, den Farbstoff aufnimmt.

Weit energischer als wässrige Natronlauge wirkt auf den Farbstoff alkoholische. Es bilden sich hierbei die sog. Zink-pro-Phyllotaonine, die weiter unten beschrieben werden.

Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Brennessel-Chlorophyllan.

Zur Analyse wurden die Präparate bis zur Gewichtskonstanz über konz. Schwefelsäure im Vakuum getrocknet.

Die Zinkbestimmung geschah auf übliche Art, indem die Substanz in einem Kölbchen durch rauchende Salpetersäure verbrannt und das gebildete Zinknitrat durch Glühen in Zinkoxyd umgewandelt wurde.

Bestimmung des Zn.

Angewandt 0,1863 g, erhalten 0,0135 g ZnO
entsprechend 7,24% ZnO oder 5,82% Zn.

Bestimmung des N.

- a) Angewandt 0,1382 g, $v = 6,6$ ccm, $t = 15^{\circ}$, $b = 731$ mm.
 $N = 5,35$ %.
- b) Angewandt 0,1542 g, $v = 7,5$ ccm, $t = 14^{\circ}$, $b = 742$ mm.
 $N = 5,56$ %.

Bestimmung des C und H.

Angewandt 0,1537 g, gef. 0,3970 g CO_2 , 0,1128 g H_2O , C = 70,45%,
H = 8,21%.

Die Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Brennesselchlorophyllan entspricht demnach:

C: 70,45%
H: 8,21%
N: 5,45%
Zn: 5,82%
O: 10,07%
100,00

II. Darstellung des Zinkchlorophylls aus Ahornblätterchlorophyllan.

Zur Darstellung des Chlorophyllans aus Ahornblättern dienten Blätter, welche von jungen Ahornpflanzen stammten und welche als Unterwuchs verhältnismäßig wenig Licht zur Verfügung hatten. Dieses Chlorophyllan ist dadurch ausgezeichnet, daß es bei Behandlung mit konz. Salzsäure verhältnismäßig viel Phylloxanthin liefert und aus zwei Teilen besteht, von denen der eine nur schwierig mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ bei Anwesenheit von Kohlensäure reagiert.

Bei der Darstellung des Zinkchlorophylls wurde zunächst in ganz derselben Art verfahren, wie unter I beschrieben wurde, d. h. mit der Behandlung mit Zinkhydrat und Kohlensäure wurde solange fortgeföhren, bis sämtliches Chlorophyllan, auch der schwierig reagierende Anteil, verschwand, eine rein blau-grüne Lösung entstand und beim Abkühlen der filtrierten Lösung keine Abscheidung von in Alkohol schwerlöslichen, braunroten Häuten bemerkt wurde. Die alkoholische Lösung wurde dann konzentriert, mit Wasser und etwas Kochsalz versetzt und sodann mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung gab dann nach dem Trocknen mit Natriumsulfat und Abdampfen eine spröde, dunkel grünblaue Masse, welche sich nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure pulverisieren ließ.

Phys. Eigenschaften des Zinkchlorophyllans aus Ahornblätterchlorophyllan.

Im allgemeinen erinnert dies Produkt ganz an das unter I beschriebene. Die Löslichkeitsverhältnisse sind ganz analog.

Auch in spektraler Hinsicht verhalten sich beide untersuchten Zinkchlorophylle ziemlich übereinstimmend, nur sind die Absorptionsbänder des Zinkchlorophylls aus Ahornchlorophyllan weniger scharf begrenzt, das Spektrum erscheint daher mehr verwaschen.

Untersucht wurde eine ätherische Lösung, welche in 1000 ccm 0,2 g des vakuumtrocknen Präparates enthielt.

Schichten- dicke	1 mm	5 mm	10 mm	15 mm
Band I	662,3—649,5	665,0—630,3	672,3—624,3	} 674,5—590,0
„ II	Spur	Spur	610,8—594,0	
„ III	„	„	573,0—555,0	
„ IV	„	„	534,0—516,8	

Im Spektrum der 10 mm-Schicht erscheinen die Bänder I und II bereits durch eine sehr verdunkelte Zone miteinander verbunden. Die quantitativen Absorptionsverhältnisse dieser Lösung ergeben sich aus folgenden Werten.

Für die 1 mm-Schicht:

- a) gelbes Hg-Licht: $\alpha_1 = 84,72^\circ$; $\alpha_2 = 66,77^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 17,95^\circ$
 b) grünes „ $\alpha_1 = 82,17^\circ$; $\alpha_2 = 69,30^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 12,87^\circ$
 c) blaues „ $\alpha_1 = 83,13^\circ$; $\alpha_2 = 71,37^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 11,76^\circ$

Im Violett und Ultraviolett gestalten sich die Verhältnisse etwas anders als im Zinkchlorophyll aus Brennesselblättern. Von den dort beobachteten Bändern ist das am wenigsten gebrochene das schwächste und tritt infolgedessen erst in dickeren Schichten auf, während die Spektrogramme des Zinkchlorophylls aus Ahornblättern bereits in der 5 mm-Schicht an dieser Stelle ein starkes Band zeigen. Dafür erscheint das dritte, am stärksten gebrochene Band in dieser Schicht nur als ein Schatten, dessen Lage sich nicht genauer messen ließ:

Schichtendicke	Band III	Band II	Band I
5 mm	Spuren	422—430 $\mu\mu$	445—447,0 $\mu\mu$
7,5 „	400—409,5 $\mu\mu$	419—434 „	445—449,5 „
10,5 „	397	437 „	444—453,0 „
12,5 „	396		456,0 „
15,0 „	393		458,0 „

Chemische Eigenschaften des Zinkchlorophylls aus Ahornblätterchlorophyllan.

Dieselben sind denen des Produktes I (siehe oben) ganz analog. Ein wichtiger Unterschied ließ sich nur bei der Untersuchung der durch Einwirkung von alkoholischem Kaliumhydrat entstehenden Zink-pro-Phyllotanine bemerken, auf welchen weiter unten hingewiesen werden wird.

Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Ahornblätterchlorophyllan.

Zur Analyse wurde das gepulverte Produkt bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

Zinkbestimmung.

0,2375 g gaben 0,0186 g ZnO entsprechend 7,83% ZnO = 6,29% Zn.

N-Bestimmung.

a) 0,0963 g gaben $v = 5,0$, $t = 13,5^\circ$, $b = 727$ mm
entsprechend 5,82% N

b) 0,1695 g gaben $v = 8,8$, $t = 18,5^\circ$, $b = 728$ mm
entsprechend 5,75% N.

C- und H-Bestimmung.

1 0,0975 gaben 0,2531 g CO₂ und 0,0703, entsprechend C: 70,80%,
H: 8,07%;

2. 0,1164 gaben 0,3039 g CO₂ und 0,0829, entsprechend C: 71,21%,
H: 8,00%;

3. 0,0986 gaben 0,2552 g CO₂ und 0,0732, entsprechend C: 70,59%,
H: 8,26%;

4. 0,1489 gaben 0,3852 g CO₂ und 0,1080, entsprechend C: 70,56%,
H: 8,10%;

im Mittel C: 70,79%, H: 8,10%.

Die Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Ahornblätterchlorophyllan entspricht demnach:

C: 70,79%

H: 8,10%

N: 5,75%

Zn: 6,29%

O: 9,07%

100,00

Diese Werte unterscheiden sich wenig von den für Produkt I ermittelten.

III. Über Allochlorophyllan aus Ahornblättern.

Wie bereits oben bemerkt wurde, läßt das Verhalten der Chlorophyllane, besonders aber desjenigen aus Ahornblättern, zu Zn(OH)₂ und Kohlensäure darauf schließen, daß diese Produkte nicht einheitlich sind. Der von Willstätter hervor gehobene Umstand, daß die Zusammensetzung des Chlorophyllans keine Veränderung erfährt, wenn man es aus seiner Chloroformlösung mit Alkohol fällt, besitzt daher für die angenommene Einheitlichkeit dieses Produktes keine Beweiskraft. Das Chlorophyllan ist offenbar ein Gemisch von mindestens zwei Stoffen, welche in ihrer Zusammensetzung und ihren Lösungsverhältnissen wenig voneinander abweichen, welche aber, wie

Auch in spektraler Hinsicht verhalten sich beide untersuchten Zinkchlorophylle ziemlich übereinstimmend, nur sind die Absorptionsbänder des Zinkchlorophylls aus Ahornchlorophyllan weniger scharf begrenzt, das Spektrum erscheint daher mehr verwaschen.

Untersucht wurde eine ätherische Lösung, welche in 1000 ccm 0,2 g des vakuumtrocknen Präparates enthielt.

Schichten- dicke	1 mm	5 mm	10 mm	15 mm
Band I	662,3—649,5	665,0—630,3	672,3—624,3	} 674,5—590,0
„ II	Spur	Spur	610,8—594,0	
„ III	„	„	573,0—555,0	576,5—553,5
„ IV	„	„	534,0—516,8	536,8—516,3

Im Spektrum der 10 mm-Schicht erscheinen die Bänder I und II bereits durch eine sehr verdunkelte Zone miteinander verbunden. Die quantitativen Absorptionsverhältnisse dieser Lösung ergeben sich aus folgenden Werten.

Für die 1 mm-Schicht:

- a) gelbes Hg-Licht: $\alpha_1 = 84,72^\circ$; $\alpha_2 = 66,77^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 17,95^\circ$
 b) grünes „ $\alpha_1 = 82,17^\circ$; $\alpha_2 = 69,30^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 12,87^\circ$
 c) blaues „ $\alpha_1 = 83,13^\circ$; $\alpha_2 = 71,37^\circ$. $\alpha_1 - \alpha_2 = 11,76^\circ$

Im Violett und Ultraviolett gestalten sich die Verhältnisse etwas anders als im Zinkchlorophyll aus Brennesselblättern. Von den dort beobachteten Bändern ist das am wenigsten gebrochene das schwächste und tritt infolgedessen erst in dickeren Schichten auf, während die Spektrogramme des Zinkchlorophylls aus Ahornblättern bereits in der 5 mm-Schicht an dieser Stelle ein starkes Band zeigen. Dafür erscheint das dritte, am stärksten gebrochene Band in dieser Schicht nur als ein Schatten, dessen Lage sich nicht genauer messen ließ:

Schichtendicke	Band III	Band II	Band I
5 mm	Spuren	422—430 $\mu\mu$	445—447,0 $\mu\mu$
7,5 „	400—409,5 $\mu\mu$	419—434 „	445—449,5 „
10,5 „	397	437 „	444—453,0 „
12,5 „	396		456,0 „
15,0 „	393		458,0 „

Chemische Eigenschaften des Zinkchlorophylls aus Ahornblätternchlorophyllan.

Dieselben sind denen des Produktes I (siehe oben) ganz analog. Ein wichtiger Unterschied ließ sich nur bei der Untersuchung der durch Einwirkung von alkoholischem Kaliumhydrat entstehenden Zink-phyllotanine bemerken, auf welchen weiter unten hingewiesen werden wird.

Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Ahornblätternchlorophyllan.

Zur Analyse wurde das gepulverte Produkt bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

Zinkbestimmung.

0,2375 g gaben 0,0186 g ZnO entsprechend 7,83% ZnO = 6,29% Zn.

N-Bestimmung.

- a) 0,0963 g gaben $v = 5,0$, $t = 13,5^\circ$, $b = 727$ mm
entsprechend 5,82% N
- b) 0,1695 g gaben $v = 8,8$, $t = 18,5^\circ$, $b = 728$ mm
entsprechend 5,75% N.

C- und H-Bestimmung.

- 1 0,0975 gaben 0,2531 g CO_2 und 0,0703, entsprechend C : 70,80%,
H : 8,07%;
2. 0,1164 gaben 0,3039 g CO_2 und 0,0829, entsprechend C : 71,21%,
H : 8,00%;
3. 0,0986 gaben 0,2552 g CO_2 und 0,0732, entsprechend C : 70,59%,
H : 8,26%;
4. 0,1489 gaben 0,3852 g CO_2 und 0,1080, entsprechend C : 70,56%,
H : 8,10%;

im Mittel C : 70,79%, H : 8,10%.

Die Zusammensetzung des Zinkchlorophylls aus Ahornblätterchlorophyllan entspricht demnach:

C: 70,79%
H: 8,10%
N: 5,75%
Zn: 6,29%
O: 9,07%
100,00

Diese Werte unterscheiden sich wenig von den für Produkt I ermittelten.

III. Über Allochlorophyllan aus Ahornblättern.

Wie bereits oben bemerkt wurde, läßt das Verhalten der Chlorophyllane, besonders aber desjenigen aus Ahornblättern, zu $\text{Zn}(\text{OH})_2$ und Kohlensäure darauf schließen, daß diese Produkte nicht einheitlich sind. Der von Willstätter hervor gehobene Umstand, daß die Zusammensetzung des Chlorophyllans keine Veränderung erfährt, wenn man es aus seiner Chloroformlösung mit Alkohol fällt, besitzt daher für die angenommene Einheitlichkeit dieses Produktes keine Beweiskraft. Das Chlorophyllan ist offenbar ein Gemisch von mindestens zwei Stoffen, welche in ihrer Zusammensetzung und ihren Lösungsverhältnissen wenig voneinander abweichen, welche aber, wie

gezeigt werden soll, auf Grund ihres optischen Verhaltens leicht voneinander unterschieden werden können.

Die Trennung des Rohchlorophyllans in seine Komponenten ist keineswegs quantitativ, da sich die Methode auf der relativen Leichtigkeit bzw. Schwierigkeit, mit welcher die Komponenten in Verbindung mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ bei Anwesenheit von Kohlensäure reagieren, stützt. Um die mit Zinkoxyhydrat schwierig reagierende Substanz zu isolieren, verfahren wir wie folgt.

5 g Ahornblätterchlorophyllan wurden in 2 l Alkohol von 96% suspendiert, zum Sieden erhitzt und mit ca. 100 ccm eines dicken Zinkoxyhydratschlammes versetzt. Darauf wurde während eines Arbeitstages (ca. 10 Stunden) Kohlensäure eingeleitet und die Flüssigkeit abwechselnd für $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem kochenden Wasserbade, dann wieder auf einer Filzunterlage während 1 Stunde gehalten. Die Lösung wurde kochend filtriert und über Nacht stehen gelassen. Am folgenden Morgen bemerkte man auf dem Boden des Gefäßes und an seinen Wänden eine braunschwarze Abscheidung, welche von der grünen Flüssigkeit abfiltriert wurde. Der Absatz löste sich in Äther mit olivbrauner Farbe und die Lösung zeigte im Vergleich mit der Lösung des ursprünglichen Chlorophyllans einen bemerkenswerten spektralen Unterschied. Die Chlorophyllane zeigen bekanntlich in der Regel im roten Teil des Spektrums nur ein Band, dessen Lage etwa den Wellenlängen 687—643 $\mu\mu$ entspricht. Manchmal zeigt das Chlorophyllan auch ein Doppelband in Rot, worauf Tswett¹⁾ zuerst aufmerksam machte. Das von uns diesmal untersuchte Ahornchlorophyllan, welches, wie bereits bemerkt, aus Pflanzen stammte, welche nur einen relativ geringen Lichtvorrat zur Verfügung hatten, zeigte in sehr verdünnten Lösungen ebenfalls ein Doppelband in Rot, obwohl zwischen den Bändern auch eine relative Verdunkelung des Feldes bemerkbar war. Die Lage der Bänder entsprach ungefähr den folgenden Wellenlängen:

Band Ia 672—658 $\mu\mu$

„ Ib 657—651 „

Band Ib war schwächer als Ia.

