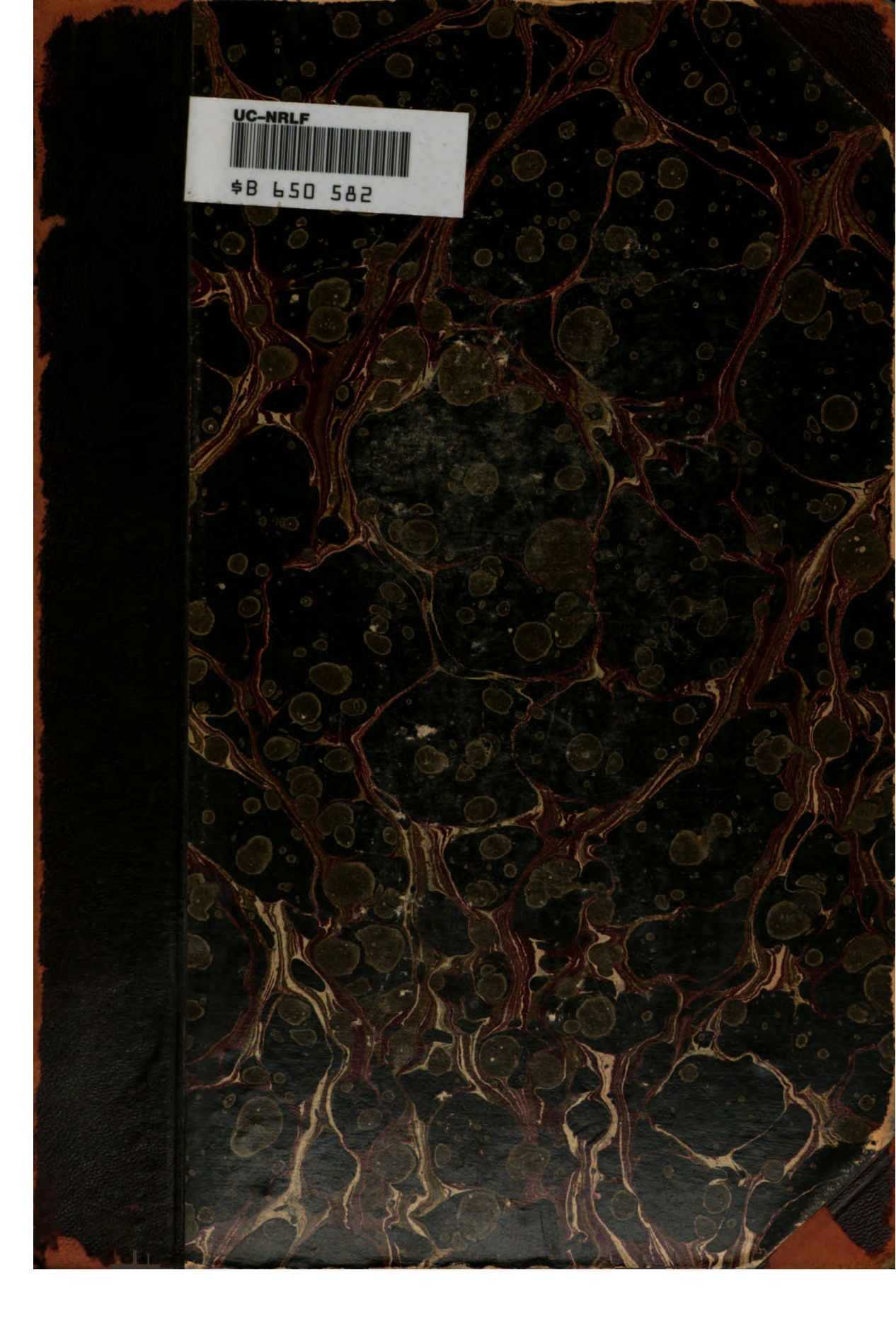


UC-NRLF

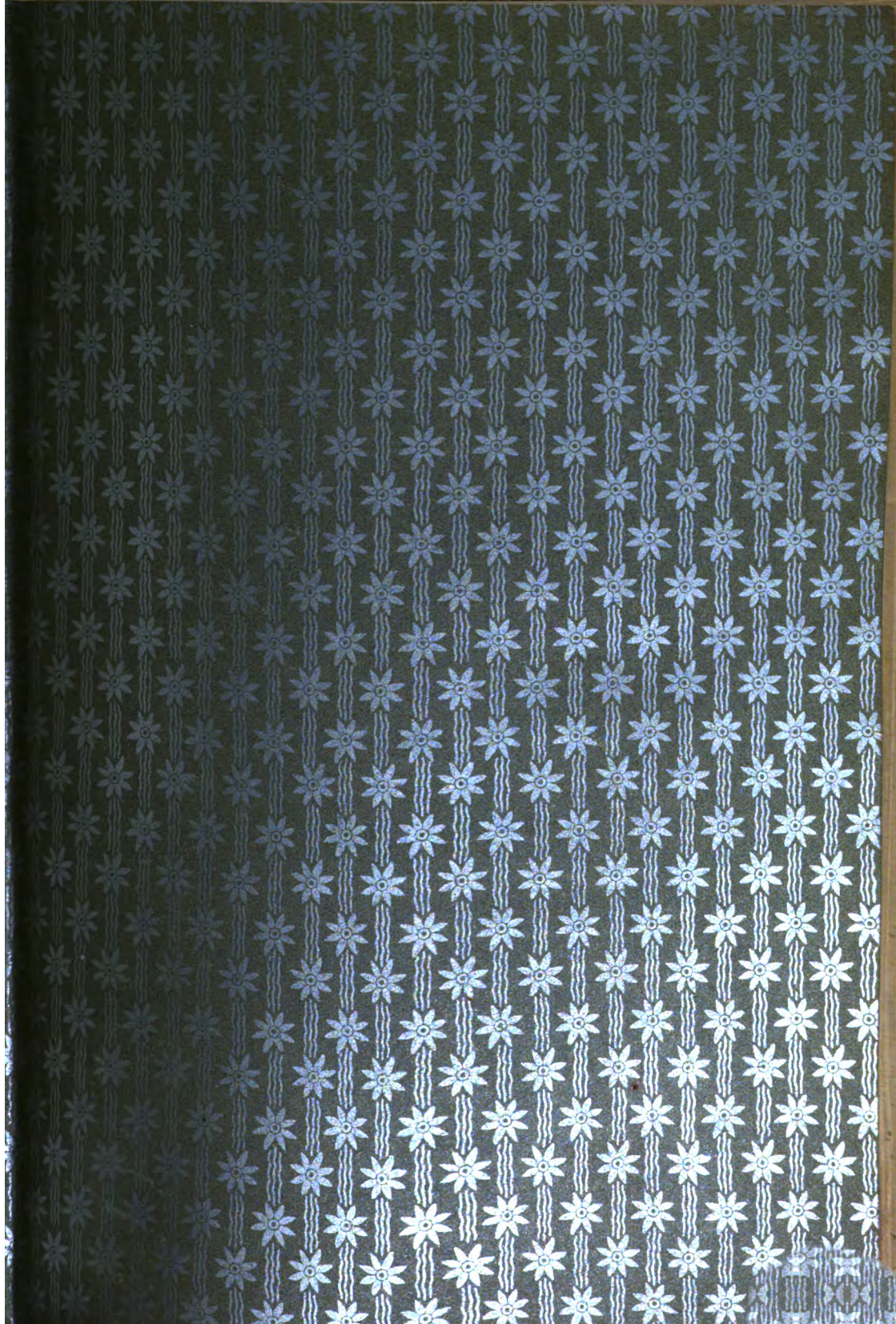


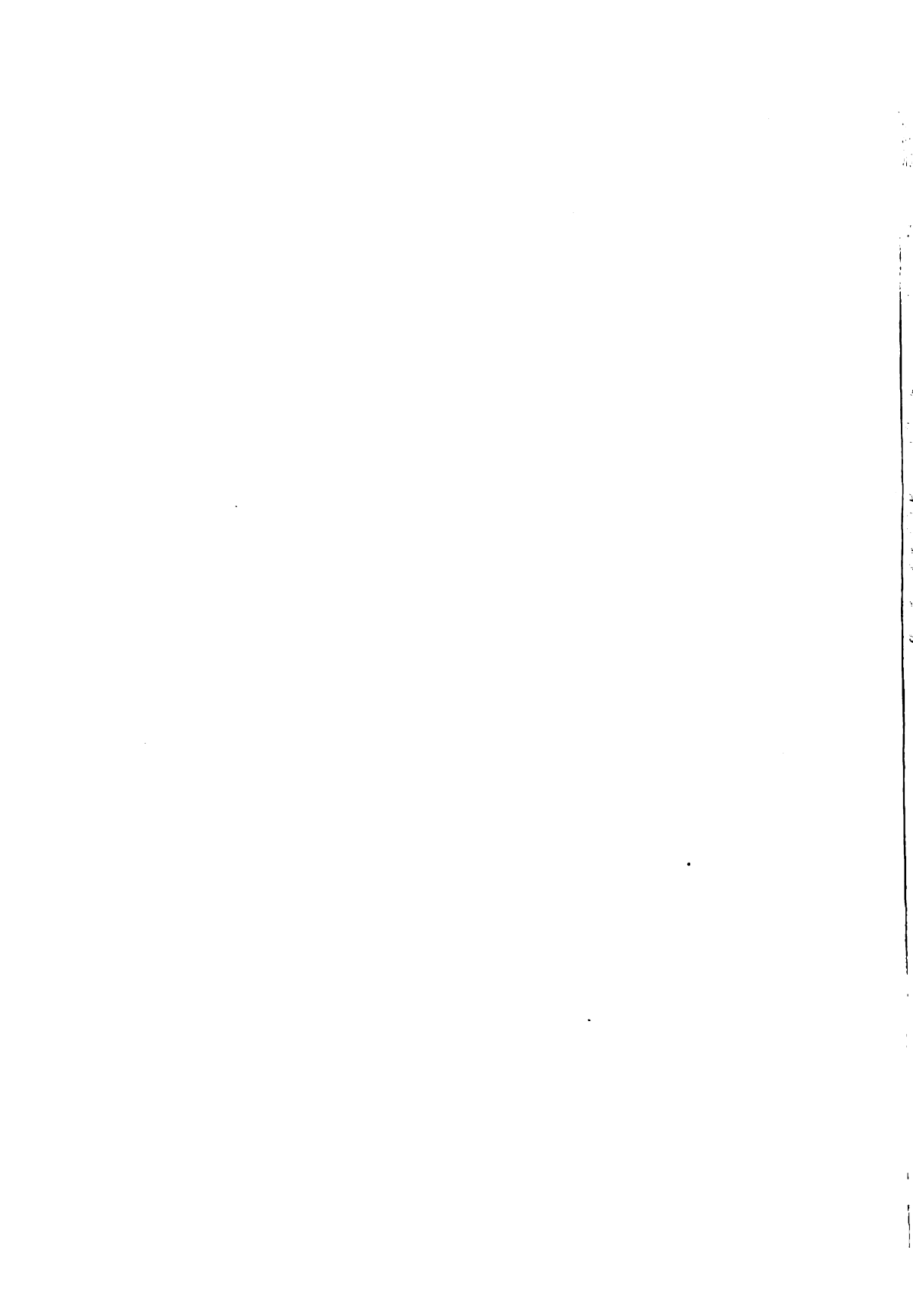
QB 650 582





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. Bohr-Kopenhagen, A. Benanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Heidelberg, A.
Durrig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-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. Heart-Paris,
W. Heubner-Göttingen, B. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, B. Kobert-Rostock, M.
Kumagawa-Tokio, F. Landolf-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,
J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W.
Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, E. Pfeffer-Breslau,
E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Prag, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rosa-Berlin,
S. Salskin-St. Petersburg, N. Steiner-St. Petersburg, M. Stegried-Leipzig, Zd. H. Skraup-
Wien, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, F.
Tangi-Budapest, H. v. Tappeler-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg,
A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgenuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zweiundzwanzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1909.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Buglia, G. Hängt die Resorption von der Oberflächenspannung der resorbierten Flüssigkeit ab?	1
Erakim, J. Trypsinogen und Enterokinase beim menschlichen Neugeborenen und Embryo	24
Schütz, Julius. Über den Einfluß der Pepsin- und Salzsäuremengen auf die Intensität der Verdauung, speziell bei Abwesenheit „freier“ Salzsäure	33
Lehndörfer, Alfred. Über die Gasspannung in der Lunge, bei der zwingend ein neuer Atemzug ausgelöst wird	45
Peggenspehl, S. von. Über die Bindungsweise hämolytischer Amboceptoren	64
Burri, R. und Ths. Nusbaumer. Über Oberflächenspannungs- und Viscositätsbestimmungen bei Kuhmilch unter Verwendung des Traubeschen Stalagmometers	90
Löh, Walther. Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen. VI.	108
Ceminetti, Luigi. Über das Vorhandensein der Pentosen im Harn des Menschen und der Tiere	106
Dietrich, M. Über phosphorhaltige Caseinpeptide	120
Krauß, Ludwig. Die Jodsäurereaktion des Adrenalin	131
Krogh, Ments L. v. Ein Versuch zur Stöchiometrie der Hämolyse.	132
Reichel, Heinrich. Zur Theorie der Desinfektion. I.	149
Reichel, Heinrich. Zur Theorie der Desinfektion. II.	177
Berichtigung	200
Reichel, Heinrich. Zur Theorie der Desinfektion. III.	201
Moruzzi, Giovanni. Untersuchungen über die Gelatinierung des Eiweißes	232
Steckhausen, J. Beitrag zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Hundekörpers	244
Ögure, Y. Über eine Methode zum quantitativen Nachweis des Antipepsins im Serum	266
Ögure, Y. Über die Wirkung des Pepsins bei niederen Temperaturen.	278
Schloß, Ernst. Zur biologischen Wirkung der Salze. II.	283
Reckman, E. Louis und J. Runnström. Physikalisch-chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung	290
Yachimete, S. Beitrag zur Chemie der Krebsgeschwülste	299

Frey, Walther und Alfred Gligon. Über quantitative Bestimmung des Aminosäuren-N im Harn mittels Formoltitrierung	309
Löb, Walther und Shigeji Higuchi. Zur Kenntnis der Placentaenzyme.	316
Higuchi, Shigeji. Zur Kenntnis des Fibrinenzym der Placenta . . .	337
Higuchi, Shigeji. Ein Beitrag zur chemischen Zusammensetzung der Placenta	341
Krogh, von Mentz L. Über die Reversibilität der Hämolyse	345
Sörensen, S. P. L. Ergänzung zu der Abhandlung: Enzymstudien II. Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen	352
Irvine, James Colquhoun. Über die Verwendung alkylierter Zucker zur Bestimmung der Konstitution von Disacchariden und Glucosiden	357