Im Vergleich mit diesen Verhältnissen des ursprünglichen Produktes weichen die spektralen Eigenschaften des oben beschriebenen Absatzes ziemlich bedeutend ab. Eine verd. ätherische Lösung desselben zeigte zwar Band Ia auch noch, aber die Intensitäten der Bänder Ia und Ib standen sich bereits bedeutend näher und die Region zwischen ihnen war etwas heller als früher.

Der Absatz wurde nun von neuem in $1\frac{1}{2}$ l heißen Alkohols gelöst, die Lösung mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ versetzt, wobei ungefähr die Hälfte der früher angewandten Menge in Anwendung kam, und dann wie früher,

¹⁾ Ber. 41, 1352, 1908.

wiederum während eines Tages mit Kohlensäure behandelt und heiß filtriert. Am nächsten Tage erschien wieder ein Absatz, der sich in Äther mit röterer Farbe löste als der erste und in dessen ätherischer Lösung das Band Ib noch stärker zum Vorschein kam als letzthin. Der Absatz wurde von neuem, wie beschrieben, verarbeitet, wobei die Alkoholmenge sowie die des Zinkes verringert wurde, und die ganze Prozedur wurde so häufig wiederholt, bis endlich die ätherische verdünnte Lösung das Band Ia nicht mehr zeigte. In dieser Phase des Verfahrens besitzen der Bodenabsatz oder die auf den Wänden des Gefäßes abgeschiedenen Häute eine Schokoladenfarbe und die ätherische Lösung eine rotbraune Farbe, welche der des Phylloxanthins äußerst nahe steht.

Das Produkt löst sich leicht in Äther, schwer in Alkohol. Beim Verdunsten der ätherischen Lösung erhält man kurze, zu Sternen vereinigte Nadeln. Leider hatten wir nicht genügend des Materials zur Verfügung, um eine Analyse ausführen zu können, hoffen aber, in der nächsten Zeit dies nachholen zu können.

Das spektroskopische Verhalten der Substanz ist sehr charakteristisch und erinnert an das von Tswett für sein Chlorophyllan β angegebene. Ein Band $628 \mu\mu$ bis $622 \mu\mu$ besitzt aber das Spektrum unseres Körpers ebensowenig wie Phylloxanthin.

Zunächst seien die Messungen angegeben, welche sich auf Bänder beziehen, die von einer ätherischen Lösung unbekannter Konzentration verursacht werden. Die Verdünnungen wurden in der Weise hergestellt, daß jedesmal auf je 2 Vol. der vorhergehenden Lösung 1 Vol. Äther zugesetzt wurde.

	a	b	c	d
Band I.	678,5—635,5	675,5—638,5	673,5—642,5	670,5—644,5
" II.	614,0—589,5	609,0—590,8	608,0—591,5	606,8—593,0
" III.	564,8—549,5	562,8—550,0	563,0—549,5	562,0—550,0
" IV.	}542,0—492,0	}538,0—512,0	536,8—527,5	534,8—528,5
" V.			523,5—514,5	522,3—515,3
" VI.	schmilzt mit Endabsorpt. zusammen	hebt sich noch zu wenig ab	hebt sich noch zu wenig ab	501,0—486,8 (sehr matt)

	e	f	g	h
Band I.	663,0—647,0	660,5—649,5	658,5—649,5	657,5—651,0
" II.	605,5—593,0	Die anderen Bänder sehr matt und schwer zu messen		
" III.	561,0—552,0			
" IV.	534,5—529,0			
" V.	521,5—515,75			
" VI.	Spur			

Außerdem geben wir Wellenmessungen von Bändern an, welche sich auf Lösungen beziehen, deren Absorptionsverhältnisse mit Hilfe des Martens-Königichen Apparates für Na-Licht bestimmt wurden.

	1 mm Schicht	10 mm Schicht	20 mm Schicht
Band I . . .	659,5—649,0	672,0—645,5	674,5—640,3
" II . . .	} Spuren	609,0—591,3	609,0—591,3
" III . . .		564,5—550,5	564,5—549,0
" IV . . .		537,5—528,0	537,5—528,0
" V . . .		523,3—514,5	523,5—513,0
" VI . . .		Spuren	Spuren
		$\alpha_1 = 72,85^\circ$ $\alpha_2 = 66,50^\circ$	$\alpha_1 = 107,2^\circ$ $\alpha_2 = 40,6^\circ$

Im Violett und Ultraviolett verursacht die ätherische Lösung der neuen Substanz drei Absorptionsbänder.

Der Vergleich der Photographie dieses Spektrums¹⁾ mit derjenigen, welches früher²⁾ für das Rohchlorophyllan verschiedener Pflanzen gegeben wurde, lehrt sofort, daß letztere ein gemischtes Spektrum vorstellte, ein Ergebnis, welches leicht vorauszusehen war, insofern als a priori zu erwarten war, daß Rohchlorophyllextrakte, welche in der Regel zwei Chlorophylle enthalten, das Chlorophyll und das Allochlorophyll, von denen beide säureempfindlich sind, unter dem Einfluß von Säuren nur ein Gemisch zweier Chlorophyllane liefern können. Die von uns diesmal benutzten Ahornblätter erwiesen auf Grund der auf sie angewandten Entmischungsmethode von Sorby-Marchlewski-Schunck einen bedeutenden Gehalt an Allochlorophyll, und da gerade dieses Material auch eine verhältnismäßig sehr große Menge des oben beschriebenen Produktes lieferte, so erscheint der Schluß zulässig, daß beide Produkte in genetischer Beziehung zueinander stehen. Deswegen bezeichnen wir das neue Produkt als Allochlorophyllan. Für diesen Schluß sprechen übrigens auch rein spektroanalytische Gründe. Das eigentliche Chlorophyll und seine nächsten Abbauprodukte unter dem Einfluß von Säuren sind durch ein erstes Band charakterisiert, dessen Lage ganz allgemein durch etwa die Wellenlängen 672 $\mu\mu$ —658 $\mu\mu$ bestimmt wird.

Das Allochlorophyll und seine nächsten Abbauprodukte, Allochlorophyllan und Phylloxanthin, das Phylloxanthrubin, mit welchem höchst wahrscheinlich Phytorhodin *f* identisch ist, hingegen sind durch ein erstes (am wenigsten gebrochenes) Band ausgezeichnet, welches im Verhältnis mit dem der anderen Reihe mehr nach Violett hin verschoben ist und dessen Lage etwa durch die Wellenlängen 657,5 $\mu\mu$ —640,0 $\mu\mu$ bestimmt werden kann.

Soeben wurde hervorgehoben, daß Allochlorophyllan als Muttersubstanz des Phylloxanthins angesehen werden muß. Die Umwandlung in letzteres geschieht unter dem Einfluß von konz. Salzsäure. Das Phylloxanthin bildet das Hauptprodukt der Reaktion. Auf diesen Punkt der Chlorophyllchemie kommen wir später noch ausführlich zurück, sobald die analytische Untersuchung des Phylloxanthins vollendet ist.

¹⁾ Vgl. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1909, Oktoberheft.

²⁾ Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1908, Tafel X.

Die hier beschriebenen Ergebnisse bilden eine teilweise Bestätigung der Resultate, welche Tswett¹⁾ erhalten hat, nämlich, daß Phylloxanthin ein Derivat des Allochlorophylls ist. Wenn wir nun auch keineswegs die Details der Tswettschen Untersuchung billigen können, besonders auch seine spektralanalytischen Angaben, so macht es dem einen von uns (Marchlewski) besondere Freude, endlich einmal mit Tswett übereinstimmen zu können. Für die Chemie des Chlorophylls ist es aber von besonderer Bedeutung, daß ein so wichtiges Resultat auf grundverschiedenen Wegen erhalten wurde, und demnach keinem Zweifel mehr unterliegen kann.

Übrigens ist daran zu erinnern, daß bereits Versuche von Kozniowski und Marchlewski Anhaltspunkte bezüglich der genetischen Beziehung des Phylloxanthins zum Allochlorophyll gegeben haben.²⁾

IV. Die Zinkprophyllotaonine aus Brennesselzinkchlorophyll.

Wie bereits erwähnt, erleidet das Zinkchlorophyll unter dem Einfluß von alkoholischem Kaliumhydrat eine Umwandlung, welche in allen Stücken an die Umwandlung des Chlorophylls in Allochlorophyll erinnert.

Die Reaktion wurde wie folgt geleitet: 3,5 g des Zinkchlorophylls wurden in 50 ccm Methylalkohol und etwas Äther gelöst und mit 50 ccm einer 10⁰/₁₀igen methylalkoholischen Kaliumhydratlösung versetzt. Die ursprüngliche grüne Farbe schlägt sofort in eine schmutzig rotbraune um, welche aber allmählich wieder einer grünen Platz macht. Gleichzeitig verschwindet die prächtige ursprüngliche Fluorescenz nahezu ganz, ist aber noch nach 24stündiger Dauer der Reaktion im Quarzlichte spurenweise wahrzunehmen.

Nach 2tägiger Einwirkung des Kalihydrates bemerkt man eine ziemliche Menge eines körnigen Bodensatzes. Ohne diesen zu beachten, werden zu dem Gemisch 500 ccm Wasser hinzugesetzt, worauf tüchtig ausgeäthert wird. Die ätherischen Extrakte sind in der Regel farblos, ab und zu kommt es jedoch vor, daß auch eine Spur eines grünen Farbstoffs vom Äther aufgenommen wird. Die ätherische Lösung wird, nach ev. Entfärbung mit Tierkohle und Waschen mit Wasser, eingedampft, wobei ein dickes, farbloses Öl zurückbleibt, welches terpeninähnlichen Geruch besitzt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß

¹⁾ Diese Zeitschr. 5, 14, 1907.

²⁾ Diese Zeitschr. 8, 305, 1906.

dasselbe Phytol darstellt. Eine Bestätigung dieser Vermutung mußte vorläufig unterlassen werden, da wir keine guten Vakuumdestillationsapparate zur Verfügung haben.

Die wässrige grüne Lösung wird mit reinem Äther überschichtet und mit Phosphorsäure, Oxalsäure oder Essigsäure behutsam versetzt. Sofort wird die Alkaliverbindung zerlegt, und der Äther färbt sich prächtig blaugrün und fluoresciert stark rot. Ein Teil des Farbstoffes fällt in Flocken aus, welche in Äther unlöslich sind. Von letzteren wird abfiltriert und die ätherische Lösung nach Willstätters Angabe gereinigt. Sie wird zunächst mit einer 10%igen Na_2HPO_4 -Lösung durchgeschüttelt, wobei der größte Teil des Farbstoffs dem Äther entzogen wird. Die Phosphat-Lösung ist grün gefärbt und zeigt in der Regel keine Fluorescenz, manchmal kann eine solche im Quecksilberlicht beobachtet werden. Die Lösung wird mit Äther ausgeschüttelt, wobei in der Regel etwas Farbstoff mit blauer Farbe entzogen wird. Diese Lösung wird zu der ursprünglichen, jetzt gleich gefärbten, gegeben und gesondert verarbeitet. Der stärker saure Farbstoff erhielt den Namen Zinko- β -pro-Phyllotaonin, der schwächer saure Zinko- α -pro-Phyllotaonin.

Zinko- β -pro-Phyllotaonin.

Der Farbstoff wird aus der Phosphatlösung durch Oxalsäure oder Phosphorsäure abgeschieden und in Äther aufgenommen. Der ätherischen Lösung entzieht man ihn von neuem mit einer 10%igen Natriumbicarbonatlösung, wobei eine nicht fluoreszierende grüne Lösung erhalten wird. Diese mit Säuren versetzt, gibt den Farbstoff wieder an Äther ab, obwohl in der Regel auch ein kleiner Teil in Form von in Äther unlöslichen Flocken abgeschieden wird. Die ätherische Lösung wird filtriert und mit Natriumsulfat getrocknet. Ehe zur Beschreibung der Eigenschaften dieser Substanz geschritten werden soll, die sie charakterisieren, wenn sie aus der ätherischen Lösung durch Eindampfen des Lösungsmittels gewonnen wurde, sei auf eine Eigentümlichkeit der Lösung vor dem Eindampfen hingewiesen. Das Spektrum der Lösung ist nämlich äußerst unbeständig. Es hätte keinen Zweck, die vielen Messungen anzuführen, welche wir ausführten, da sie nahezu von Fall zu Fall abweichende

Werte ergeben haben. Aber ein Umstand verdient besonders hervorgehoben zu werden. Während die frisch durch Entbinden des Farbstoffs aus dem Natriumsalz hergestellte Lösung nur ein Band im Rot zeigt, zeigen ältere Lösungen zwei, indem im äußersten Rot ein neues hinzukommt. Je älter die Lösung, um so stärker wird das neue, um so mehr verblaßt das ursprüngliche Band. Diese Verhältnisse werden durch die Photographien, welche im Bulletin der Krakauer Akad. der Wissensch. reproduziert sind, gut illustriert.¹⁾ Aus dem geschilderten Verhalten ist zu schließen, daß der Farbstoff innerhalb der Lösung irgend einer Veränderung unterliegt, deren spektrale Kennzeichen lebhaft an jene erinnern, welche die Umwandlung des Phyllotaonins in Allophyllotaonin charakterisieren.²⁾ Nur wird die letztere Umwandlung nicht spontan bewerkstelligt, sondern durch die Wirkung höherer Wärmegrade.

Eigenschaften.

Wird die ätherische, getrocknete Lösung eingedampft, so erhält man eine spröde, dunkelblaue Masse, die sich gut pulverisieren läßt. Sie zeigt keinen Schmelzpunkt, wird aber bei 110° sehr bald zur Gewichtskonstanz getrocknet. In Äther löst sich das Produkt nicht besonders leicht, die Lösungen sind aber stark gefärbt, die Alkohole lösen es schwieriger, ebenso Benzol.

5%ige wässrige Natronlauge löst es nur langsam, wobei eine grüne, stark rot fluoreszierende Lösung entsteht.

5%ige wässrige Natriumcarbonatlösung löst es in der Kälte nahezu gar nicht, etwas beim Kochen, wobei ebenfalls eine grüne und rot fluoreszierende Lösung entsteht.