Izar, Guido. Über den Einfluß einiger Quecksilberverbindungen auf den Stoffwechsel	371
Simon, J. Schnelligkeit der Absorption des Strychnins in Gegenwart von Kolloiden	394
Brasch, Walther. Weitere Untersuchungen über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte	403
Ruhland, W. Erwiderung	409
Parnas, Jakob. Über Kephalin	411
Hanssen, Olav. Zur Kenntnis der Kohlensäurebildung im Organbrei	433
Hunaeus. Über den Kalkgehalt der Frauenmilch	442
Stepp, Wilhelm. Versuche über Fütterung mit lipoidfreier Nahrung	452
Gilkin, W. Zur biologischen Bedeutung des Lecithins. (IV. Mitteilung)	461
Leyko, Z. und Marchlewski, L. Zur Kenntnis des Hämopyrrols. II.	464
Beach, Felix und Röder, Ferdinand. Über den Energieverbrauch bei der Atemarbeit	471
Sato, T. Beitrag zur Kenntnis des Nucleoproteids der Milz	489
Paladino, Raffaele. Vergleichung des Hämoglobins einiger Weichtiere mit dem der Wirbeltiere	495

Hängt die Resorption von der Oberflächenspannung der resorbierten Flüssigkeit ab?

Von

G. Buglia.

(Aus dem physiologischen Institut der kgl. Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 19. August 1909.)

Mit 10 Figuren im Text.

I. Ziel der Untersuchung.

In den letzten Jahren wurde die Aufmerksamkeit der Physiologen auf die Erscheinungen der Oberflächenspannung gelenkt, welche bei der Resorption in der Darmschlinge als einer der wichtigsten der physikalisch-chemischen Faktoren erkannt wurde. Die Substanzen, welche teils mit Galle gemischt, teils durch den Verdauungstrakt aus Proteinen und Fetten gebildet, in die Darmschlinge gelangen, haben die Fähigkeit, die Oberflächenspannung des Wassers, des gewöhnlichen Lösungsmittels, zu erniedrigen; nach Traube¹⁾ und Billard²⁾ ist diese Oberflächenspannungserniedrigung der wesentlichste Faktor, welcher das Eindringen des Darminhaltes in die Zellen verursacht.

Leider wurde die Traubesche Theorie, welche auf den allgemeinen Gesetzen der Resorptionerscheinungen beruht, durch die experimentellen Arbeiten einiger Autoren nicht bestätigt, weshalb ich es für angebracht hielt, mich in der vorliegenden Arbeit mit dieser Frage zu beschäftigen.

¹⁾ J. Traube, Der Oberflächendruck und seine Bedeutung im Organismus. Arch. f. d. gesam. Physiol. 105, 559, 572, 1904.

²⁾ G. Billard, Influence de sels biliaries et des savons sur l'absorption intestinale. C. R. Soc. Biol. 60, 1056, 1057, 1906.

Meine Aufgabe war, den Einfluß der Oberflächenspannung der Flüssigkeiten auf die Resorption in der Darmschlinge zu untersuchen. Die Experimente wurden deshalb zweckmäßig so eingeleitet, daß ein bestimmtes Volum physiologischer Kochsalzlösung in eine Dünndarmschlinge eingeführt und aus dieser nach einer bestimmten Zeit entfernt wurde; durch Ausmessen dieser Flüssigkeitsmenge wurde dann die resorbierte Menge bestimmt. Sodann wurden unter ähnlichen Bedingungen Experimente angestellt, wobei jedoch die zur Resorption bestimmte Menge der physiologischen Kochsalzlösung eine Substanz beigemischt enthielt, welche ihre Oberflächenspannung erniedrigte. Es wurden auch Versuche mit einer Witte-Peptonlösung angestellt und der resorbierte Anteil durch die Kjeldahlsche Stickstoffbestimmungsmethode ermittelt. Bevor ich jedoch die diesbezüglichen Resultate mitteile, möchte ich einige Bestimmungen anführen, welche ich „in vitro“ angestellt habe, um die Variationen der Oberflächenspannung einiger Lösungen (Wasser, 10%ige Peptonlösung) kennen zu lernen, nachdem bestimmte Mengen verschiedener Substanzen hinzugefügt wurden. Dadurch konnte ich also gleichzeitig feststellen, welche Lösung ich am zweckmäßigsten bei den Experimenten „in vivo“ benutzen würde.