Die ätherische Lösung gibt im sichtbaren Teile des Spektrums bei entsprechender Konzentration 6 Bänder. Die nachstehend angegebenen Werte beziehen sich auf eine Lösung, welche in 1 mm Schicht folgende Absorptionsverhältnisse für Natriumlicht aufwies: $\alpha_1 = 69,5^\circ$, $\alpha_2 = 60,55^\circ$.

Schichtdicke	1 mm $\mu\mu$	5 mm $\mu\mu$	10 mm $\mu\mu$	15 mm $\mu\mu$	25 mm $\mu\mu$
Band I	677,0—663,0	680,5—659,0	683,5—656,0	688,0—652,0	} 696—611
" II	Spuren	Spuren	633,5—617,5	633,5—616,0	
" III	"	"	565,0—554,5	565,0—554,0	567,0—554,0
" IV	"	"	Spuren	544,0—538,0	544,5—536,0
" V	"	"	"	521,5—502,0	522,0—502,0
" VI	—	—	—	Spuren	498,5—479,5

¹⁾ Oktober-Heft.

²⁾ Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1908, 249.

Nach der Intensität lassen sich die Bänder wie folgt ordnen:

$$I > III > II > IV > V > VI.$$

Band VI ist äußerst schwach und verwaschen und kann nicht genau gemessen werden.

Die Untersuchung des Spektrums im Ultraviolett wurde nicht ausgeführt.

Zusammensetzung.

Zur Analyse wurde das Produkt bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zinkbestimmung.

0,1457 g Subst. gaben 0,0147 g ZnO, entsprechend 10,09% ZnO = 8,10% Zn.

N-Bestimmung.

a) 0,1874 g gaben $v = 13,0$ ccm, $t = 16,5^\circ$, $b = 740,3$,
entsprechend 7,81% N;

b) 0,1247 g gaben $v = 8,8$ ccm, $t = 17^\circ$, $b = 744,0$,
entsprechend 7,97% N.

C- und H-Bestimmung.

a) 0,1597 g gaben 0,3780 g CO₂ und 0,0861 g H₂O; C: 64,55%, H: 6,03%;
b) 0,1150 g „ 0,2720 g „ „ 0,0654 g „ „ C: 64,50%, H: 6,36%.

Die Zusammensetzung des Zink- β -pro-Phyllotaonins entspricht demnach im Mittel folgenden Werten:

C:	64,53%
H:	6,19%
N:	7,89%
Zn:	8,80%
O:	13,29%
	100,00

Die Zersetzungsprodukte des Zink- β -pro-Phyllotaonins unter dem Einfluß von Säuren.

Wie bereits in der vorläufigen Mitteilung über diesen Gegenstand von dem einen von uns angegeben wurde, bildet das rohe Zink-pro-Phyllotaonin unter der Einwirkung von konz. Salzsäure ein Gemisch von Farbstoffen, in welchem als Hauptprodukt Phyllotaonin vorliegt. Dasselbe Resultat wurde bei Anwendung des gereinigten Zink- β -pro-Phyllotaonins erhalten. Damals wurde auch bereits auf den Umstand hingedeutet, daß, wenn die Spaltung des Zink-pro-Phyllotaonins unter dem Einfluß von Säuren und Alkohol bei erhöhter Temperatur erfolgt, rote Farbstoffe entstehen, die nichts anderes sein können als Willstätters Phytorhodine. Dieser Schluß wurde in der Tat

durch das spektroskopische Studium der entstehenden Farbstoffe bestätigt gefunden.

Der Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß der durch Einwirkung von alkoholischem KOH auf Zinkchlorophyll nach einigem Stehen abgeschiedene Niederschlag auf einem Filter gesammelt und nach dem Trocknen an der Luft in 300 ccm einer alkoholischen Lösung von HCl (10%) eingetragen wurde. Die Lösung wurde sodann während 6 Stunden auf dem Wasserbade unter Rückfluß zum Sieden erwärmt. Die rotbraune Lösung wurde nach dem Erkalten mit dem 5fachen Volumen Wassers verdünnt und mit Äther extrahiert. Die rotbraune Lösung wurde nun in derselben Art verarbeitet, wie dies Koźniewski und Marchlewski¹⁾ früher beschrieben haben. Zunächst wurde sie mit 1%iger Natronlauge geschüttelt, um ihr die sauren Farbstoffe zu entziehen.

Die alkoholische Lösung gab nach dem Ansäuern an Äther ein Gemisch von Farbstoffen ab, welches durch sukzessive Behandlung der Lösung mit 2 $\frac{1}{2}$ %, 5%, 7% und 10%iger Salzsäure in 5 Fraktionen zerteilt wurde. Aus den sauren Lösungen wurden die Farbstoffe nach dem Neutralisieren wiederum in Äther aufgenommen und die ätherischen Lösungen behufs Vergleiches mit den von Koźniewski und Marchlewski erhaltenen Farbstoffen spektroskopisch untersucht. Um möglichst objektiv vorgehen zu können, habe ich die Messungen der Bänder Herrn Malarski ganz überlassen.

Der in 2 $\frac{1}{2}$ %iger Salzsäure lösliche Farbstoff ergab folgende Werte:

$$E = 2,8372 \text{ für Na-Licht.}$$

Schichtdicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	668,0—656,0	668,0—654,5
" II	kaum sichtbar	638,0—631,5
" IIIa	590,5—580,5	592,0—581,0
" IIIb	577,0—570,5	577,0—570,0
" IV	552,0—538,0	552,0—538,0
" V	513,5—498,0	513,5—498,0

Intensitätsreihenfolge: V > IV > I > III > II

¹⁾ Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1908, 247.

Der in 5% iger Salzsäure lösliche Farbstoff.

E = 3,7313.

Schichtendicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	668,0—656,5	670,5—654,5
" II	638,5—633,5	640,5—633,0
" IIIa	590,0—580,0	593,0—579,5
" IIIb	576,5—572,0	577,0—571,5
" IV	550,5—540,0	553,0—537,0
" V	515,0—498,5	520,0—491,0

Intensitätsreihenfolge: V > IV > I > III > II.

Der in 7 $\frac{1}{2}$ % iger Salzsäure lösliche Farbstoff.

E = 3,2250.

Schichtendicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	668,0—655,0	670,0—655,0
" II	642,0—635,0	642,0—637,0
" IIIa u. IIIb	592,5—572,0	594,0—571,0
" IV	552,0—540,0	555,0—535,0
" V	518,0—502,0	523,0—490,0

Intensitätsreihenfolge: V > IV > III > I > II.

Ein ganz analoges Spektrum gab auch die 10% ige Salzsäurefraktion. Bezüglich des ersten Bandes ist zu erwähnen, daß es in bezug auf Intensität in den verschiedenen Fraktionen variiert. Die in NaOH unlöslichen Farbstoffe wurden in ganz analoger Weise fraktioniert. Nur wurde gefunden, daß in diesem Falle stärker basische Farbstoffe nur in Spuren vorlagen. Erheblichere Quantitäten wurden nur von den 7 $\frac{1}{2}$ %, 10, 12 $\frac{1}{2}$ % und 15% igen Säuren aufgenommen.

Der in NaOH unlösliche, in 7 $\frac{1}{2}$ % igem HCl lösliche Farbstoff.

E = 8,9966.

Schichtendicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	674,5—654,0	675,0—652,5
" II	641,5—631,0	640,0—630,0
" IIIa	588,0—581,0	} 594,5—569,5
" IIIb	578,0—571,0	
" IV	551,0—538,0	557,5—532
" V	516,5—491,0	521,5—492,5

Intensitätsreihenfolge: IV > V > I > III > II.

Der in NaOH unlösliche, in 10%iger HCl lösliche Farbstoff.

E = 7,3638.

Schichtdicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	671—656	673,0—652,0
" II	sehr schwach	642,0—635,0
" IIIa	591,0—581,0	} 592,5—572,0
" IIIb	577,0—572,0	
" IV	551,0—540,5	553,0—540,0
" V	517,0—493,0	518,5—492,5

Intensitätsreihenfolge: IV > V > I > III > II.

Der in NaOH unlösliche in 12 $\frac{1}{2}$ %iger Salzsäure lösliche Farbstoff.

E = 7,7884.

Schichtdicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	668,0—656,0	668,0—654,0
" II	644,0—634,0	645,0—637,0
" IIIa u. IIIb	593,0—579,0	593,0—579,0
" IV	555,0—544,0	556,0—542,0
" V	520,0—502,0	520,0—494,0

Intensitätsreihenfolge: V > IV > I > III > II.

Der in NaOH unlösliche, in 15%iger HCl lösliche Farbstoff.

Schichtdicke	10 mm $\mu\mu$	20 mm $\mu\mu$
Band I	668,0—657,0	674,0—653,0
" II	644,0—639,0	645,0—638,5
" IIIa	592,0—588,0	} 596,5—579,0
" IIIb	583,3—579,0	
" IV	554,0—541,0	555,5—541,0
" V	522,0—498,0	526,0—492,0

Intensitätsreihenfolge: V > I > IV > III > II.

Vergleicht man nun die obigen Werte mit denen, welche Koźniewski und Marchlewski für die roten Umwandlungsprodukte der Phyllotaonine unter dem Einfluß von alkoholischer Salzsäure erhalten haben, so ergibt sich eine große Übereinstimmung. Das erste Band sämtlicher oben angegebenen Spektren muß ausgeschieden werden, da es unzweifelhaft durch eine geringe Menge einer Verunreinigung verursacht wird, wie dies Koźniewski und Marchlewski nachgewiesen haben.

Der Vergleich wird durch folgende Zusammenstellung erleichtert:

In NaOH und 2¹/₂%iger HCl löslicher Farbstoff.

	Koźniewski, March- lewski $\mu\mu$	Malarski $\mu\mu$
Band I	637,0—626,0	638,0—631,5
„ II u. III	594,0—571,0	592,0—581,0
„ IV	556,0—532,0	552,0—538,0
„ V	518,0—483,5	513,5—498,0

In NaOH unlöslicher, in 7¹/₂%iger HCl löslicher Farbstoff.

	Koźniewski, March- lewski $\mu\mu$	Malarski $\mu\mu$
Band I	638,0—630,0	642,0—635,0
„ II u. III	594,0—570,5	592,5—572,0
„ IV	555,5—532,0	553,0—540,0
„ V	520,0—486,0	518,5—492,5

Die Übereinstimmung ist, wie man sieht, durchaus befriedigend, besonders wenn man die ungleiche Übung in derartigen Messungen der genannten Experimentatoren berücksichtigt sowie auch den Umstand, daß die Farbstoffe nicht in genau denselben Konzentrationen untersucht wurden.

Jedenfalls folgt aus diesen Versuchen, daß Zink-pro-Phyllo-taonin tatsächlich dieselbe Reihe von roten Farbstoffen liefern kann, welche Willstätter zuerst aus Alkachlorophyll und Koźniewski und Marchlewski aus Phyllo- bzw. Allophyllo-taonin erhalten haben.

V. Zink-pro-Phyllotaonin aus Ahornblätterzinkchlorophyll.

Die Umwandlung dieses Zinkchlorophylls in Zink-pro-Phyllo-taonin erfolgte in genau derselben Art, wie unter IV beschrieben wurde.

Da das Ahornblätterchlorophyllan besonders viel Allochlorophyllan enthält und die Abscheidung des eigentlichen Chlorophyllans in Form seiner Zinkverbindung bis zu einem gewissen Grade gelingt, so wurde neben dem Zink-pro-Phyllo-taonin, welches beiden Chlorophyllanen entstammen mußte, auch ein Präparat analysiert, welches einem Chlorophyllan entsprang, aus dem das meiste Allochlorophyllan entzogen wurde.

Ersteres ergab bei der Analyse:

Zinkbestimmung.

0,0909 g Substanz gaben 0,0099 g ZnO, entsprechend 8,74% Zn.

N-Bestimmung

ergab 8,82% N.

C- und H-Bestimmung.

- a) 0,0996 g gaben 0,2225 g CO₂ und 0,0461 g H₂O, entsprechend 60,93 % C und 5,06 % H;
 b) 0,1112 g gaben 0,2508 g CO₂ und 0,0512 g H₂O, entsprechend 61,51 % C und 5,15 % H;
 c) 0,1202 g gaben 0,2710 g CO₂ und 0,0574 g H₂O, entsprechend 61,49 % C und 5,34 % H.

Im Mittel wurde also erhalten:

C : 61,31 %
H : 5,18 %
N : 8,82 %
Zn : 8,74 %
<u>O : 15,95 %</u>
100,00

Diese Werte unterscheiden sich, wie man sieht, ziemlich bedeutend von denjenigen, welche für das Zink-pro-Phyllotaonin aus Brennessel-Zink-Chlorophyll erhalten werden. Während der Zinkgehalt in beiden Fällen ungefähr gleich ist, unterscheiden sich die N-, C- und H-Werte nicht unbedeutend. Es war daher interessant, zu finden, daß dasjenige Zink-pro-Phyllotaonin, welches aus demjenigen Zinkchlorophyll der Ahornblätter erhalten wurde, bei dessen Darstellung das Allochlorophyllan möglichst ausgeschieden wurde, Werte bei der Analyse ergab, welche mit den für Zink-pro-Phyllotaonin aus Brennesselzinkchlorophyll erhaltenen gut übereinstimmten, wie dies die unten angeführten Ergebnisse beweisen.

N-Bestimmung.

0,1266 g gaben 8,8 ccm, $t = 22^\circ$, $b = 743,5$,
entsprechend 7,66 %.

C- und H-Bestimmung.

0,1089 g gaben 0,2590 g CO₂, 0,0599 g H₂O, entsprechend C: 61,86 %
und 6,15 % H.

Bezüglich der sonstigen Eigenschaften, wie Löslichkeitsverhältnisse, Spaltungsprodukte, Absorptionsbänder usw., verhält sich das letztere Produkt dem Zink-pro-Phyllotaonin aus Brennesselzinkchlorophyll ganz analog.

Die Messung der Absorptionsbänder einer Lösung, welche für Natriumlicht die folgenden Absorptionsverhältnisse zeigt: $\alpha_1 = 66,45^\circ$, $\alpha_2 = 58,25^\circ$ (für eine 1 mm-Schicht) ergab folgendes:

Schichtdicke	1 mm $\mu\mu$	5 mm $\mu\mu$	10 mm $\mu\mu$	15 mm $\mu\mu$	25 mm $\mu\mu$
Band I	676,5—664,0	677,0—662,0	681,5—657,5	685,0—652,0	} 699,5—610,0
„ II	Spuren	Spuren	Spuren	627,5—615,0	
„ III	„	„	564,0—554,0	564,0—554,0	
„ IV	„	„	„	543,5—536,5	
„ V	„	„	„	522,0—502,0	
„ VI	„	„	„	Spuren	
					497,0—479,5

Der Intensität nach lassen sich die Bänder wie folgt ordnen:

$$I > III > II > IV > V > VI$$

Endlich sei bemerkt, daß auch bei der Verseifung des Zinkchlorophylls aus Ahornblättern ein Produkt erhalten wurde, das möglicherweise mit dem Phytol identisch war.