II. Experimente „in vitro“.

Experimentelle Technik.

Zu der Peptonlösung (10%ig) wurden folgende Substanzen hinzugefügt: Natriumtaurocholat, Natriumglykocholat, Galle, Seife und Äthylalkohol. Bei der Herstellung der zu untersuchenden Flüssigkeit ging ich von einer Lösung der Substanzen von bekanntem Gehalte aus und verdünnte dann diese mit Wasser oder Peptonlösung auf die gewünschte Konzentration, und zwar immer auf ein Volum von 10 ccm. Sodann wurde die Oberflächenspannung der Lösungen in dem Fano-Meyerschen Apparat bestimmt.¹⁾ Statt der berechneten absoluten Oberflächenspannung möchte ich die abgelesene Niveaudifferenz im Manometer mitteilen, da diese über die Variationen der Oberflächenspannung auch eine exakte Rechenschaft gibt; die Messungen wurden immer in derselben Capillare ausgeführt.

In vielen Versuchen habe ich das spezifische Gewicht der Lösungen im Ostwald-Sprengelschen Pyknometer bestimmt.

¹⁾ G. Fano und M. Mayer, Sulla tensione superficiale del siero di sangue, *Archivio di Fisiologia* 4, 165, 177, 1907.

Die Daten sind in ein Koordinatensystem eingetragen und zwar auf die Ordinate: die abgelesene Niveaudifferenz im Manometer (t) und das spezifische Gewicht (s) der Flüssigkeit; auf die Abszisse: die Quantität der Substanz in Gramm, welche in 100 ccm Wasser oder Peptonlösung enthalten war, außerdem das Volumen der Ausgangsflüssigkeit, welche dann mit Wasser oder Peptonlösung auf 10 ccm aufgefüllt wurde.

A. Versuche mit wässrigen Lösungen.

Versuch 1.

2. III. 09. Temperatur = 24° C. H₂O + Natriumglykocholat (Kahlbaum).

Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten Natriumglykocholat in g	Bemerkungen	Spez. Gew. bei 24° C	Niveaudifferenz im Manometer in mm T = 38,5° C
H ₂ O	Natriumglykocholatlösung 10%				
ccm	ccm				
—	10,0	1,0	schwach opalescent	1,0026	30,2
2,0	8,0	0,8	"	1,0019	29,4
4,0	6,0	0,6	"	1,0014	28,4
6,0	4,0	0,4	"	—	27,6
8,0	2,0	0,2	opalescent	1,0005	28,0
9,0	1,0	0,1	"	—	29,8
9,5	0,5	0,05	"	1,0000	32,9
9,8	0,2	0,02	"	—	35,2
10,0	—	—	klar	1,0000	53,5

Versuch 2.

3. III. 09. Temperatur = 24° C. H₂O + Natriumglykocholat.

Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten Natriumglykocholat in g	Bemerkungen	Spez. Gew. bei 24° C	Niveaudifferenz im Manometer in mm T = 38,5° C
H ₂ O	Natriumglykocholatlösung 10%				
ccm	ccm				
—	10,0	10,0	klar	—	31,1
2,0	8,0	8,0	"	1,0192	31,1
4,0	6,0	6,0	"	—	31,1
6,0	4,0	4,0	"	1,0102	31,1
8,0	2,0	2,0	"	—	30,5
8,5	1,5	1,5	"	—	31,0
10,0	—	—	—	1,0000	53,5

Die Kurve, welche die abgelesenen Niveaudifferenzen und die Quantität des in 100 ccm H₂O gelösten Glykocholats wiedergibt, zeigt, daß die Konzentration des Natriumcholats bei 0,35% das

Optimum aufweist, da die Oberflächenspannung sodann mit abnehmender Konzentration ansteigt, um endlich die Oberflächenspannung des Wassers zu erreichen, in höheren Konzentrationen wie 0,35% dagegen bei einem Werte von 1,2% das Maximum erreicht. Mengen über 1,2% bewirken nur eine unwesentliche Erhöhung der Oberflächenspannung, so daß diese bis zu einer 2%igen Lösung voneinander gar nicht differieren. Diese Erscheinungen werden nicht von entsprechenden Veränderungen der Dichte begleitet, vielmehr treten physikalische Differenzen auf. Eine 0,35%ige Lösung des Glykocholats, welche also die niedrigste Oberflächenspannung besitzt, zeigt die stärkste Opaleszenz, während diese mit steigender Konzentration verschwindet und bei 1,2% bis 1,5% ganz aufgehoben wird.

Versuch 3.

4. III. 09. Temperatur = 23° C. H₂O + Natriumtaurocholat
(Kahlbaum).

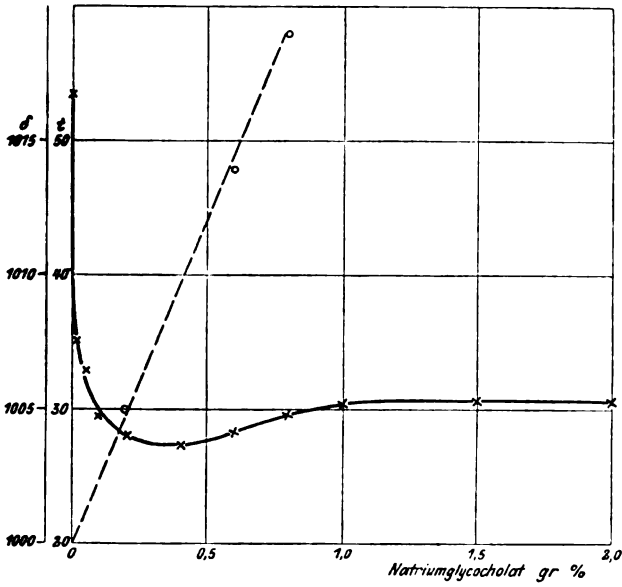
Gemisch		100 ccm des Ge- misches enthalten Natrium- taurocho- lat in g	Bemerkungen	Spez. Gew. bei 23° C	Niveau- differenz im Mano- meter in mm T = 38,5°C
H ₂ O	Natrium- taurocho- latlösung 1%				
ccm	ccm				
—	10,0	1,0	schwach opalescent	1,0016	26,2
2,0	8,0	0,8	"	—	26,2
4,0	6,0	0,6	"	1,0008	25,7
6,0	4,0	0,4	opalescent	—	27,0
8,0	2,0	0,2	"	1,0002	30,0
9,0	1,0	0,1	"	—	33,5
9,5	0,5	0,05	"	1,0000	41,5
9,8	0,2	0,02	"	—	50,0
10,0	—	—	klar	1,0000	53,0

Versuch 4.

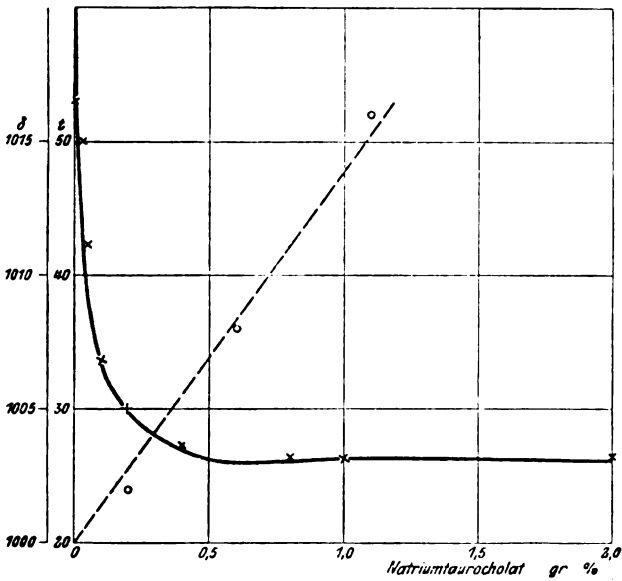
5. III. 09. Temperatur = 23° C. H₂O + Natriumtaurocholat.

Gemisch		100 ccm des Ge- misches enthalten Natrium- taurocho- lat in g	Bemerkungen	Spez. Gew. bei 23° C	Niveau- differenz im Mano- meter in mm T = 38,5°C
H ₂ O	Natrium- taurocho- latlösung 5%				
ccm	ccm				
—	10,0	5,0	klar	1,0102	26,2
4,0	6,0	3,0	"	—	26,2
6,0	4,0	2,0	"	1,0041	26,2
10,0	—	—	"	1,0000	53,0

Natriumtaurocholat erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers noch erheblicher als das Glykocholat. Vergleicht man aber die zwei Kurven, so bemerkt man, daß die zugesetzte Menge des Taurocholats,



Kurve 1.



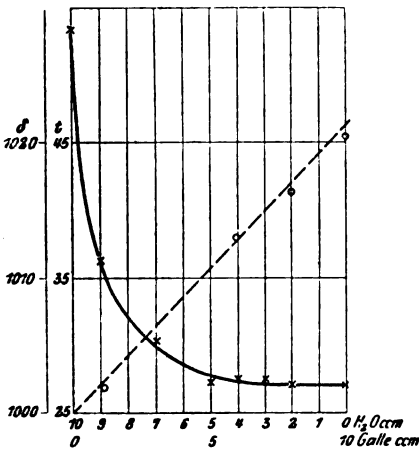
Kurve 2.

welche das Maximum der Erniedrigung hervorruft, erheblich größer ist als die des Glykcholats, jenes liegt bei 0,6‰, dieses bei 0,35‰. Andererseits sieht man beim Vergleich der Kurven, daß die Kurve des Taurocholats viel langsamer ansteigt, so daß die Oberflächenspannung einer 2‰igen Lösung erheblich niedriger liegt als die des Glykcholats bei gleicher Konzentration. Ebenso wie das Glykcholats, zeigt auch das Taurocholats keine gleichzeitige Veränderungen des spezifischen Gewichtes, vielmehr weist auch diese stärkere oder leichtere Opaleszenz auf.

Versuch 5.

7. III. 1909. Temperatur = 22° C. H₂O + Rindergalle aus der Gallenblase.

Gemisch		Bemerkungen	Spez. Gew. bei 22° C	Niveau- differenz im Mano- meter in mm T = 38,5° C
H ₂ O ccm	Rindergalle ccm			
—	10,0	klar	1,0203	27,1
2,0	8,0	"	1,0167	27,1
3,0	7,0	"	—	27,6
4,0	6,0	"	1,0129	27,6
5,0	5,0	"	—	27,5
7,0	3,0	"	—	30,0
9,0	1,0	"	1,0025	36,1
10,0	—	"	1,0000	53,5



Kurve 3.

Die Galle erniedrigt am erheblichsten die Oberflächenspannung in einer Mischung von 8 ccm Galle + 2 ccm H₂O.

Die Oberflächenspannung dieser verdünnten Galle ist gleich der unverdünnten, normaler Galle. Mit Zunehmen der Verdünnung wächst auch die Oberflächenspannung. Die Kurve, welche die Oberflächenspannung der Galle in verschiedenen Verdünnungen darstellt, zeigt jedoch nicht die Eigentümlichkeiten, welche das Glykcholats und Taurocholats (dies jedoch in geringerem Grade) aufwiesen.

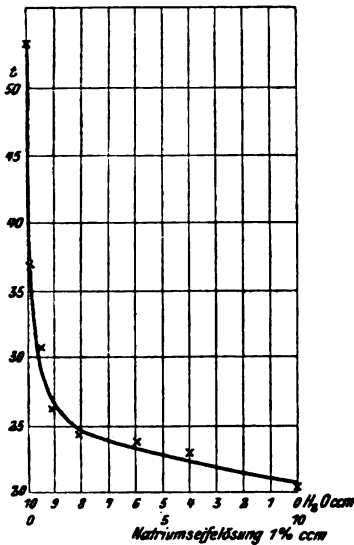
Sie erreicht kein Minimum, um dann mit zunehmender Konzentration aufzusteigen. Ferner unterscheidet sich die Galle von den gallensauren Salzen dadurch, daß sie bei der Verdünnung mit Wasser keine physika-

lichen Veränderungen erleidet, Opalescenz tritt nicht auf, die Lösung bleibt immer klar.

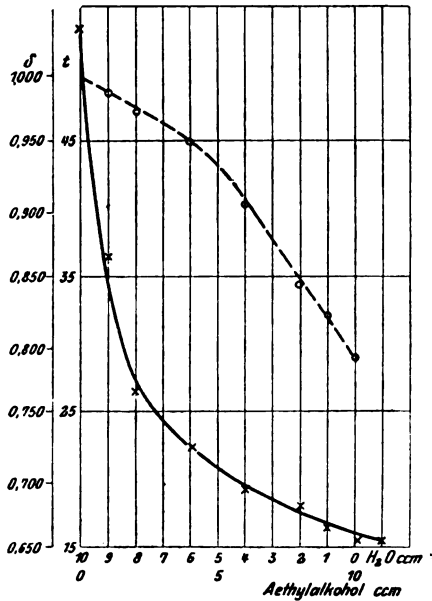
Versuch 6.

8. III. 09. Temperatur = 17° C. H₂O + Natriumseife,

Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten Natrium- seife in g	Niveaudifferenz im Manometer in mm T = 37° C
H ₂ O ccm	Natriumseifen- lösung 1% ccm		
—	10,0	1,0	20,3
4,0	6,0	0,6	23,0
6,0	4,0	0,4	23,5
8,0	2,0	0,2	24,3
9,0	1,0	0,1	26,2
9,5	0,5	0,05	30,7
9,9	0,1	0,01	37,0
10,0	—	—	53,3



Kurve 4.



Kurve 5.

Die Natriumseife, welche zur Untersuchung diente, habe ich aus der gewöhnlichen Seife von Maraglia durch Aussalzen gereinigt und dargestellt. Es wurde sodann 1g in 100 ccm Wasser gelöst. Wie man aus der Kurve ersieht, erniedrigt diese die Oberflächenspannung des Wassers viel erheblicher als die gallensauren Salze oder die Galle in entsprechendem Verhältnis.

Versuch 7.

9. III. 09. Temperatur = 18° C. H₂O + Athylalkohol 97°.

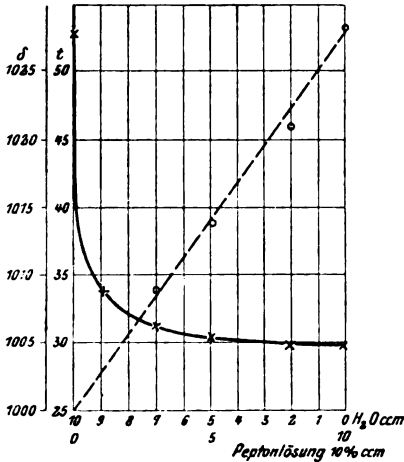
Gemisch		Spez. Gew. bei 18° C	Niveaudifferenz im Manometer in mm T = 38,5° C
H ₂ O ccm	Athylalkohol ccm		
—	10,0	0,7903	15,5
1,0	9,0	0,8238	16,7
2,0	8,0	0,8475	18,0
4,0	6,0	0,9041	19,5
6,0	4,0	0,9450	22,3
8,0	2,0	0,9735	26,5
9,0	1,0	0,9871	36,5
10,0	—	1,0000	53,4

Von den bisher studierten Substanzen erniedrigt Methylalkohol die Oberflächenspannung des Wassers am stärksten. Das spezifische Gewicht variiert im gleichen Sinne mit der Oberflächenspannung.

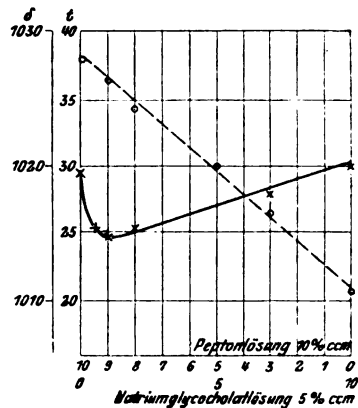
Versuch 8.

13. III. 09. Temperatur = 16° C. H₂O + Witte-Pepton.

Gemisch		100 ccm des Ge- misches enthalten Pepton in g	Bemerkungen	Spez. Gew. bei 24° C	Niveau- differenz im Manometer in mm T = 38,5° C
H ₂ O ccm	Pepton- lösung 10% ccm				
—	10,0	10,0	klar	1,0286	30,0
2,0	8,0	8,0	"	1,0217	30,0
5,0	5,0	5,0	"	1,0144	30,5
7,0	3,0	3,0	schwach opalescent	1,0083	31,5
9,0	1,0	1,0	"	—	33,4
10,0	—	—	" klar "	1,0000	53,0



Kurve 6.



Kurve 7.

Pepton Witte erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers auch in relativ kleinen Mengen sehr erheblich, wie die Eiweißsubstanzen im allgemeinen. — Wie aus der Kurve ersichtlich ist, sind die Variationen bis 3% am ausgesprochensten, während die Werte der Oberflächenspannung zwischen 3 bis 10% ziemlich konstant bleiben. Das spezifische Gewicht steigt aber mit zunehmender Menge des gelösten Peptons.

B. Versuche mit Pepton (Witte)-Lösung.

10g Pepton (Witte) in warmem Wasser gelöst.

Versuch 1.

17. III. 09. Temperatur = 20°C. Peptonlösung + Natriumglykocholat.

Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten in g		Bemerkungen	Spez. Gew. bei 22°C	Niveaudifferenz im Manometer in mm T=38,5°C
Peptonlösung 10% ccm	Natriumglykocholatlösung 5% ccm	Pepton	Natriumglykocholat			
—	10,0	—	5,0	klar	1,0107	30,0
3,0	7,0	3,0	3,5	stark opalescent	1,0167	28,0
8,0	2,0	8,0	1,0	" "	1,0245	25,3
9,0	1,0	9,0	0,5	" "	1,0265	24,4
9,5	0,5	9,5	0,25	" "	—	25,3
10,0	—	10,0	—	kalt filtriert	1,0280	29,5

Die mit Natriumglykocholat versetzte Peptonlösung zeigt eine erhebliche Erniedrigung der Oberflächenspannung, und zwar in relativ viel geringeren Mengen, als dies beim destillierten Wasser der Fall war. Natriumglykocholat im destillierten Wasser erreicht nie die Oberflächenspannung einer Natriumglykocholat-Peptonlösung. Dieses Gemisch erreicht in mittleren Konzentrationen den niedrigsten Wert der Oberflächenspannung, jedoch ist die Menge der Substanz größer als diejenige, welche im Wasser die maximale Erniedrigung hervorruft. Die aufgezeichnete Kurve zeigt eine ähnliche Richtung wie die wässrige Glykocholatlösung, d. h. mit zunehmender Konzentration sinkt die Erniedrigung vom Anfange an, um dann bis zur Oberflächenspannung der reinen Peptonlösung anzusteigen. Die Variationen der Oberflächenspannung sind von physikalischen Erscheinungen begleitet: die Lösung trübt sich mehr oder minder mit der Konzentration.