VI. α -Zink-pro-Phyllotaonin.

Wie bereits bemerkt wurde, läßt sich neben dem in Na_2HPO_4 löslichen β -Zink-pro-Phyllotaonin noch die Anwesenheit eines anderen, schwächer sauren Produktes nachweisen, welches dem Äther eine nahezu rein blaue Farbe verleiht. Dies ist jedenfalls das am stärksten blau gefärbte Derivat der Chlorophylle, welches wir bis jetzt kennen gelernt haben. Dasselbe entsteht in bedeutend größerer Menge aus dem rohen Zinkchlorophyll aus Ahornblättern als aus demjenigen von Brennesselblättern. Ob diesem Umstand eine größere Bedeutung abzugewinnen sein wird, müssen noch weitere Versuche zeigen.

Zur Isolierung und Reinigung des α -Zink-pro-Phyllotaonins wird, wie folgt, verfahren: Die blaue ätherische Lösung, welche hinterbleibt, nachdem man das β -Produkt mit Natriumphosphatlösung entfernt hat, wird mit 10%iger Natriumcarbonatlösung durchgeschüttelt. Der blaue Farbstoff geht sofort in Lösung. Sehr bald scheiden sich aber aus der Lösung prächtige, metallisch schimmernde Nadeln von violettblauer Farbe ab. Dieselben stellen das Natriumsalz des α -Zink-pro-Phyllotaonins dar. Um den freien Farbstoff zu erhalten, wurden sie in warmem Wasser gelöst und nach dem Erkalten mit Oxalsäure zersetzt. Der freie Farbstoff geht dann in Äther mit grünblauer Farbe in Lösung. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels erhält man das α -Zink-pro-Phyllotaonin als glänzende, blaue, brüchige Masse, welche folgende Löslichkeitsverhältnisse auf-

weist: In Äther ziemlich leicht, ebenso in den Alkoholen löslich. Schwieriger in Benzol und Petroläther.

Ähnlich wie das β -Produkt zeigt auch das α -Produkt die Eigentümlichkeit, bald nach dem Freiwerden aus seinem Natriumsalz ein anderes Spektrum zu zeigen als nach längerem Stehen der ätherischen Lösung; noch gründlicher wird die erwähnte Veränderung bei der Untersuchung der ätherischen Lösung des einmal in fester Form isolierten Farbstoffes bemerkt.

Diese Verhältnisse werden durch folgende Messungen gut illustriert.

Eine ätherische Lösung des α -Zink-pro-Phyllotaonins zeigte, kurz nach dem Freiwerden aus der Na-Verbindung, in 1 mm-Schicht untersucht, nur ein deutliches Band bei 657—643 $\mu\mu$. Vor demselben, also mehr nach Rot hin, konnte man noch eine Andeutung einer Absorption wahrnehmen, aber messen ließ sich dieselbe nicht.

Eine 10 mm-Schicht derselben Lösung ergab:

Band I	680,5—625,0 $\mu\mu$
„ II	610,0—593,5 „
„ III	568,0—550,5 „
„ IV	532,0—489,0 „

Das letzte Band zeigte ein Dunkelheitsminimum, welches sich jedoch nicht messen ließ.

Diese Lösung wurde nun während 12 Stunden sich selbst überlassen und dann wieder untersucht. Im Rot zeigte sich jetzt ein sog. Doppelband. Für die 1 mm dicke Schicht wurde gefunden:

Band Ia	680,0—671,0 $\mu\mu$
„ Ib	654,0—641,5 „

Für eine 10 mm dicke Schicht erhielt man:

Band Ia + Ib	684,5—627,25 $\mu\mu$
„ II	605,5—591,0 „
„ III	564,5—548,0 „
„ IV	521,3—506,5 „

Außerdem erschien ein äußerst schwaches Band hinter der He₃-Linie. Die Bänder II, III, IV sind ungefähr gleich stark, aber viel schwächer als Band I.

Die ätherische Lösung des in fester Form isolierten Farbstoffs ist optisch vollkommen beständig und zeigte folgende Absorptionen: Absorptionsverhältnis einer 1 mm-Schicht in Na-Licht: $\alpha_1 = 83,2^\circ$, $\alpha_2 = 80,15^\circ$.

Schichten- dicke	1 mm	5 mm	10 mm	15 mm	25 mm	45 mm
	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$	$\mu\mu$
Band I	681,5—665,0	682,5—664,0	685,0—660,5	686,0—657,0	691,0—653,0	} 691,5—610,0
" II	Spuren	Spuren	637,5—619,5	639,5—617,5	640,0—614,5	
" III	"	"	564,5—555,0	567,0—554,0	567,0—554,0	
" IV	"	"	Spuren	Spuren	525,5—510,5	
" V	"	"	"	"	Spuren	

Im Violett und Ultraviolett wurden ebenfalls Bänder¹⁾ auf photographischem Wege entdeckt.

Zur Analyse reichte das zurzeit uns zur Verfügung stehende Material nicht aus.

Umwandlung des α -Zink-pro-Phyllotaonins unter dem Einfluß von Säuren.

Das Verhalten des α -Zink-pro-Phyllotaonins zu Säuren ist äußerst charakteristisch. Wird die ätherische Lösung des frisch aus seinem Natriumsalz entbundenen Farbstoffs mit konz. Salzsäure versetzt, so wird der Äther entfärbt, während die Säure sich blaugrün färbt. Nach dem Verdünnen mit Wasser geht das Umwandlungsprodukt in Äther mit grauroter Farbe über und zeigt das Spektrum des Allophyllotaonins. Aus dieser ätherischen Lösung wird durch 5% HCl kein Farbstoff entzogen, 10%ige Säure färbt sich nur spurenweise, 15%ige färbt sich intensiv, aber der Farbstoff verbleibt noch in größerer Menge im Äther. 20% HCl endlich entzieht den Farbstoff vollständig. Auch diesem Verhalten nach ist der Farbstoff als Allophyllotaonin anzusprechen. Aus der ätherischen Lösung krystallisiert er in prächtigen stahlblauen und zu Sternen vereinigten Nadeln.

Die ätherische Lösung, deren Absorptionsverhältnisse durch die folgenden Werte charakterisiert werden: für gelbes Hg-Licht $\alpha_1 = 76,9^\circ$, $\alpha_2 = 73,45^\circ$, für grünes Hg-Licht $\alpha_1 = 90,55^\circ$, $\alpha_2 = 59,55^\circ$ (für eine 1 mm-Schicht) ergab Bänder, deren Lage durch die folgenden Werte bestimmt werden:

Schichtendicke	1 mm	10 mm
	$\mu\mu$	$\mu\mu$
Band I	707,0—690,5	712,5—673,5
" II	—	648,0—629,5
" III	545,5—536,0	549,0—533,5
" IV	—	512,0—497,5
" V	—	485,0—471,0

¹⁾ Vgl. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie 1909, Oktoberheft.

Wird die ätherische Lösung mit sehr verd. Natronlauge durchgeschüttelt, so geht der Farbstoff mit olivgrüner Farbe in letztere über. Die alkalische Lösung wurde 1 Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt, abgekühlt und nach dem Ansäuern ausgeäthert. Der Äther wurde hierbei olivgrün angefärbt und zeigte das bekannte Phyllotaoninspektrum. Die ätherische Lösung¹⁾ des Phyllotaonins wurde sodann eingedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen, wiederum eingedampft und diese Prozedur noch zweimal wiederholt, in der Annahme, daß durch dieselbe das Phyllotaonin in Allophyllotaonin übergeführt wird. Diese Annahme hat sich auch vollauf bestätigt. Die Chloroformlösung des Verdampfungsrückstandes besaß eine graurote Farbe und zeigte in der 10 mm-Schicht, deren Absorptionsverhältnisse die folgenden waren: für gelbes Hg-Licht $\alpha_1 = 90,65^\circ$, $\alpha_2 = 60,85^\circ$, für grünes Hg-Licht $\alpha_1 = 67,95^\circ$, $\alpha_2 = 6,95^\circ$, die nachstehenden Bänder:

Band I	718,5—683,5 $\mu\mu$
„ II	653,5—633,0 „
„ III	555,0—540,0 „
„ IV	516,5—502,0 „
„ V	492,0—474,5 „

Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß das Spaltungsprodukt des α -Zink-pro-Phyllotaonins Allophyllotaonin ist; andere Körper entstehen, wenn überhaupt, nur spurenweise und dies erklärt, warum nach dieser Art dargestelltes Allophyllotaonin so leicht krystallisiert. Diese Darstellungsweise des Allophyllotaonins muß als die beste bis jetzt bekannte angesehen werden, trotzdem sie mühsam, zeitraubend und kostspielig ist.

Zusammenstellung der Hauptresultate.

1. Chlorophyllane (Phyllogene, Phäophytine) werden durch Einwirkung von $\text{Zn}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2$ in grüne, stark fluorescierende Substanzen umgewandelt, die den Namen „Zinkchlorophylle“ erhalten haben. Letztere zeigen die regelrechte Kraussche Reaktion und ein den Chlorophyllen sehr ähnliches Spektrum.

2. Chlorophyllane sind nicht einheitliche Substanzen, und zwar auch dann, wenn die Chlorophyllextrakte, aus denen sie entstammen, die Kraussche Reaktion normal aufweisen. Einer der Bestandteile der Chlorophyllane reagiert mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ und CO_2 weit langsamer als der andere. Ersterer wird Allochlorophyllan

¹⁾ An 4%ige Salzsäure gibt sie nahezu den ganzen Farbstoff ab.

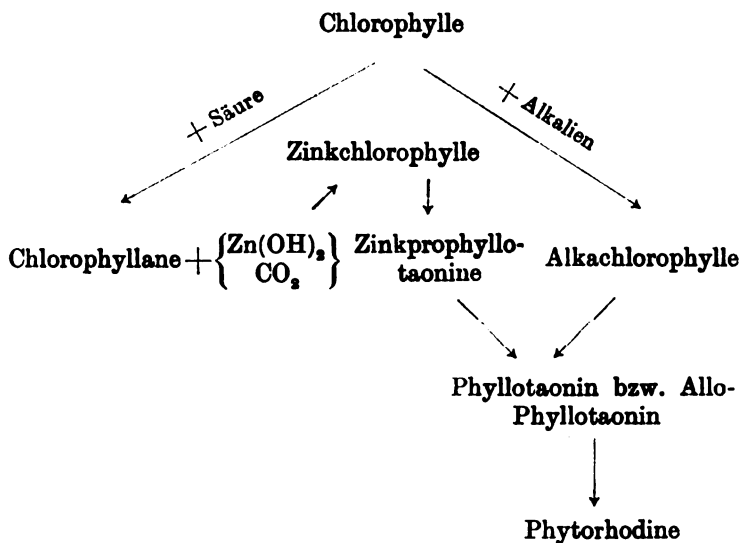
genannt und als Säureumwandlungsprodukt des Allochlorophylls (Sorby's gelben Chlorophylls) angesehen. Allochlorophyllan gibt bei der Einwirkung von konz. Salzsäure unter anderem Phylloxanthin als Hauptprodukt.

3. Obwohl die Kohlensäure bei der Zinkchlorophyllbildung notwendig ist, enthalten die entstehenden Produkte keine durch Säuren abspaltbare Kohlensäure. Die Rolle der Kohlensäure ist noch unklar. Entweder wirkt sie nur vermittelnd oder, was unwahrscheinlich ist, sie wird in irgendeiner Form an das Molekül „organisch“ angelagert.

4. Die Zinkchlorophylle verhalten sich gegenüber Alkalien genau wie die natürlichen Chlorophylle. Sie liefern hierbei zwei Zink-pro-Phyllotaonine, welche sich wie Allochlorophylle verhalten. Das α -Zink-pro-Phyllotaonin liefert bei der Behandlung mit Salzsäure Allophyllotaonin. Das β -Zink-pro-Phyllotaonin liefert neben anderen Produkten Phyllotaonin. Unter dem Einfluß von siedender alkoholischer HCl-Lösung geben die Zink-pro-Phyllotaonine Phytorrhodine. Besondere Versuche haben ergeben, daß bei der Umwandlung der Zinkchlorophylle unter dem Einfluß von Alkalien in der Kälte kein Ammoniak abgespalten wird.

5. Zu den wichtigsten Resultaten der modernen Chlorophyllforschung muß die Erkenntnis gerechnet werden, daß die Säureumwandlungsprodukte der Chlorophylle und des Allochlorophylls total verschiedene Körper sind. Während im ersteren Falle zunächst Chlorophyllan und Allochlorophyllan und dann Phyllocyanin und Phylloxanthin gebildet werden, entstehen im zweiten Falle Phyllotaonin und Allophyllotaonin als Hauptprodukte bzw. deren Äther. Letztere Angabe schien für einige Leser der Chlorophyllliteratur unsicher zu sein in Anbetracht des Umstandes, daß Willstätter aus den Alkchlorophyllen Körper gewann, welche von dem Phyllotaonin durchaus verschieden waren. Derartige Zweifel wurden durch den von Koźniewski und Marchlewski geführten Nachweis, daß Phyllotaonin leicht in Phytorrhodine umgewandelt werden kann, behoben. Bis jetzt kannte man aber keinen sicheren Weg, der die Umwandlung der Abbauprodukte des Chlorophylls unter dem Einfluß von Säuren in solche der Alkchlorophylle ermöglichen würde. Die vorliegende Abhandlung liefert den

Beweis, daß ein solcher Weg, welcher durch das Schema wiedergegeben wird:



gefunden worden ist.

Die Untersuchung der Zinkchlorophylle und analoger Verbindungen, welche aus Phylloxanthin, Phyllocyanin, Allochlorophyllan erhalten wurden, wird fortgesetzt. In naher Zukunft soll über die Umwandlung der Zinkchlorophylle unter dem Einfluß von Alkalien bei hohen Temperaturen berichtet werden.

Studien in der Chlorophyllgruppe. V.

Von

L. Marchlewski.

Der endgültige Beweis der Identität des Chlorophyllpyrrols und Hämopyrrols.

Von

L. Barabasz und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau.)

(Eingegangen am 17. August 1909.)

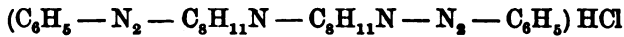
In der Kette der Beweise, welche der eine von uns zum Teil mit E. Schunck und M. Nencki für die nahe Verwandtschaft des Blatt- und Blutfarbstoffes geliefert hat, fehlte noch der endgültige Beweis, daß Chlorophyllpyrrol und Hämopyrrol identisch und nicht etwa nur ähnlich sind. Diesen Beweis können wir jetzt erbringen.