Das spezifische Gewicht der Peptonlösung nimmt mit zunehmender Menge des Glykocholats fast proportional ab.

Versuch 2.

20. III. 09. Temperatur = 16°C. Peptonlösung + Natriumtaurocholat.

Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten in g		Bemerkungen	Spez. Gew. bei 22°C	Niveaudifferenz im Mano- meter in mm
Pepton- lösung 10% ccm	Natrium- taurocho- latlösung 5% ccm	Pepton	Natrium- taurocho- lat			
—	10,0	—	5,0	klar	1,0107	25,3
5,0	5,0	5,0	2,5	stark opalescent	1,0202	25,0
8,0	2,0	8,0	1,0	" "		24,5
9,0	1,0	9,0	0,5	" "	1,0260	24,4
9,5	0,5	9,5	0,25	opalescent		26,0
10,0	—	10,0	—	klar (kalt-filtriert)	1,0286	30,0

T=38,5°C

Die Schwankungen der Oberflächenspannung des Wassers, welche durch Zusatz von Natriumglykocholat resp. Taurocholat verursacht werden, treten noch charakteristischer hervor, wenn gleichzeitig Pepton zugegen ist. Hier werden die Unterschiede zwischen Glykocholat und Taurocholat noch ausgeprägter; die Kurve des Glykocholats weicht nicht nur bezüglich der geringeren Menge, welche die maximale Oberflächenspannungserniedrigung hervorruft, von der Kurve des Taurocholats ab, sondern auch bezüglich des charakteristischen Ansteigens.

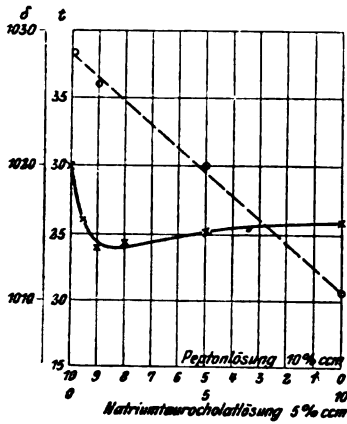
Versuch 3.

24. III. 09. Temperatur = 18°C. Peptonlösung + Natriumseife.

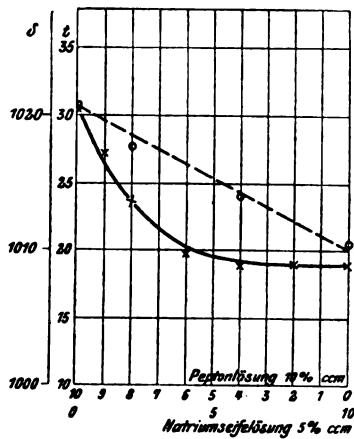
Gemisch		100 ccm des Gemisches enthalten in g		Bemerkungen	Spez. Gew. bei 23°C	Niveaudifferenz im Mano- meter in mm
Pepton- lösung 10% ccm	Natrium- seifen- lösung 5% ccm	Pepton	Natrium- seife			
—	10,0	—	5,0	opalescent (filtriert)	1,0107	19,0
2,0	8,0	2,0	4,0	" "		19,0
4,0	6,0	4,0	3,0	" "	1,0143	19,0
6,0	4,0	6,0	2,0	" "		19,9
8,0	2,0	8,0	1,0	" "	1,0179	23,5
9,0	1,0	9,0	0,5	" "		27,1
10,0	—	10,0	—	klar (filtriert)	1,0204	30,5

T=38,5°C

Auch Seifenlösung erniedrigt die Oberflächenspannung der Peptonlösung erheblich, die dazu nötige Menge ist jedoch geringer als diejenige, welche die Oberflächenspannung des reinen Wassers am bedeutendsten erniedrigt.



Kurve 8.



Kurve 9.

Versuch 4.

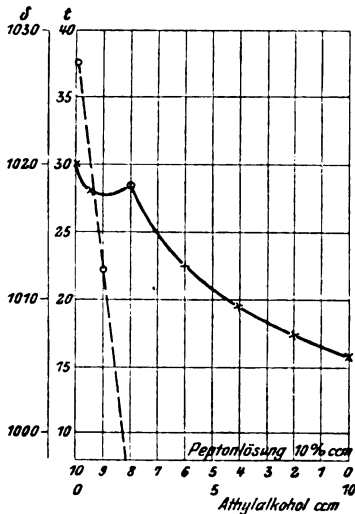
27. III. 09, Temperatur = 21°C. Peptonlösung + Athylalkohol 97°.

Gemisch		Bemerkungen	Spez. Gew. bei 25°C	Niveaudifferenz im Manometer in mm T=38,5°C
Peptonlösung 10% ccm	Athylalkohol ccm			
—	10,0	klar	0,7946	15,8
2,0	8,0	flockiger Niederschlag; das Filtrierete ist opalescent	0,8700	17,5
4,0	6,0	do.	0,9193	19,5
6,0	4,0	reichlicher flockiger Niederschlag; das Filtrierete ist opalescent	0,9672	22,5
8,0	2,0	flockiger Niederschlag; das Filtrierete ist opalescent	0,9980	28,5
8,0	2,0	opalescent	1,0122	28,0
9,0	1,0	opalescent	1,0274	30,0
10,0	—	klar (filtriert)		

Die Kurve, welche die Oberflächenspannungen eines Peptonlösung-Alkoholgemisches in verschiedenen Konzentrationen darstellt, weicht von der Kurve der wässrigen Alkohollösung wesentlich ab, jene erreicht zweimal einen maximalen Wert; im Anfange ist das Ansteigen weniger ausgeprägt, und man beobachtet nach Zufügen geringer Quantitäten Alkohol eine bleibende Opalescenz der Peptonlösung. Übersteigt die zugesetzte Menge Alkohol 20% (in der 10%igen Peptonlösung), so wendet sich die Kurve nach unten. Es entstehen sodann immer reichlichere Niederschläge, bis endlich sämtliches Pepton niedergeschlagen wird.

Die Tabelle und die Kurve beweisen, daß die Oberflächenspannung des Wassers sowie der 10%igen Peptonlösung am stärksten durch Alkohol erniedrigt wird.

Aus den vorstehenden „Experimenten in vitro“ geht hervor, daß die Variationen der Oberflächenspannung, als Funktion der Konzentration, als Funktionen der Konzentration, nicht für alle Substanzen die gleichen sind. Dieselbe Substanz erniedrigt nicht im gleichen Maße die Oberflächenspannung des Wassers und die der Peptonlösung. Im allgemeinen nimmt die Oberflächenspannung mit zunehmender Substanzmenge ab, jedoch nicht proportional. In einigen Fällen (gallensaure Salze) entspricht das Maximum der Erniedrigung nicht der höchsten Konzentration des Lösungsgemisches. In diesen Fällen beobachtet man Präcipitationsphänomene, welche jedoch verschwinden, sobald die Konzentration der Lösung und damit die Oberflächenspannung erhöht werden.



Kurve 10.

Die Tabelle und die Kurve beweisen, daß die Oberflächenspannung des Wassers sowie der 10%igen Peptonlösung am stärksten durch Alkohol erniedrigt wird. Aus den vorstehenden „Experimenten in vitro“ geht hervor, daß die Variationen der Oberflächenspannung, als Funktion der Konzentration, nicht für alle Substanzen die gleichen sind. Dieselbe Substanz erniedrigt nicht im gleichen Maße die Oberflächenspannung des Wassers und die der Peptonlösung. Im allgemeinen nimmt die Oberflächenspannung mit zunehmender Substanzmenge ab, jedoch nicht proportional. In einigen Fällen (gallensaure Salze) entspricht das Maximum der Erniedrigung nicht der höchsten Konzentration des Lösungsgemisches. In diesen Fällen beobachtet man Präcipitationsphänomene, welche jedoch verschwinden, sobald die Konzentration der Lösung und damit die Oberflächenspannung erhöht werden.

Es handelt sich in diesen Fällen — welche höchstwahrscheinlich infolge von Dissoziations- oder hydrolytischen Prozessen auftreten — um ähnliche Erscheinungen, welche beim Blutserum zu beobachten sind, wenn man Mineralsäuren in verschiedenen Konzentrationen hinzusetzt.¹⁾

III. Experimente „in vivo“.

1. Versuche mit physiologischer Kochsalzlösung an einer isolierten Dünndarmschlinge.

Experimentelle Technik.