Bekanntlich hat der eine von uns eine Reaktion des Hämopyrrols gefunden, welche es ermöglicht, dasselbe sehr leicht von anderen Pyrrolhomologen zu unterscheiden. Diese Reaktion beruht auf der Bildung von äußerst charakteristischen, ausgezeichnet kristallisierenden Azofarbstoffen. Hämopyrrol liefert bei der Kombination mit Benzoldiazoniumchlorid hauptsächlich zwei Produkte, das eine gibt ein Chlorhydrat, welches bei 233° schmilzt, das andere ein solches, dessen Schmelzpunkt bei 268° liegt. Das erstere besitzt eine Zusammensetzung, welche der Formel

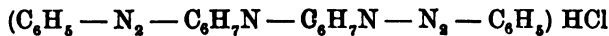


entspricht. Das zweite wurde neuerdings von dem einen von

uns in Gemeinschaft mit Leyko¹⁾ untersucht, wobei sich zeigte, daß seine Zusammensetzung der Formel



entspricht. Wir haben es hier also mit einer neuen Klasse von Azofarbstoffen zu tun, welche durch die Vereinigung zweier Moleküle der Monoazofarbstoffe entstehen. Daß nicht ausschließlich Hämopyrrol zur Bildung derartiger Körper befähigt ist, dafür sprechen Versuche, die der eine von uns gemeinschaftlich mit Robel ausführte und welche zeigten, daß auch α_1 , β_2 Dimethylpyrrol ein Produkt liefern kann, dessen Zusammensetzung der Formel



entspricht.

Es hat sich nun gezeigt, daß das Chlorophyllpyrrol genau dieselben zwei Azofarbstoffe gibt wie Hämopyrrol. Als Rohmaterial zur Darstellung desselben diente ein ein wenig basisches Nebenprodukt, welches aus dem Alkachlorophyll bei der Phyllo-taonindarstellung gewonnen wurde. Die Isolierung des Chlorophyllpyrrols geschah genau nach derselben Methode, welche der eine von uns mit Nencki²⁾ beschrieben hat. Über die Kombinierung derselben mit Benzoldiazoniumchlorid orientieren die früheren Arbeiten über Hämopyrrolazoabkömmlinge.³⁾ Das dort Gesagte kann direkt auf Chlorophyllpyrrol übertragen werden, und wir unterlassen es daher, die Details zu wiederholen. Die Hauptsache ist, daß Chlorophyllpyrrol genau wie Hämopyrrol zwei Produkte mit Benzoldiazoniumchlorid liefert, von denen das eine bei 233°, das zweite bei 268° schmilzt. Die Spektren dieser Farbstoffe entsprechen genau den Absorptionen der entsprechenden Hämopyrrolfarbstoffe und kann auf frühere diesbezügliche Beschreibungen verwiesen werden.

Die Absorptionen im Ultraviolett des Farbstoffes vom Schmp. 268° haben wir diesmal genau gemessen und folgende Ergebnisse erhalten:

¹⁾ Hierüber demnächst ausführlich.

²⁾ Vgl. Marchlewski, Die Chemie der Chlorophylle und ihre Beziehung zur Blutfarbstoffchemie. Braunschweig 1909.

³⁾ Diese Zeitschr. 10, 437, 1908.

Schichtendicke	Band III	Band II	Band I
7 $\frac{1}{2}$ mm	—	399,0—407,0	421,5—425,0
10 „	—	397,0—408,0	418,5—426,5
12 $\frac{1}{2}$ „	377—390,5	395,0—409,5	417,5—427,5
15 „	verwaschen	394,5—410,5	416,0—429,0
17 $\frac{1}{2}$ „	„	393,5—411,0	414,0—430,5

Die Endabsorption beginnt in der Schichtendicke 17,5 mm bei λ 340,0 $\mu\mu$.

Wirkung von Bleihydrosol und Bleiacetat auf den Stoffwechsel.

Von

Luigi Preti.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität Pavia.)

(Eingegangen am 4. September 1909.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ über die in drei Fällen von akuter Bleivergiftung konstatierten Veränderungen des Stickstoffumsatzes wurde auf die widersprechenden Befunde hingewiesen, die von den Forschern erhoben werden, welche den Stoffwechsel bei Bleivergiftung studiert hatten.

Zur Erklärung dieser voneinander abweichenden Ergebnisse wurde unter anderen Möglichkeiten auch auf jene der verschiedenen im Organismus zur Zeit der Beobachtung vorhandenen Bleimenge hingewiesen. Ich hatte nämlich nachgewiesen²⁾, daß das Blei die Eigenschaft besitzt, die Tätigkeit der intracellulären Fermente zu steigern oder zu vermindern, gerade je nachdem es in größerer oder geringerer Menge vorhanden ist.

Eine weitere Ursache kann in dem Umstande gelegen sein, daß derartige Untersuchungen zumeist an Individuen angestellt worden sind, bei denen das Blei Vergiftungserscheinungen hervorgerufen hatte, so daß der Stoffwechsel nicht nur infolge der Einwirkung des Bleies, sondern auch durch die von demselben bewirkten mehr oder weniger schweren Läsionen der Organe gestört war.

Da ein systematisches Studium, das dahin zielt, den Einfluß festzustellen, den das Blei — ohne toxische Gaben zu erreichen — auf den Stoffwechsel an sich ausübt, gegenwärtig noch fehlt, so habe ich versucht, diese Lücke durch vorliegende Untersuchungen teilweise auszufüllen.

¹⁾ Arch. f. klin. Med. 95.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 58 und Compt. rend. de la Soc. de Biol. 65.

Dieselben haben den Zweck, zu untersuchen:

1. den Einfluß, den das Bleihydrosol und Bleisalze (neutrales Bleiacetat) auf den Stickstoffumsatz ausüben;
2. deren Einwirkung auf die quantitativen Verhältnisse der durch die Nieren ausgeschiedenen Stickstoffschlacken zueinander.

Technik.

Als Versuchstiere wurden Hündinnen benutzt, da bei denselben der Katheterismus besser ausführbar ist als bei den Männchen. Den Tieren wurde — um sie stumm zu machen — der *N. recurrens* durchschnitten. Nach vollständiger Vernarbung der Wunde verabreichte ich denselben täglich die gleiche Menge Brot aus Weizen und Roggen, das mit gleichen Mengen warmer Kochsalzlösung eingeweicht wurde.

Nachdem die Tiere eine Zeitlang beständig damit gefüttert waren und der Harnstickstoff in einer Menge ausgeschieden wurde, welche zur Annahme berechnete, daß die Tiere sich im Gleichgewicht befinden, wurde ihnen in die Jugularis 10 ccm einer Bleisalzlösung von bekanntem Titer injiziert. Mit dieser Einspritzung wurde die experimentelle Periode eingeleitet, die 3 bis 4 Tage umfaßte, bis nämlich die Ausscheidung des Harnstickstoffes jener der Vorperiode etwa gleich gekommen war. Hierauf wurde die Beobachtung noch einige Tage lang fortgesetzt und dadurch eine dritte, postexperimentelle bzw. Kontrollperiode geschaffen.

Die Tiere wurden in Käfigen gehalten, die mit zweifachem Boden versehen waren: jener, auf dem das Tier ruhte, bestand aus einem Drahtnetz und diente zum Zurückhalten der Faeces, der darunter liegende, aus Eisenblech trichterförmig gestaltete, diente zum Auffangen des Harns, der in ein untergestelltes Glasgefäß floß.

Alltäglich, um 9 Uhr früh, wurden die Tiere aus den Käfigen genommen, katheterisiert und hierauf sofort gefüttert. Zu Beginn jeder einzelnen Periode wurde ihnen — vor der Fütterung — behufs Erkennung der neuen Periode 0,5 g Carmin in Oblaten verabreicht. Die Faeces beider Perioden wurden in Porzellanschalen aufgefangen, im Wasserbad getrocknet — unter Zusatz von absolutem Alkohol, um das Trocknen zu fördern — sodann zerkleinert, zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank bei 110° und dann im Exsiccator getrocknet und an zwei Proben von bekanntem Gewicht der Stickstoffgehalt bestimmt.

Der durch Katheterisieren gewonnene Harn wurde zum spontan abgelaassenen hinzugesetzt, auf konstantes Volum gebracht und filtriert. Im Filtrat wurden — nach vorheriger Untersuchung desselben auf Eiweiß und Albumose — noch folgende Untersuchungen angestellt:

1. Gesamt-N an je 5 ccm,
2. Harnstoff an 5 ccm nach Mörner-Sjöqvist;
3. Harnsäure-N an 200 ccm nach Salkowski-Ludwig.

Die N-Bestimmung wurde nach Kjeldahl ausgeführt. Die injizierten Flüssigkeiten waren: Bleihydrosol und neutrales, in destilliertem Wasser aufgelöstes essigsaures Blei. Ersteres bereitete ich selbst nach der Methode von Bredig; das dazu benutzte CO_2 -freie H_2O wurde zuerst mit 0,03% dialysierter Gelatine versetzt.

Wegen der geringen Stabilität des Kolloids wurde dasselbe unmittelbar vor seiner Verwendung dargestellt.

Wirkung auf den Stickstoffumsatz.

Wenn man die in den Tabellen angegebenen, den eingeführten bzw. ausgeschiedenen Stickstoff betreffenden Zahlen vergleicht, so ergibt sich, daß das kolloidale Blei bei der ersten Hündin einen täglichen Verlust an Stickstoff von durchschnittlich 0,247 g, bei der zweiten einen solchen von 0,763 g zur Folge hatte. Dieser Verlust wird aber in der postexperimentellen Periode teilweise ausgeglichen durch eine tägliche Retention von durchschnittlich 0,184 g beim ersten Tiere und von 0,302 g beim zweiten.

Der Stickstoffverlust ist beim ersten Tiere durch die stärkere Stickstoffausscheidung von seiten des Nierenfilters bedingt; dieses scheidet nämlich in der Vorbereitungsperiode durchschnittlich 4,4 g Harnstickstoff, in der experimentellen 4,8 g, in der postexperimentellen 4,4 g aus, während der Fäkalstickstoff der experimentellen Periode im Vergleich zu jenem der Vorbereitungsperiode eine schwache Abnahme erfahren hat. Bei der zweiten Hündin wird das Defizit nicht nur durch den Harn-, sondern auch durch den Fäkalstickstoff hervorgerufen; ersterer beträgt im Durchschnitt ungefähr 4,0 g in der experimentellen gegen 3,4 g in der Vorbereitungsperiode; der zweite 0,775 g in ersterer und 0,539 g in letzterer Periode.

Der Ausgleich in der postexperimentellen Periode wurde durch den Harnstickstoff ermöglicht, dessen Ausscheidung bei der ersten Hündin eine geringere war (4,4 g); bei der zweiten aber auch noch durch den Fäkalstickstoff, da hier 0,674 g Fäkalstickstoff und 3,1 g Harnstickstoff ausgeschieden wurden.

Das Bleiacetat hat in ähnlicher Weise gewirkt wie das Bleihydrosol. In der experimentellen Periode erzeugt es einen ungefähr 0,278 g täglich im Durchschnitt betragenden Stickstoffverlust bei der ersten Hündin und von 0,742 g bei der zweiten. Dieses Defizit wird teilweise durch die in der postexperimentellen Periode erfolgende Retention (0,049 g bei der I. Hündin und 0,127 g bei der II.) gedeckt. Die Einbuße ist bei der I. Hündin durch eine stärkere Ausscheidung von Harnstickstoff (4,9 g gegen 4,2 g in der Vorbereitungsperiode) bewirkt; bei der II. Hündin hingegen beteiligt sich auch der Fäkalstickstoff am Verlust, da hier in

der experimentellen Periode 3,9 g N von den Nieren und 0,528 g Stickstoff mit den Faeces, gegen 2,2 und 0,486 g in der Vorbereitungsperiode, ausgeschieden wurden.

Die Retention in der postexperimentellen Periode ergibt sich aus einer geringeren Ausscheidung von Harn- und fäkalem Stickstoff (4,6 g in der I. Periode, 0,7 g in der II. bei Hündin I; 2,150 g und 0,417 bei Hündin II).

Einfluß auf die Verteilung des Harnstickstoffs.

Aus technischen Gründen habe ich die Untersuchung auf die am meisten interessierenden Schlaaken — Harnstoff und Harnsäure — beschränkt. Wichtig ist ersterer wegen seines quantitativen Vorwiegens unter den verschiedenen Harnbestandteilen; letztere lenkt die Aufmerksamkeit auf sich wegen ihres Zusammenhanges mit einer bei Saturnismus nicht seltenen Komplikation: der Bleigicht. Garrod¹⁾, der zuerst auf das häufige Vorkommen der Gicht bei Saturnismus aufmerksam geworden, hatte dieselbe auf eine durch das Blei bedingte geringere Ausscheidung von Harnsäure zurückgeführt. Später hat Bouchard²⁾ bei Untersuchung des Harnes von drei mit akuter Bleivergiftung behafteten Patienten unter anderem auch eine Verminderung der Harnsäure festgestellt; Lüthje³⁾ hingegen, der einem Hunde steigende Mengen — 200 bis 400 mg — von Bleiacetat subcutan eingeführt, gewährte keinerlei quantitative Veränderung der ausgeschiedenen Harnsäure; meine vorjährigen Erfahrungen⁴⁾ in drei Fällen akuter Bleivergiftung stimmen — in bezug auf die Harnsäure — mit den Ergebnissen von Garrod und Bouchard überein: wie diese Autoren habe ich gleichfalls eine bedeutende Abnahme der Harnsäure im Harn festgestellt.

Zieht man nun die bei den vorliegenden Untersuchungen erzielten, aus den Tabellen zu ersehenden Resultate in Betracht, so ergibt sich, daß das injizierte Bleihydrosol zunächst eine Zunahme der Harnstoffausscheidung zur Folge hat, eine Zunahme, die jene des Gesamtstickstoffs nahezu gänzlich deckt und nach Erreichung ihres Maximums parallel mit dieser wieder herabsinkt: die von der Hündin I ausgeschiedene Harnstoffmenge steigt nach der Injektion sofort von 3,4 g auf 4,4 g, um 4 Tage nach derselben wieder auf 3,5 g und noch darunter zu fallen.

Das gleiche tritt nach der Einführung von Bleiacetat ein. Vor der Injektion scheidet Hündin I 3,2 g aus; später steigt die Menge auf 3,9 und 4,3 g und allmählich zeigt sie das Bestreben, wieder herabzusinken, ohne jedoch die Durchschnittszahl der vorhergehenden Periode zu erreichen. Die Hündin II scheidet in der Vorbereitungsperiode 2 g,

1) Zit. nach Lüthje.

2) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1873.

3) Zeitschr. f. klin. Med. 29.

4) Arch. f. klin. Med. 95.

in der experimentellen aber 2,5 g Harnstickstoff aus; die Ausscheidung nimmt in der darauffolgenden Periode wieder ab.