Man isoliert die Dünndarmschlinge, ohne diese vom Mesenterium abzutrennen und vermeidet so gut wie möglich die Störung der Blut-

¹⁾ G. Buglia, Veränderungen der Oberflächenspannung des Blutserums unter dem Einfluß von verschiedenen Elektrolyten. Diese Zeitschr. 11, 4, 311, 1908.

zirkulation. In diese Darmschlinge wird dann die Flüssigkeit von 37° C eingefüllt, die man nach einer bestimmten konstanten Zeit entfernt und bestimmt die absorbierte Menge durch Volummessung oder, falls es erforderlich ist, durch Bestimmung der Stickstoffmenge in der eingefüllten und entfernten Flüssigkeit. Man kann dieselbe Dünndarmschlinge zur öfteren Wiederholung des Versuches benutzen, wobei man aber dafür Sorge zu tragen hat, daß diese mit physiologischer Kochsalzlösung von 37° C sorgfältig ausgespült wird.

Während des Experimentes wird die Dünndarmschlinge in der Bauchhöhle gelassen.

Versuch 1.

16. III. 09. Zimmertemp. = 15° C.

Hund von 8500 g Gew.; hungert seit 8 Stunden.

Isoliertes Darmstück 40 cm lang; Entfernung vom Pylorus 45 cm.

Um 10 Uhr 49 Minuten werden 30 ccm 0,9% ige Kochsalzlösung eingeführt.

„ 10 „ 49 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 15,3 ccm.
„ 10 „ 54 „	werden 30 ccm 0,9% ige NaCl-Lösung + 0,075 g Natriumtaurocholat eingeführt.
„ 11 „ 9 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 22,0 ccm.
„ 11 „ 17 „	werden 30 ccm 0,9% ige NaCl-Lösung eingeführt.
„ 11 „ 32 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 19,0 ccm.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 37° C	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (os.)	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	30	37	15	15,3	14,9
2.	NaCl 0,9% + Natriumtaurocholat	29,6	„	„	„	20,1	9,9
3.	NaCl 0,9%	53,5	„	„	„	19,0	11,0

Versuch 2.

17. III. 09. Zimmertemp. = 14° C.

Hund von 7000 g Gew.; hungert seit 12 Stunden.

Isoliertes Darmstück 60 cm lang; Entfernung vom Pylorus 50 cm.

Um 11 Uhr 47 Minuten werden 50 ccm 0,9% ige NaCl-Lösung eingeführt.

„ 12 „ 2 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 37 ccm.
„ 12 „ 6 „	werden 50 ccm 0,9% ige NaCl-Lösung + 0,035 g Natriumtaurocholat eingeführt.
„ 12 „ 21 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 36,8 ccm.
„ 12 „ 26 „	werden 50 ccm 0,9% ige NaCl-Lösung eingeführt.
„ 12 „ 41 „	wird die Lösung entfernt. Vol. = 38,5 ccm.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 37° C	Volum der eingeführten Lösung in cem	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in cem	Resorbiert cem
1.	NaCl 0,9%	53,5	50	37	15	37,0	13,0
2.	NaCl 0,9% + Natriumtaurocholat	34,5	"	"	"	36,8	13,2
3.	NaCl 0,9%	53,5	"	"	"	38,5	11,5

Versuch 3.

21. III. 09. Zimmertemp. = 15° C.

Hund von 11000 g Gew.; hungert seit 6 Stunden.

Isoliertes Darmstück 35 cm lang; Entfernung vom Pylorus 40 cm.

Um 10 Uhr 3 Minuten werden 30 cem 0,9%ige NaCl-Lösung eingeführt.

„ 10 „ 18 „ wird die Lösung entfernt. Vol. = 25,5 cem.

„ 10 „ 21 „ werden 24 cem 0,9%ige NaCl-Lösung + 6 cem frische Rindergalle eingeführt.

„ 10 „ 36 „ wird die Lösung entfernt. Vol. = 28,5 cem.

„ 10 „ 44 „ werden 30 cem 0,9%ige NaCl-Lösung eingeführt.

„ 10 „ 59 „ wird die Lösung entfernt. Vol. = 29,0 cem.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 37° C	Volum der eingeführten Lösung in cem	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in cem	Resorbiert cem
1.	NaCl 0,9%	53,3	30	37	15	25,5	4,5
2.	NaCl 0,9% + 24 cem + 6 cem di bile	27,5	"	"	"	28,5	1,5
3.	NaCl 0,9%	53,3	"	"	"	29,0	1,0

Es folgt einwandfrei aus diesen Experimenten, daß die Resorption der physiologischen Kochsalzlösung im Darne nicht erhöht wird, wenn man ihre Oberflächenspannung erniedrigt, sei es durch Zusatz von gallensauren Salzen, sei es durch Rindergalle.

2. Versuche mit Witte-Peptonlösung.

Man isoliert in der gleichen Weise, wie früher angegeben, zwei Darmschlingen. In die eine wird Witte-Peptonlösung eingebracht, in die zweite Peptonlösung und eine bestimmte

Quantität Natriumtaurocholat. Nach 15 Minuten werden die Lösungen aus dem Darne entfernt und in einer Portion der Stickstoff nach der Kjeldahlschen Methode bestimmt. Die Differenz zwischen dem Stickstoffgehalte vor und nach der Entfernung der Lösung ergibt die resorbierte Quantität Pepton. Um Versuchsfehler so gut wie möglich zu vermeiden, habe ich die Darmstücke nach dem Experiment herausgenommen, sorgfältigst gereinigt, gewaschen und gewogen und reduzierte sodann die resorbierte Peptonmenge auf 1 g des benutzten Darmes.

Versuch 1.

10. II. 09. Temp. = 13° C.

Hund von 7,050 g Gew.; hungert seit 5 Stunden. In die eine Darmschlinge (A) (27 cm lang; Entfernung vom Pylorus 44 cm) werden 25 ccm Peptonlösung eingeführt (5 g Pepton, 100 ccm physiol. Kochsalzlösung in der Wärme gelöst, dann auf ca. 37° abgekühlt); in die andere (B) (30 cm lang; Entfernung vom Pylorus 71 cm) Peptonlösung + Natriumtaurocholat (5 g Pepton in 100 ccm physiol. Kochsalzlösung in der Wärme gelöst, sodann 1 g Natriumtaurocholat hinzugesetzt, warm filtriert und auf etwa 37° C abgekühlt).

Die Flüssigkeiten werden aus dem Darne nach 15 Min. entfernt, mit physiol. Kochsalzlösung reichlich nachgewaschen und das Washwasser mit der ursprünglichen Lösung gemischt und zwecks Entfernung der etwa vorhandenen Eiweißsubstanzen aufgeköcht und filtriert.

Das Volum der gekochten und filtrierten Flüssigkeit betrug:

Aus der Darmschlinge A	=	288 ccm
" " "	=	B = 241 "
Gewicht „ „	=	A = 40 g
" " "	=	B = 45 "

Darmschlinge	In den Darm eingeführte Lösung	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Ausflußzeit der eingeführten Flüssigkeit T. 21° C	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Stickstoffgehalt der eingeführten Lösung	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Stickstoffgehalt der entfernten Lösung	Differenz	Berechn. Menge Pepton, von 100 g Darm resorbiert
1.	Peptonlösung	25	0' 44 ³ / ₅ "	30,2	0,1715	15	0,1290	0,0425	0,1062
2.	Peptonlösung + Natriumtaurocholat	"	0' 47 ³ / ₅ "	25,3	0,1785	"	0,1336	0,0449	0,0998

Versuch 2.

20. I. 09. Zimmertemp. = 14° C.

In diesem Versuche und den zwei nachfolgenden wurden die Darmschlingen ausgeschnitten, sodann mit der zu untersuchenden Flüssigkeit

gefüllt und in einer Flasche mit 200 ccm physiol. Kochsalzlösung bei 36° im Thermostaten stehen gelassen.

Hund von 6000 g Gew.; hungert seit 10 Stunden. Das Tier wird durch Verbluten getötet und vom Darne werden drei Stücke ausgeschnitten.

Das erste Stück (A), welches vom Pylorus 15 cm entfernt war, wurde mit 24 ccm Peptonlösung gefüllt (5 g Pepton in 100 ccm physiol. Kochsalzlösung in der Wärme gelöst); das zweite Stück (B) mit 24 ccm Peptonlösung + Natriumtaurocholat (5 g Pepton in 100 ccm Wasser in der Wärme gelöst), sodann 1 g Natriumtaurocholat hinzugefügt und warm abfiltriert; das dritte (C) mit 24 ccm Peptonlösung wie bei A.

Nach 1 Uhr 10 Minuten werden die Lösungen aus dem Darne entfernt, mit physiol. Kochsalzlösung gut nachgewaschen, die Flüssigkeiten vereinigt, sodann gekocht und filtriert wie beim Versuch 1.

Das Volum der gekochten und filtrierten Flüssigkeit betrug:

Aus dem Darm A = 200 ccm
" " " B = 212 "
" " " C = 250 "
Gewicht des Darmes A = 34 g
" " " B = 40 "
" " " C = 30 "

Darmschlinge	In den Darm eingeführte Lösung	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Ausflußzeit der eingeführten Flüssigkeit T. 21° C	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 28,5° C	Stickstoffgehalt der eingeführten Lösung	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Stickstoffgehalt der entfernten Lösung	Differenz	Berechn. Menge Pepton, von 100 g Darm resorbiert
1.	Peptonlösung	24	0' 44 ¹ / ₅ "	30,2	0,1646	70	0,1557	0,0089	0,0262
2.	Peptonlösung + Natriumtaurocholat	"	0' 47 ² / ₅ "	25,3	0,1713	"	0,1543	0,0170	0,0425
3.	Peptonlösung	"	0' 44 ¹ / ₅ "	30,2	0,1646	"	0,1534	0,0112	0,0373

Versuch 3.