Etwas verschieden und komplizierter sind die die Harnsäure betreffenden Verhältnisse gewesen. Infolge der Hydrosoleinführung bemerkt man bei der Hündin I am ersten und zweiten Tage nach der Injektion eine Zunahme der Harnsäure von 37,17 auf 50,10 mg; auch in der postexperimentellen Periode besteht eine schwach gesteigerte Ausscheidung, so daß sich hier eine Durchschnittszahl von 51 mg gegen 37 mg der Vorperiode ergibt. Das nämliche ist bei der Hündin II eingetreten, nur mit dem Unterschiede, daß die stärkere Ausscheidung anstatt am zweiten, am dritten Tage nach der Injektion erfolgt; in dieser letzteren zeigt aber die weitere Ausscheidung das Bestreben, bis zu Werten herabzusinken, die jenen der Vorbereitungsperiode fast gleichkommen.

Die nach der Injektion von Bleiacetat eintretenden Erscheinungen sind wiederum abweichend. In der experimentellen Periode zeigt sich bei Hündin I eine — allerdings fast unmerkliche — Abnahme der Harnsäure (von der täglichen Durchschnittszahl 56,76 mg in der Vorbereitungsperiode gelangt man zu 53 mg in der experimentellen); am 4., 5. und 6. Tage nach der Injektion aber findet eine stärkere Ausscheidung statt (164, 123,96 mg), die dann allmählich auf 66,29 mg herabsinkt. Das gleiche geschieht — wenn auch in bescheidenerem Maße — bei Hündin II. Die tägliche Ausscheidung beträgt in der Vorbereitungsperiode durchschnittlich 27 mg; in der experimentellen Periode fällt dieselbe auf 25 mg, und später — 5 bzw. 7 Tage nach der Injektion — steigt sie dagegen auf 58,47 mg.

* * *

Zusammenfassend sehen wir, daß die Einführung von Bleihydrosol und Bleiacetat — in nicht toxischen Mengen — den Stickstoffumsatz fördert, indem durch dieselbe eine stärkere N-Ausscheidung bzw. ein Defizit der N-Bilanz bedingt wird. Der Verlust wird in den nächstfolgenden Tagen teilweise ausgeglichen. Die Harnstoffausscheidung ist vermehrt. Die Einwirkung auf die Harnsäure ist eine minder entschiedene und gleichmäßige. Im ganzen erfährt auch die Ausscheidung dieser letzteren eine Zunahme; dieselbe ist eine ziemlich unmittelbare bei Anwendung von Hydrosol, eine verzögerte hingegen bei Anwendung des Bleisalzes. Der Zunahme folgen Perioden von verminderter Ausscheidung, im Falle einer Verzögerung gehen solche Perioden der Zunahme voran.

Ein unmittelbarer Vergleich zwischen den soeben mitgeteilten Resultaten und den von anderen Autoren erzielten dürfte mit Rücksicht auf die zu große Verschiedenheit der Versuchsbedingungen wohl kaum zulässig erscheinen.

Doch bin ich der Ansicht, daß die durch vorliegende Untersuchung sicher gestellte Erscheinung, daß nämlich das Blei einen Stickstoffverlust zur Folge hat, auf den nach aufgehörter Einführung des Metalls eine Kompensationsperiode mit verminderter Ausscheidung folgt, sowie die damit einhergehenden starken Schwankungen des Harnstoffes und der Harnsäure dazu beitragen dürften, die anscheinend voneinander so abweichenden einschlägigen Literaturangaben zu erklären. Denn zwischen der von Goetze¹⁾ beobachteten stärkeren N- und Harnstoffausscheidung, und der geringeren von Bucco²⁾, Surmont und Brunelle³⁾, Bouchard⁴⁾ nachgewiesenen, sowie der von mir in den drei im vorigen Jahre illustrierten Fällen⁴⁾ beobachteten Retention und schließlich der von Garrod⁴⁾ und Bouchard⁴⁾ im Gegensatz zu Lüthjes⁴⁾ Befunden wahrgenommenen Harnsäureretention besteht im Grunde genommen kein Widerspruch; die Sache läßt sich vielleicht durch die verschiedenen Stadien erklären, die den Autoren zur Beobachtung gekommen.

Es mag jedoch wohl sein, daß eine solche Deutung sich nur für einen Teil der Fälle eignet, während in anderen derselben auch noch andere Faktoren des Stoffwechsels hierbei maßgebend mitspielen, die eingangs angedeutet wurden. Die Fälle sind stets einzeln zu untersuchen und zu begutachten, und stets ist hierbei der Umstand zu berücksichtigen, daß die Beschleunigung des Stickstoffumsatzes sowie die durch vorliegende Untersuchungen illustrierte ausgleichende Retention außerhalb einer jeden wahrnehmbaren toxischen Manifestation stattfinden.

1) Verh. d. Würzb. Ges. 22, 1893.

2) Malys Jahresber. d. Tierch. 1900.

3) Arch. génér. de Méd. 1894.

4) l. c.

Tabelle I (Hündin I).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N.-Einfuhr g	Faeces		N pro die g	Harn		Gesamt-N.-Ausfuhr g	N-Bilanz g		Harnstoff-N		Harnsäure mg	Körpergewicht kg
			Menge getrocknet g	N g		Menge com	Ges.-N g		g	g	g	mg		
9.-10. März		5,380				900	4,570	5,432	-0,052	3,650	12,50	37,50	13,10	
10.-11. "			77,26	3,449	0,862	998	4,577	5,419	-0,039	3,530	13,34	40,02		
11.-12. "						1087	4,474	5,336	+0,044	3,480	11,75	35,24		
12.-13. "						1062	4,280	5,142	+0,238	3,200	12,00	36,00		
	Mittelwerte:	5,380			0,862		4,470	5,332	-0,048	3,465	12,39	37,19		
13.-14. März	13. März 9 Uhr vorm.	5,380				987	4,942	5,719	-0,339	4,430	16,72	50,18	13,15	
14.-15. "	10 com Pb-Hydrosoel		71,92	3,108	0,777	938	4,857	5,634	-0,254	4,390	36,06	106,20		
15.-16. "	intrav. = 1,2 mg Pb					1000	4,885	5,662	-0,282	4,413	16,60	49,80		
16.-17. "						990	4,717	5,494	-0,114	4,212	18,62	56,88		
	Mittelwerte:	5,380			0,777		4,850	5,627	-0,247	4,361	21,75	65,26		
17.-18. März		5,380											12,95	
18.-19. "						990	4,585	5,463	-0,083	—	—	—	—	
19.-20. "						950	4,473	5,351	+0,029	3,484	16,76	50,29		
20.-21. "						998	4,373	5,251	+0,129	3,223	13,14	39,43		
21.-22. "			174,22	7,901	0,878	1000	4,514	5,392	-0,012	3,329	15,01	45,04		
22.-23. "						980	4,270	5,148	+0,248	3,325	21,92	66,77		
23.-24. "						980	4,429	5,307	+0,073	3,450	13,69	41,08		
24.-25. "						1000	4,285	5,163	+0,217	—	—	—	—	
25.-26. "										—	—	—	13,00	
	Mittelwerte:	5,380			0,878		4,418	5,296	+0,184	3,376	17,15	51,46		

Tabelle II (Hündin I).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N.-Ein- fuhr g	Faeces		N pro die g	Harn		Ge- samt-N- Ausfuhr g	N-Bilanz g	Harn- stoff-N g	Harnsäure		Körper- gewicht kg
			Menge ge- trocknet g	N g		Menge ccm	Ges.-N g				N mg	mg	
20.—21. April		5,380											13,15
21.—22. "						820	4,305	5,337	+ 0,043	3,397	13,57	40,71	
22.—23. "						1080	4,552	5,584	- 0,204	3,830	25,68	77,04	
23.—24. "						800	4,183	5,215	+ 0,165	3,045	16,56	49,08	
24.—25. "			220,12	9,291	1,032	860	4,157	5,189	+ 0,191	2,908	18,76	56,28	
25.—26. "						920	4,157	5,189	+ 0,191	3,029	22,04	66,14	
26.—27. "						900	4,352	5,384	- 0,004	3,150	23,82	71,46	
27.—28. "						720	4,289	5,321	+ 0,059	3,115	11,91	35,74	
28.—29. "													13,10
	Mittelwerte:	5,380			1,032		4,285	5,316	+ 0,064	3,210	18,90	56,72	
29.—30. April		5,380				1100	5,121	5,852	- 0,472	3,990	12,75	38,25	
30. Apr.—1. Mai	29. April 9 Uhr vorm. 10 ccm essigsäures Pb		61,67	2,926	0,731	1050	5,392	6,123	- 0,743	4,320	17,48	52,44	
1.—2. Mai	" " $\frac{n}{200} = 10$ mg Pb					1030	4,478	5,209	+ 0,171	4,100	21,50	64,51	
2.—3. "						920	4,717	5,448	- 0,068	3,987	18,93	56,80	13,00
	Mittelwerte:	5,380			0,731		4,927	5,858	- 0,278	3,849	17,67	53,00	
3.—4. Mai		5,380				940	4,633	5,347	+ 0,033	3,721	54,99	164,97	
4.—5. "						1105	4,582	5,296	+ 0,084	3,610	41,12	123,36	
5.—6. "						1030	4,787	5,501	- 0,121	3,803	32,02	98,08	
6.—7. "			107,87	4,988	0,714	1010	4,603	5,317	+ 0,063	3,521	22,31	60,93	
7.—8. "						800	4,352	5,066	+ 0,314	3,700	9,70	29,12	
8.—9. "						870	4,742	5,456	- 0,076	3,850	11,37	34,11	
9.—10. "						910	4,629	5,343	+ 0,037	3,543	13,77	41,31	13,16
	Mittelwerte:	5,380			0,714		4,618	5,331	+ 0,049	3,678	26,46	79,40	

Tabelle III (Hündin II).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N.-Einfuhr g	Faeces		Harn		Gesamt-N.-Ansfuhr g	N-Bilanz g	Harnstoff-N g	Harnsäure		Körpergewicht kg
			Menge getrocknet g	N g	Menge com g	Ges.-N g				N mg	mg	
5.—6. Febr.		4,035			700	3,481	4,020	+ 0,015	3,144	17,30	52,00	6,5
6.—7. "					730	3,487	4,026	+ 0,009	3,132	16,05	48,15	
7.—8. "			2,695	0,539	690	3,422	3,961	+ 0,064	3,024	13,53	41,60	
8.—9. "					875	3,510	4,049	- 0,014	3,225	20,81	62,45	
9.—10. "					900	3,425	3,964	+ 0,071	3,048	—	—	
	Mittelwerte:	4,035		0,539		3,465	4,004	+ 0,031	3,114	16,92	51,05	
10.—11. Febr.	10. Febr. 9 Uhr vorm.	4,035			930	4,391	5,166	- 1,131	3,880	—	—	6,3
11.—12. "	10 com Pb-Hydrosool				950	4,318	5,088	- 1,053	3,915	18,34	55,03	
12.—13. "	intrav. = 1,9 mg Pb		3,876	0,775	980	3,994	4,729	- 0,694	3,870	44,25	132,75	
13.—14. "					890	3,706	4,481	- 0,446	3,300	21,73	65,20	
14.—15. "					870	3,750	4,525	- 0,490	3,250	16,05	48,15	
	Mittelwerte:	4,035		0,775		4,002	4,795	- 0,763	3,643	25,09	75,28	
15.—16. Febr.		4,035			850	3,088	3,762	+ 0,273	2,985	16,36	49,10	6,4
16.—17. "					845	3,257	3,931	+ 0,104	3,028	17,27	51,82	
17.—18. "			3,369	0,674	750	2,695	3,339	+ 0,666	2,320	19,73	59,20	
18.—19. "					940	3,562	4,236	- 0,201	3,100	21,95	65,87	
19.—20. "					980	3,222	2,896	+ 0,139	2,987	20,13	60,40	
	Mittelwerte:	4,035		0,674		3,165	3,833	+ 0,202	2,885	19,09	57,29	

Tabelle IV (Hündin II).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N.-Einfuhr g	Faeces		N pro die g	Harn		Gesamt-N-Ansfuhr g	N-Bilanz g	Harnstoff-N g	Harnsäure		Körpergewicht kg
			Menge getrocknet g	N g		Menge ccm	Ges.-N g				N mg	mg	
30.—31. März		2,690	47,77	2,917	0,486	875	2,292	2,778	- 0,088	1,998	4,90	14,72	6,5
31. März-1. Ap.	790					2,267	2,753	- 0,063	2,105	10,74	32,22		
1.—2. April	890					2,227	2,713	- 0,023	2,085	10,89	32,67		
2.—3. "	985					2,111	2,597	+ 0,093	1,948	7,20	21,60		
3.—4. "	900					2,127	2,613	+ 0,077	1,950	11,10	33,32		
4.—5. "	850	2,186	2,672	+ 0,018	2,004	9,57	28,73	6,4					
	Mittelwerte:	2,690			0,486	2,201	2,686	+ 0,004	2,015	9,07	27,21		
5.—6. April	5. April 9 Uhr vorm.	2,690	38,69	2,112	0,528	900	3,060	3,588	- 0,898	2,827	4,55	13,67	6,1
6.—7. "	10 com essigsäures					980	2,923	3,451	- 0,761	2,530	4,40	13,20	
7.—8. "	Blei $\frac{n}{200}$ intrav.					950	3,077	3,605	- 0,915	2,912	8,95	26,86	
8.—9. "	= 10 mg Pb					980	2,555	3,083	- 0,393	2,115	16,15	48,45	
	Mittelwerte:	2,690			0,528	2,904	3,432	- 0,742	2,596	8,51	25,54		
9.—10. April		2,690	43,69	2,085	0,417	900	2,573	2,990	- 0,300	1,695	19,39	58,17	6,3
10.—11. "						740	1,938	2,335	+ 0,335	1,738	6,36	19,10	
11.—12. "						600	2,057	2,674	+ 0,216	1,900	15,71	47,15	
12.—13. "						645	1,904	2,321	+ 0,369	1,703	3,85	11,55	
13.—14. "		800	2,278	2,695	+ 0,005	1,948	3,55	10,64	9,77	29,32			
	Mittelwerte:	2,690			0,417	2,150	2,563	+ 0,127	1,796	9,77	29,32		

Autorenverzeichnis.