10. IV. 09. Zimmertemp. = 13° C.

Hund von 5500 g Gew.; hungert seit 15 Stunden.

Das Tier wird durch Verbluten getötet und vom Darne werden vier Stücke ausgeschnitten.

Das erste Stück (A), welches vom Pylorus 20 cm entfernt war, wurde mit 25 ccm Peptonlösung + Natriumglykocholat gefüllt (5 g Pepton in 100 ccm warmem Wasser gelöst, sodann 1 g Natriumglykocholat hinzugefügt und warm abfiltriert); das zweite Stück wurde mit 25 ccm Peptonlösung gefüllt (hergestellt durch Lösen von 5 g Pepton in 100 ccm Wasser in der Wärme).

Nach 1 Stunde werden die Lösungen aus dem Darne entfernt, mit physiol. Kochsalzlösung gut nachgespült, die Flüssigkeiten vereinigt, sodann gekocht und filtriert wie in den Experimenten I und II.

Das Volum der gekochten und filtrierten Flüssigkeit betrug

Aus dem Darm A = 200 ccm
 B = 465 "
 Gewicht des Darmes A = 30 g "
 B = 26 "

Darmschlinge	In den Darm eingeführte Lösung	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Ausflußzeit der eingeführten Flüssigkeit T. 21° C	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung; Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Stickstoffgehalt der eingeführten Lösung	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Stickstoffgehalt der entfernten Lösung	Differenz	Berechn. Menge Pepton, von 100 g Darm resorbiert
1.	Peptonlösung + Natriumglykocolat	25	0' 42 ² / ₅ "	28,5	0,1435	60	0,1232	0,0203	0,0676
2.	Peptonlösung	"	0' 44"	30,5	0,1470	"	0,1354	0,0116	0,0446

Versuch 4.

25. IV. 09. Zimmertemp. = 16° C.

Hund von 8160 g Gew.; hungert seit 10 Stunden.

Das Tier wird durch Verbluten getötet und von seinem Darme werden drei Stücke ausgeschnitten.

In das erste Stück (A), welches vom Pylorus 25 cm entfernt war, wurden 25 ccm Peptonlösung eingefüllt (5 g Pepton und 100 ccm physiol. Kochsalzlösung in der Wärme gelöst); in das zweite Stück (B) wurden 25 ccm Peptonlösung + Natriumseife eingefüllt (5 g Pepton in 100 ccm physiol. Kochsalzlösung in der Wärme gelöst, sodann 0,5 Natriumseife hinzugefügt und warm abfiltriert); in das dritte Stück (C) dieselbe Flüssigkeit wie bei A.

Nach 30 Minuten werden die Lösungen aus dem Darme entfernt, mit physiol. Kochsalzlösung gut nachgespült, die Flüssigkeiten vereinigt aufgekocht und filtriert wie bei den Experimenten 1, 2, 3.

Das Volum der gekochten und filtrierten Flüssigkeit betrug:

Aus dem Darme A = 310 ccm
 " " " B = 275 "
 " " " C = 340 "
 Gewicht des Darmes A = 45 g
 " " " B = 40 "
 " " " C = 35 "

Darmschlinge	In den Darm eingeführte Lösung	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Ausflußzeit der eingeführten Flüssigkeit T. 21° C	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung; Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Stickstoffgehalt der eingeführten Lösung	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Stickstoffgehalt der entfernten Lösung	Differenz	Berechn. Menge Pepton, von 100 g Darm resorbiert
1.	Peptonlösung	25	0' 42 ² / ₅ "	30,7	0,1407	30	0,0625	0,0782	0,1737
2.	Peptonlösung + Natriumseife	"	0' 44 ³ / ₅ "	21,2	0,1442	"	0,0893	0,0549	0,1372
3.	Peptonlösung	"	0' 42 ² / ₅ "	30,7	0,1407	"	0,0781	0,0626	0,1788

Diese Experimente, welche mit Peptonlösung teils an der Darmschlinge in situ, teils an ausgeschnittenen Darmstücken ausgeführt wurden, beweisen also nicht, daß die Resorption der Peptonlösung erleichtert wird, falls ihre Oberflächenspannung durch Substanzen erniedrigt wird.

3. Versuche mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9%) an einer Thiry-Vellaschen Darmschlinge.

Zum Schluß möchte ich Experimente mitteilen, die an einem Hunde mit Darmfistel ausgeführt wurden. Das Tier (Hund von 15 650 g Gewicht) wurde am 27. März nach der Thiry-Vellaschen Methode operiert. Die Dünndarmschlinge, etwa 20 cm lang, wurde mit der Abdominalwand vernäht; die Entfernung vom Pylorus betrug 20 cm. Die Wunde heilt in ziemlich kurzer Zeit, so daß ich das Tier schon nach 25 Tagen benutzen konnte.

Experimentelle Technik.

In die Öffnungen der Abdominalwand wurden etwa 3 cm lange, in der Mitte verjüngte Glasröhren eingeführt. Die Dicke der Röhren war so berechnet, daß diese an der verengten Stelle durch die Fistelöffnung verschlossen wurden. Das eine Röhren, welches in die Abdominalöffnung führte, wurde mit einem Gummischlauch verbunden und dieser durch eine Klemme verschlossen. Das vordere Röhren wurde mit einem T-Rohr verbunden, welches einerseits mit einer Bürette, andererseits mit einem Gummischlauch und Klemme verbunden war. In dieser Anordnung wird nun ein gemessenes Volum der zu untersuchenden Flüssigkeit in den Darm eingefüllt und nach 15 Minuten aus diesem entfernt, und das Volum bestimmt. Um die Flüssigkeit aus der Darmschlinge so gut wie möglich zu entfernen, bläst man schwach in den angebrachten Gummischlauch, welcher mit dem T-Rohr und dadurch mit der Darmschlinge kommuniziert.

In den Vorversuchen habe ich beobachtet, daß die eingefüllte und sofort entfernte Flüssigkeit konstant etwa 1 cm an Volum abnahm, höchstwahrscheinlich deshalb, weil dieser an der Darmmuskulatur adhärenzte. Da ich jedoch immer dieselbe Darmschlinge benutzte, so fielen doch die Volummessungen mit ziemlicher Genauigkeit aus, und somit war die Bestimmung des resorbierten Volums mit keinem merklichen Fehler behaftet.

Versuch 1.

19. IV. 09. Temp. 19° C. Hund hungert seit 12 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	39	15	15	7,5	7,5
2.	"	"	"	"	"	8,5	6,5
3.	"	"	"	"	"	10,0	5,0
4.	"	"	"	"	"	5,5	9,5
5.	"	"	"	"	"	7,8	7,2

Versuch 2.

22. IV. 09. Temp. 19° C. Hund hungert seit 11 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	39	15	15	8,0	7,0
2.	"	"	"	"	"	7,0	8,0
3.	"	"	"	"	"	5,0	10,0
4.	"	"	"	"	"	5,2	9,8
5.	"	"	"	"	"	5,0	10,0
6.	"	"	"	"	"	4,5	10,5
7.	"	"	"	"	"	4,0	11,0

Versuch 3.

24. IV. 09. Temp. 19° C. Hund hungert seit 12 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9 g	26,0	19	15	15	19,0	—
2.	+ H ₂ O	"	"	"	"	14,5	0,5
3.	100 ccm + 0,5 g	"	"	"	"	10,5	4,5
4.	Natriumtaurocholat	"	"	"	"	17,0	—
5.	"	"	"	"	"	10,2	4,8

Versuch 4.

26. IV. 09. Temp. 21° C. Hund hungert seit 24 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in com	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in com	Resorbiert com
1.	NaCl 0,9 g + H ₂ O 100 com + 0,25 g Natriumtaurocholat	30,0	21	15	15	18,5	—
2.		"	"	"	"	14,5	0,5
3.		"	"	"	"	16,0	—
4.		"	"	"	"	14,0	1,0
5.		"	"	"	"	16,0	—
6.		"	"	"	"	14,5	0,5
7.		"	"	"	"	11,0	4,0

Versuch 5.

29. IV. 09. Temp. 20° C. Hund hungert seit 10 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in com	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in com	Resorbiert com
1.	NaCl 0,9%	53,5	20	15	15	12,4	2,6
2.	"	"	"	"	"	13,5	1,5
3.	"	"	"	"	"	11,0	4,0
4.	"	"	"	"	"	11,0	4,0
5.	"	"	"	"	"	9,8	5,2
6.	"	"	"	"	"	8,8	6,2

Versuch 6.

1. V. 09. Temp. 20° C. Hund hungert seit 12 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in com	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in com	Resorbiert com
1.	NaCl 0,9%	53,5	20	15	15	11,5	4,5
2.	"	"	"	"	"	11,2	4,8
3.	NaCl 0,9 g + H ₂ O 100 com + 0,1 g Natriumglykocholat	30,0	"	"	"	10,0	5,0
4.		"	"	"	"	10,5	4,5

Versuch 7.

17. V. 09. Temp. 22° C. Hund hungert seit 10 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert in ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	22	15	15	12,5	2,5
2.	"	"	"	"	"	11,5	3,5
3.	NaCl 0,9 g + H ₂ O	33,0	"	"	"	10,0	5,0
4.							
5.	NaCl 0,9%	53,5	21	"	"	10,0	5,0

Versuch 8.