- Adler, Oskar. Über Alkaptonurie. S. 5.
- Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XIII. S. 76. — — Desgl. XIV. S. 355.
- Battelli, F. und L. Stern. Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben. S. 487.
- Benzur, J., siehe Wohlgemuth und Benzur.
- Bielecki, Jan. Zur Kenntnis des Einflusses der Salze auf die Dialyse der Peroxydase. I. S. 103.
- Bloch, Ernst. Über die Unabhängigkeit der autolytischen Eiweißspaltung von der Anwesenheit des Blutes. S. 519.
- Ehrmann, R. und J. Wohlgemuth. Untersuchungen über die Diastasen. IV. S. 423.
- Eisler, M. v. und L. v. Portheim. Über die Beeinflussung der Giftwirkung des Chinins auf *Elodea canadensis* durch Salze. S. 59.
- Fränkel, Sigmund. Über Lipide. VII. S. 321. — — Desgl. VIII. S. 337.
- Glikin, W. Zur biologischen Bedeutung des Lecithins. III. S. 348.
- Hannes, B. und A. Jodlbauer. Versuche über den Einfluß der Temperatur bei der photodynamischen Wirkung und der einfachen Lichtwirkung auf Invertase. S. 110.
- Hausmann, Walther und L. v. Portheim. Die photodynamische Wirkung der Auszüge etiologischer Pflanzenteile. S. 51.
- Hildebrandt, Hermann. Oxydation des Borneolglykosides auf biochemischem Wege. S. 1.
- Izar, Guido. Über die Wirkung des Arsens auf die Autolyse. S. 46.
- Jodlbauer, A., siehe Hannes und Jodlbauer.
- Landolf, F., Über Vorkommen verschiedener Harnzucker und die Beteiligung bestimmter Organe an deren Auftreten. S. 108.
- Loewenthal, S. und J. Wohlgemuth. Untersuchungen über die Diastasen. VIII. S. 476.
- Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. IV. S. 523. — — Desgl. V. S. 548.
- Michaelis, Leonor, siehe Rona und Michaelis.
- Morgenroth, J. und P. Schäfer. Zur Kenntnis der hämolytischen Organextrakte. S. 305.
- Muir, R. Über die Hitzebeständigkeit der Blutkörperchenrezeptoren. S. 510.
- Oehler, G. Zur Frage des Vorkommens von Glykokoll im normalen menschlichen Harn. S. 484.
- v. Portheim, L., siehe v. Eisler und v. Portheim; siehe Hausmann und v. Portheim.
- Preti, Luigi. Wirkung von Bleihydrosol und Bleiacetat auf den Stoffwechsel. S. 551.
- Rona, Peter und Leonor Michaelis. Über den Zustand des Calciums in der Milch. I. S. 114.
- Schäfer, P., siehe Morgenroth und Schäfer.
- Sittig, Otto. Über Kohlenhydrate in pathologischen Körperflüssigkeiten mit Berücksichtigung der Frage des Rest-Stickstoffs. S. 14.

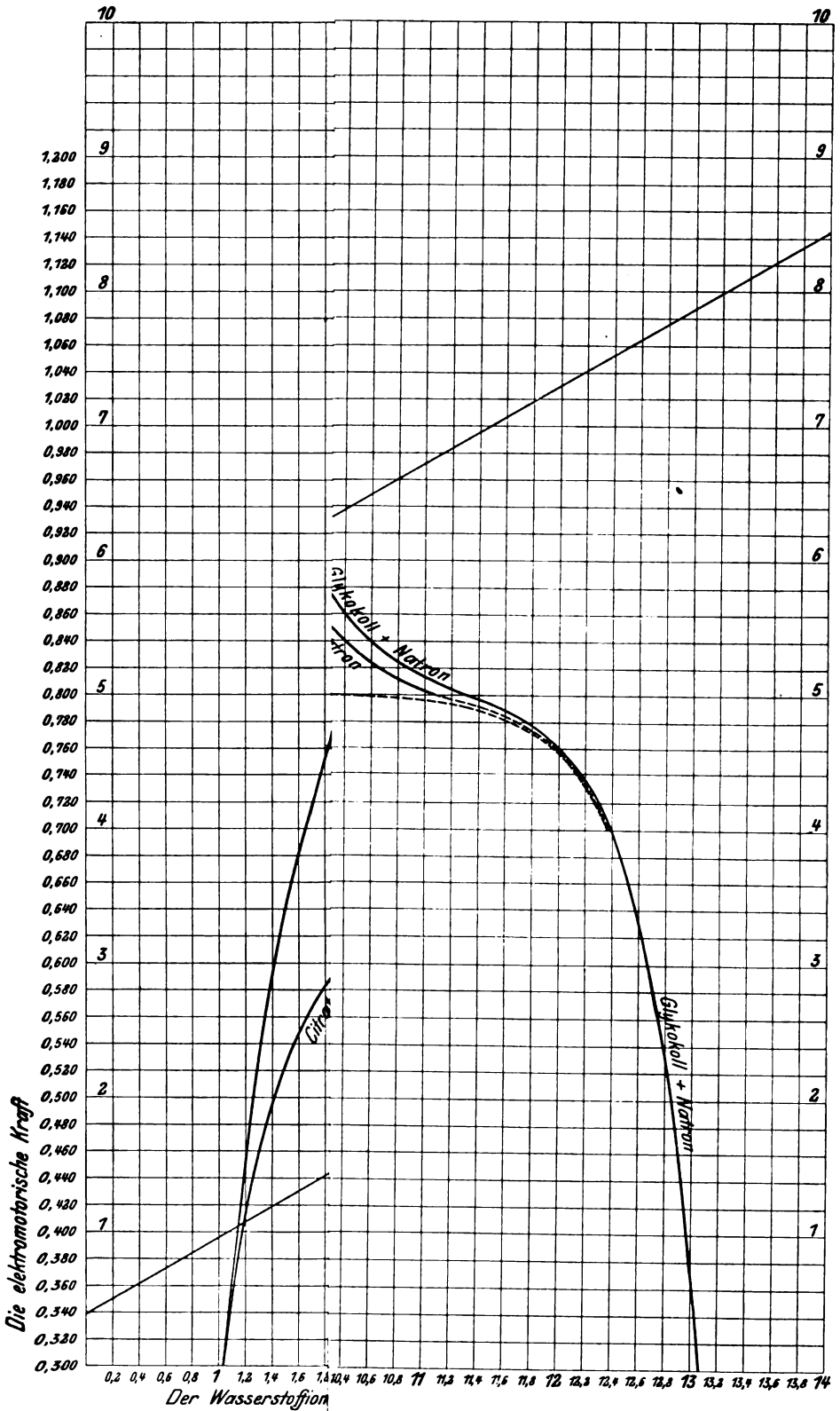
- | | |
|---|---|
| Sörensen, S. P. L. Enzymstudien.
II. S. 131. | Wohlgemuth, J. Untersuchungen
über die Diastasen. III. S. 381. |
| — — Desgl. II (Fortsetzung). S. 201. | — — Desgl. V. S. 432. |
| Ssadikow, W. S. Über die Oxal-
säurebildung aus den Kollainen.
S. 35. | — — Desgl. VI. S. 447. |
| Stern, L., siehe Battelli und Stern. | — — und J. Benzur. Desgl. VII.
S. 460. |
| Velden, R. von den. Weitere
Beiträge zur Jodverteilung. S. 123. | — — siehe Ehrmann und Wohl-
gemuth. |
| | — — siehe Loewenthal und Wohl-
gemuth. |

Berichtigung.

Bd. 19 S. 84 Fußnote 1 lies:

„Münchner“ statt „Deutsche“.

Dasselbe S. 122 in der Tabelle bei Versuch 5 die Worte „etwas alkoholhaltig“ zu streichen.



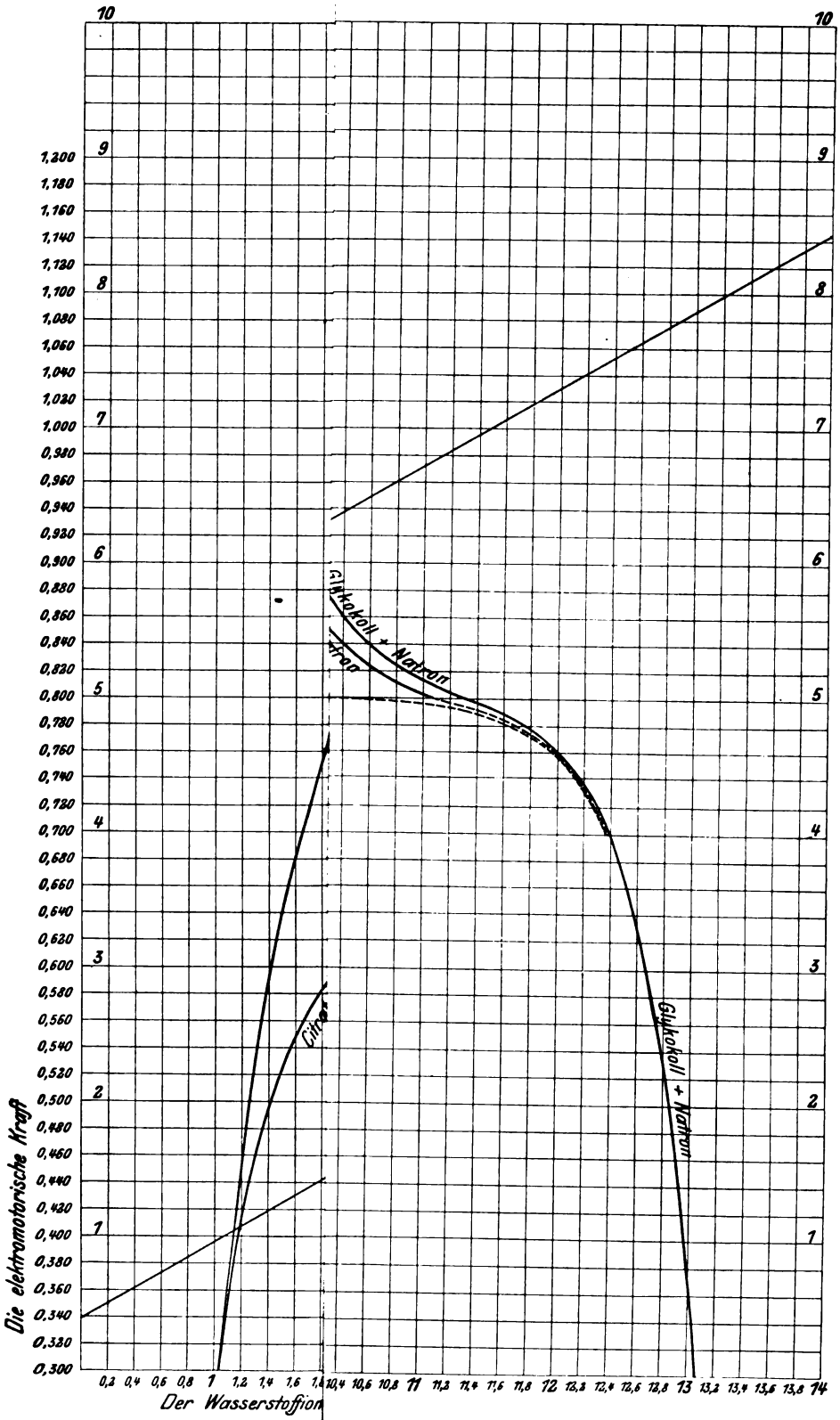
- | | |
|---|---|
| Sörensen, S. P. L. Enzymstudien.
II. S. 131. | Wohlgemuth, J. Untersuchungen
über die Diastasen. III. S. 381. |
| — — Desgl. II (Fortsetzung). S. 201. | — — Desgl. V. S. 432. |
| Ssadikow, W. S. Über die Oxal-
säurebildung aus den Kollainen.
S. 35. | — — Desgl. VI. S. 447. |
| Stern, L., siehe Battelli und Stern. | — — und J. Benzur. Desgl. VII.
S. 460. |
| Velden, R. von den. Weitere
Beiträge zur Jodverteilung. S. 123. | — — siehe Ehrmann und Wohl-
gemuth. |
| | — — siehe Loewenthal und Wohl-
gemuth. |

Berichtigung.

Bd. 19 S. 84 Fußnote 1 lies:

„Münchner“ statt „Deutsche“.

Dasselbst S. 122 in der Tabelle bei Versuch 5 die Worte „etwas alkoholhaltig“ zu streichen.



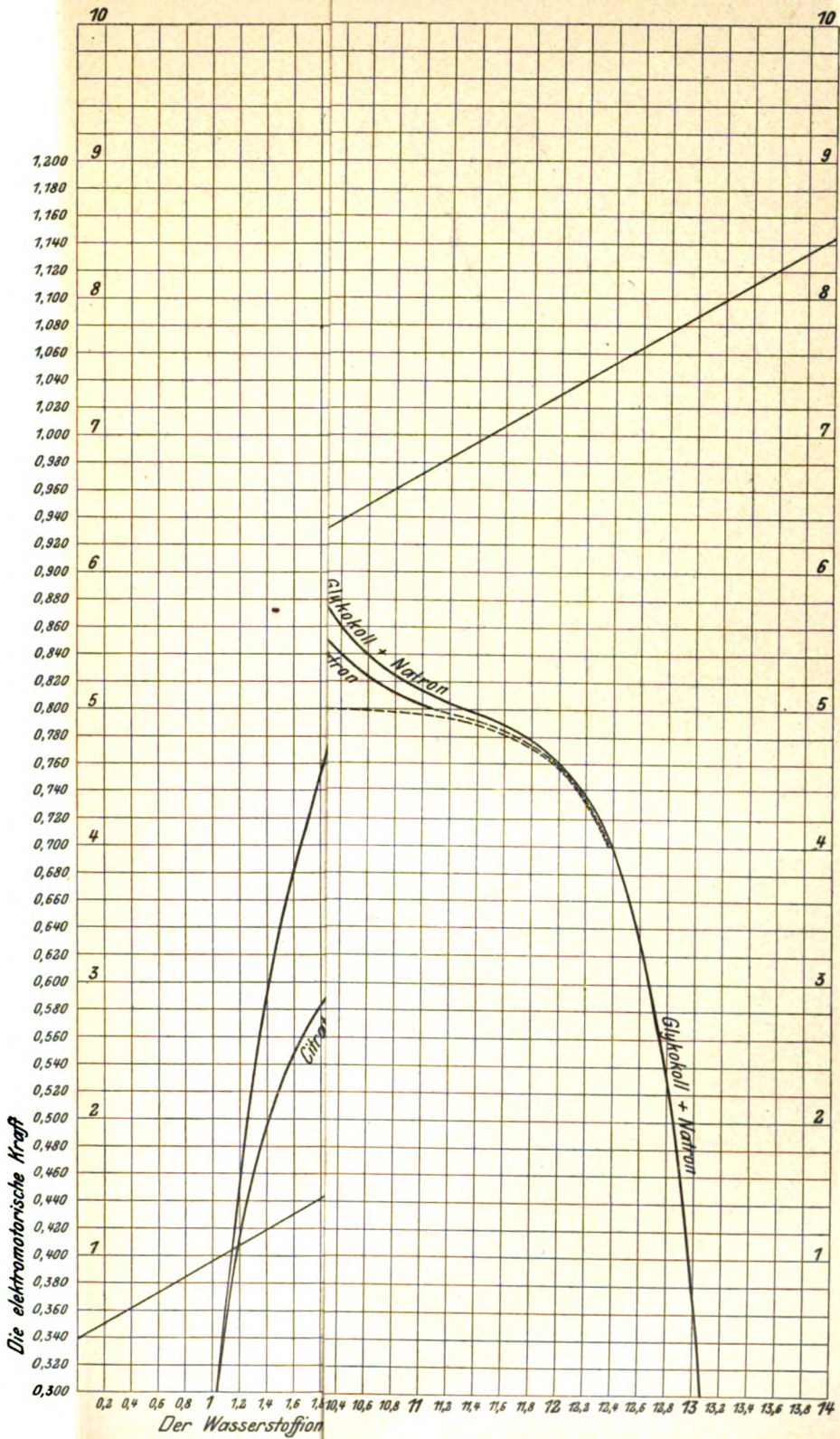
- | | |
|---|---|
| Sörensen, S. P. L. Enzymstudien.
II. S. 131. | Wohlgemuth, J. Untersuchungen
über die Diastasen. III. S. 381. |
| — — Desgl. II (Fortsetzung). S. 201. | — — Desgl. V. S. 432. |
| Ssadikow, W. S. Über die Oxal-
säurebildung aus den Kollainen.
S. 35. | — — Desgl. VI. S. 447. |
| Stern, L., siehe Battelli und Stern. | — — und J. Benzur. Desgl. VII.
S. 460. |
| Velden, R. von den. Weitere
Beiträge zur Jodverteilung. S. 123. | — — siehe Ehrmann und Wohl-
gemuth. |
| | — — siehe Loewenthal und Wohl-
gemuth. |

Berichtigung.

Bd. 19 S. 84 Fußnote 1 lies:

„Münchner“ statt „Deutsche“.

Daselbst S. 122 in der Tabelle bei Versuch 5 die Worte „etwas alkoholhaltig“ zu streichen.



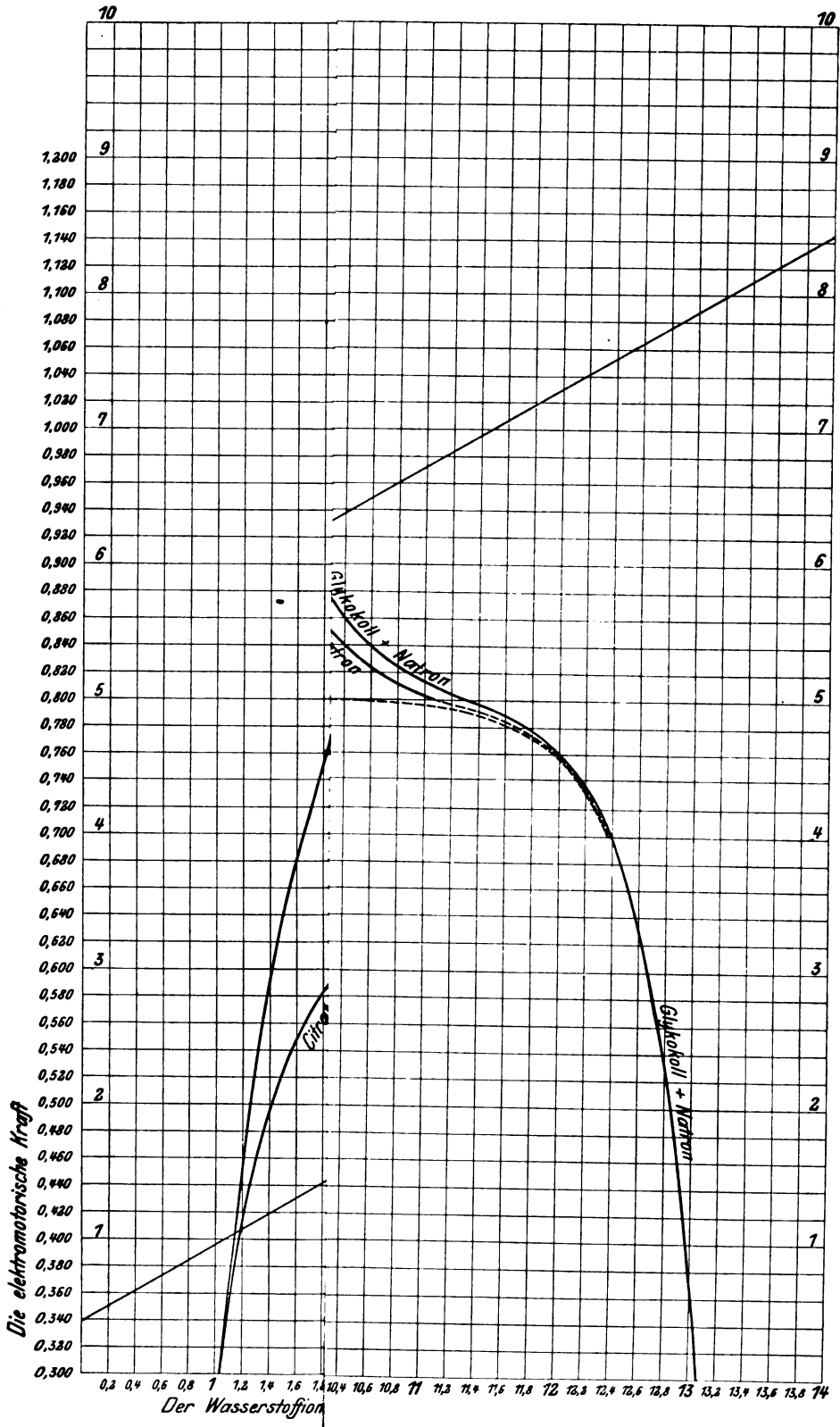
- | | |
|---|---|
| Sörensen, S. P. L. Enzymstudien.
II. S. 131. | Wohlgemuth, J. Untersuchungen
über die Diastasen. III. S. 381. |
| — — Desgl. II (Fortsetzung). S. 201. | — — Desgl. V. S. 432. |
| Ssadikow, W. S. Über die Oxal-
säurebildung aus den Kollainen.
S. 35. | — — Desgl. VI. S. 447. |
| Stern, L., siehe Battelli und Stern. | — — und J. Benzur. Desgl. VII.
S. 460. |
| Velden, R. von den. Weitere
Beiträge zur Jodverteilung. S. 123. | — — siehe Ehrmann und Wohl-
gemuth. |
| | — — siehe Loewenthal und Wohl-
gemuth. |

Berichtigung.

Bd. 19 S. 84 Fußnote 1 lies:

„Münchner“ statt „Deutsche“.

Daselbst S. 122 in der Tabelle bei Versuch 5 die Worte „etwas alkoholhaltig“ zu streichen.



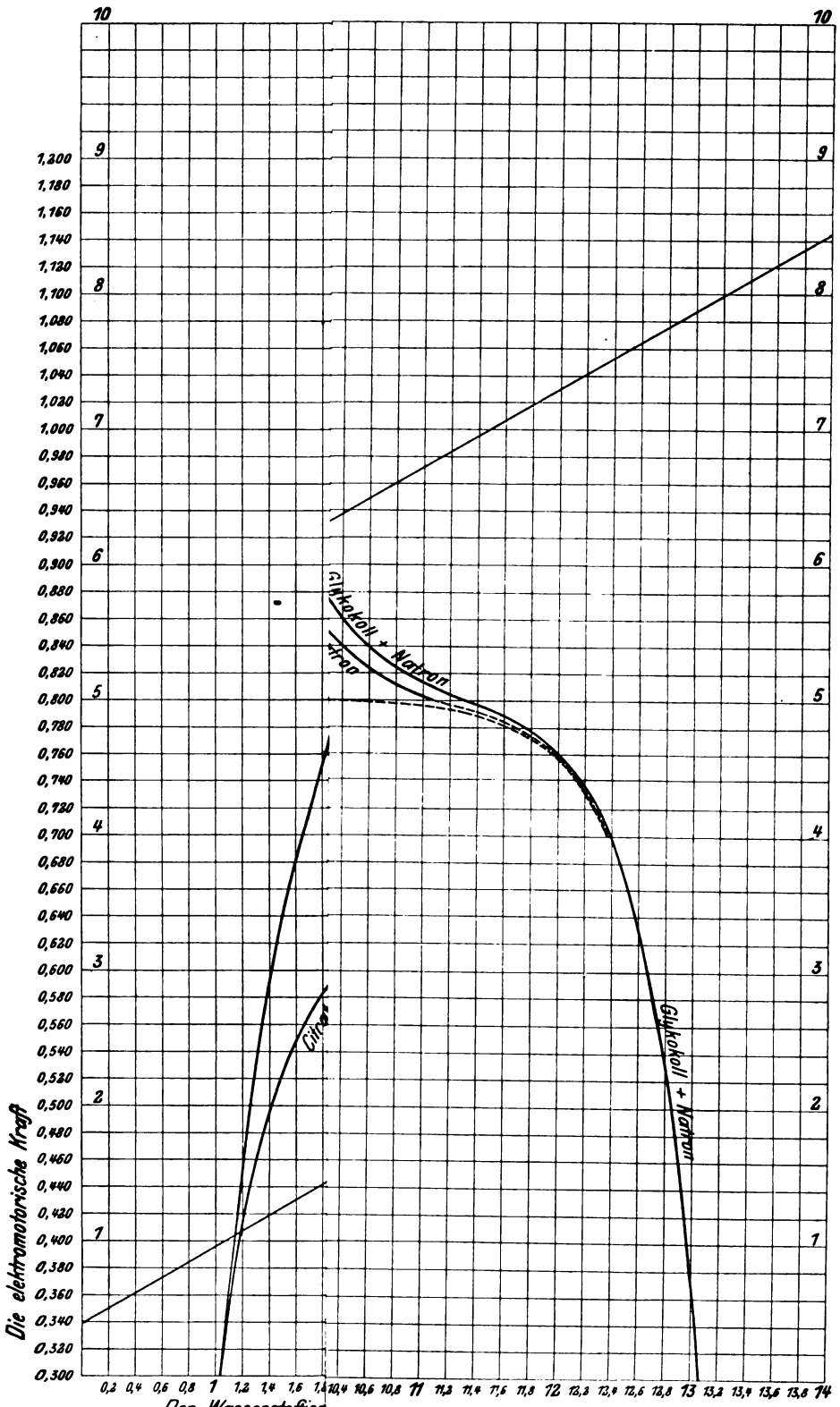
- | | |
|--|---|
| <p>Sörensen, S. P. L. Enzymstudien. II. S. 131.
 — — Desgl. II (Fortsetzung). S. 201.
 Ssadikow, W. S. Über die Oxal-
 säurebildung aus den Kollainen.
 S. 35.
 Stern, L., siehe Battelli und Stern.
 Velden, R. von den. Weitere
 Beiträge zur Jodverteilung. S. 123.</p> | <p>Wohlgemuth, J. Untersuchungen
 über die Diastasen. III. S. 381.
 — — Desgl. V. S. 432.
 — — Desgl. VI. S. 447.
 — — und J. Benzur. Desgl. VII.
 S. 460.
 — — siehe Ehrmann und Wohl-
 gemuth.
 — — siehe Loewenthal und Wohl-
 gemuth.</p> |
|--|---|

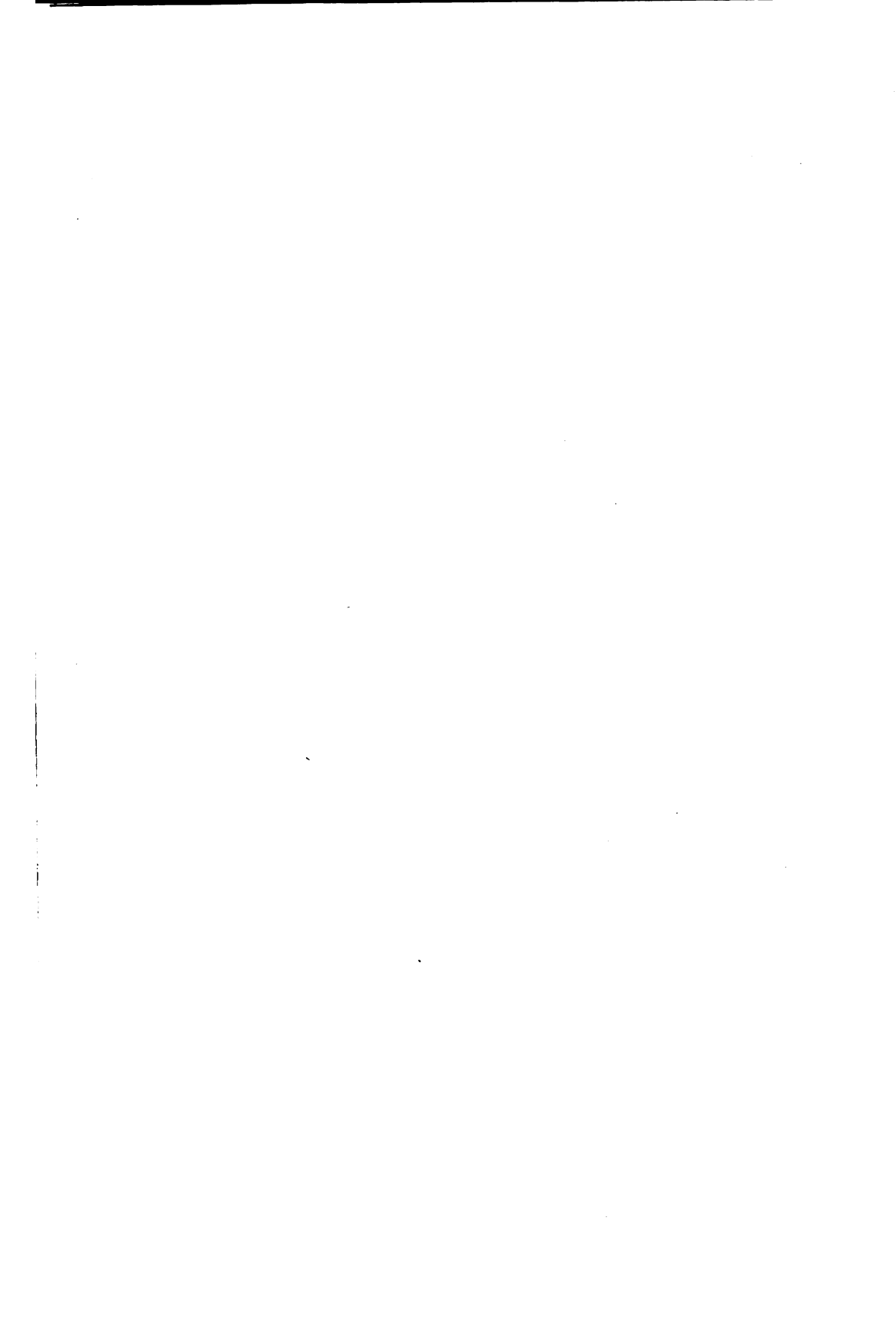
Berichtigung.

Bd. 19 S. 84 Fußnote 1 lies:

„Münchner“ statt „Deutsche“.

Daselbst S. 122 in der Tabelle bei Versuch 5 die Worte „etwas
 alkoholhaltig“ zu streichen.





1

PERIODICAL

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

RENEWED BOOKS ARE SUBJECT TO
IMMEDIATE RECALL

Library, University of California, Davis

Series 458A

61872

QP501

Biochemische zeitschrift.

B54

v.21

Biochemische zeitschrift

QP501

B54

v.21

PERIODICAL

61872