13. V. 09. Temp. 20° C. Hund von 14400 g Gew. hungert seit 10 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert in ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	20	15	15	8,5	6,5
2.	"	"	"	"	"	8,0	7,0
3.	NaCl 0,9 g + H ₂ O	41,0	"	"	"	9,0	6,0
4.							
5.	Hundegalle	"	19	"	"	8,0	7,0
6.	NaCl 0,9%	53,5	"	"	"	8,0	7,0
7.	"	"	"	"	"	7,0	8,0

Versuch 9.

21. V. 09. Temp. 24° C. Hund hungert seit 11 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert in ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	24	15	15	12,0	3,0
2.	"	"	"	"	"	12,0	3,0
3.	NaCl 0,9 g + H ₂ O	20,2	"	"	"	18,0	—
	100 ccm + 1 g Natriumseife						

Versuch 10.

24. V. 09. Temp. 22° C. Hund hungert seit 10 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in °C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	22	15	15	13,0	2,0
2.	"	"	"	"	"	12,0	3,0
3.	NaCl 0,9 g + H ₂ O 100 ccm + 0,1 g Natriumseife	26,0	"	"	"	12,0	3,0

Versuch 11.

6. V. 09. Temp. 24° C. Hund von 14520 g Gew. hungert seit 9 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in °C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	17	15	15	10,5	4,5
2.	"	"	"	"	"	9,0	6,0
3.	NaCl-Lösung (0,9%) 80 ccm	18,5	"	"	"	11,5	3,5
4.	+ Äthylalkohol (97°) 20 ccm	"	"	"	"	11,2	3,8
5.	NaCl-Lösung (0,9%) 90 ccm	17,0	"	"	"	9,5	5,5
6.	+ Äthylalkohol (97°) 10 ccm	"	"	"	"	10,0	5,0

Versuch 12.

4. V. 09. Temp. 17° C. Hund hungert seit 10 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5°C	Temperatur der Flüssigkeit in °C (ca.)	Volum der eingeführten Lösung in ccm	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in ccm	Resorbiert ccm
1.	NaCl 0,9%	53,5	17	15	15	9,5	5,5
2.	"	"	"	"	"	9,2	5,8
3.	NaCl-Lösung (0,9%) 90 ccm	17,0	"	"	"	7,5	7,5
4.	+ Äthylalkohol (97°) 10 ccm	"	"	"	"	8,5	6,5
5.	"	"	"	"	"	7,5	7,5
6.	NaCl 0,9%	53,5	"	"	"	12,0	3,0
7.	"	"	"	"	"	11,0	4,0

Versuch 13.

8. V. 09. Temp. 18° C. Hund hungert seit 11 Std.

Bemerkungen	In den Darm eingeführte Lösung	Oberflächenspannung der eingeführten Lösung: Niveaudifferenz im Manometer in mm. T. 38,5° C	Temperatur der Flüssigkeit in ° C (oa.)	Volum der eingeführten Lösung in com	Die Lösung wird aus der Darmschlinge entfernt nach Min.	Volum der entfernten Lösung in com	Resorbiert com
1.	NaCl 0,9%	53,5	18	15	15	8,0	7,0
2.	"	"	"	"	"	10,0	5,0
3.	NaCl-Lösung (0,9%) 95 com + Athylalkohol (97%) 5 com	38,0	"	"	"	7,8	7,2
4.		"	"	"	"	8,0	7,0
5.		"	"	"	"	7,5	7,5
6.	NaCl 0,9%	53,5	"	"	"	9,5	5,5
7.	"	"	"	"	"	8,0	7,0

Diese Experimente stimmen mit den vorigen überein und beweisen, daß die Resorption der physiologischen Kochsalzlösung im Darne nicht erleichtert wird, falls man ihre Oberflächenspannung durch gallensaure Salze oder Galle, Seife, Alkohol erniedrigt, sei es, daß diese Substanzen in ganz kleinen oder in relativ großen Quantitäten zugesetzt werden, welche letztere dann die maximale Erniedrigung der Oberflächenspannung hervorrufen. In diesen Fällen beobachtet man, daß die Menge der entfernten die Menge der ursprünglichen eingeführten Flüssigkeit übertrifft, was höchstwahrscheinlich damit zusammenhängt, daß diese Substanzen (Seife, Alkohol) eine lokale Reizung des Darmes bewirken, wodurch die Sekretion des Darmsaftes begünstigt wird.

Meine Resultate stehen also mit der Traubesohen Theorie nicht im Einklang: sie stehen aber mit Töröks¹⁾ Versuche im Einklang vollkommen. Dieser Autor studierte die Resorption einer Kochsalzlösung im Dünndarme in verschiedenen Konzentrationen und fand, daß die Resorption erschwert wird, wenn man zu der Lösung Öl oder Gummi hinzufügt, welche also deren Oberflächenspannung erniedrigen.

¹⁾ B. Török, Die Bedeutung der Oberflächenspannung bei den Resorptionsvorgängen. Centralbl. f. Physiol. 20, 206, 209, 1906.

Trypsinogen und Enterokinase beim menschlichen Neugeborenen und Embryo.

Von

J. Ibrahim.

(Aus dem Gisela-Kinderspital in München.)

(Eingegangen am 24. August 1909.)

Das Pankreas menschlicher Neugeborener und Foeten ist bereits mehrfach auf die Anwesenheit von Trypsin untersucht worden. Die ersten positiven Befunde erhoben Hammarsten¹⁾ und Zweifel²⁾ im Jahre 1874 bei neugeborenen Kindern.

Langendorff³⁾ gelang der Nachweis bei drei Foeten, deren jüngster im Beginne des 5. Foetalmonats stand. Er vermißte das Ferment bei zwei Embryonen aus dem Ende des 4. bzw. Anfang des 5. Monats, aber auch bei einem älteren Foetus aus dem Anfang des 6. Monats.

Vermißt wurde das Ferment ferner in neuerer Zeit von Jaeggy⁴⁾ bei zwei menschlichen Foeten; der eine stand im 6. Monat (30 cm lang), der andere sogar im 9. Monat (2200 g).

Die bisherigen Untersuchungen ließen die Tatsache unberücksichtigt, daß das Trypsin in der Bauchspeicheldrüse zum großen Teil oder ganz als inaktives Zymogen enthalten ist; die Überführung in aktives Ferment wird der bekannten Entdeckung von Pawlow zufolge durch ein anderes Ferment, die Entero-

¹⁾ O. Hammarsten, Beiträge zur Anat. u. Physiol. als Festgabe für Carl Ludwig, 1874. (Zit. nach F. Krüger, Die Verdauungsfermente beim Embryo u. Neugeborenen. Wiesbaden 1891, S. 48).

²⁾ Zweifel, Untersuchungen über den Verdauungsapparat der Neugeborenen. Berlin 1874, S. 35ff.

³⁾ O. Langendorff, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1879. Physiol. Abt. S. 105ff.

⁴⁾ E. Jaeggy, Centralbl. f. Gyn. 1907, 1061.

kinase, bewirkt, welches sich in der Dünndarmschleimhaut und im Dünndarmsekret findet.

Ich habe in einer Reihe von Untersuchungen den Nachweis führen können, daß auch beim menschlichen Embryo die Dünndarmschleimhaut Enterokinase enthält, und daß beim Foetus das Trypsin als Zymogen im Pankreas enthalten ist.

Zum Nachweis der Kinase verfuhr ich in Anlehnung an eine von Hekma¹⁾ angewandte Methode folgendermaßen: Ich zerkleinerte Schweinepankreas, das ich den Tieren unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und sofort auf Eis in das Laboratorium gebracht hatte, mit Sohere und Wiegemesser, verrieb die Drüse im Mörser mit Quarzsand unter allmählichem Zusatz von wenig destilliertem Wasser, bzw. 2%iger Fluornatriumlösung zu einem feinen gleichmäßigen Brei und gewann durch Kolieren einen sämigen, graurötlichen Saft, der inaktives Trypsinogen enthielt. 8 bis 15 Tropfen davon wurden sofort mit 10 ccm des zu prüfenden Dünndarmextraktes gut vermischt und die Wirkung auf Mettsche Eiweißröhren bei 37° im Brutschrank untersucht. Alle Lösungen wurden auf einen Gehalt von 2% Fluornatrium gebracht, wodurch nach Hekma²⁾ jede Bakterienwirkung am sichersten vermieden wird.³⁾ Stets wurden Kontrollen von den Darmextrakten allein sowie vom Pankreaspreßsaft allein (mit 10 ccm 2%iger Fluornatriumlösung) aufgestellt. Während die Darmextrakte allein niemals auf die Eiweißröhren einwirkten, erwies sich mehrmals der Schweinepankreaspreßsaft trotz rascherer Verarbeitung als nicht völlig inaktiv, wodurch die betreffende Versuchsreihe natürlich unbrauchbar wurde. Ich hatte den Eindruck, als wenn die Drüse jüngerer Tiere zur Gewinnung reinen Zymogens eher geeignet ist als die älterer Tiere. Vermutlich würden hungrnde Tiere sich für diesen Zweck besonders eignen.

Die Darmextrakte gewann ich von Neugeborenen oder Foeten, denen ich (mit einer Ausnahme) innerhalb der ersten 15 Stunden nach der Geburt dem Darm entnommen hatte. Der Darm wurde vor der Entnahme abgebunden, zur Verarbeitung wurde er in mehrere gleiche Teile geteilt, und der Inhalt sorgfältig ausgestreift; die Schleimhaut des aufgeschnittenen Darmes wurde mit einem stumpfen Skalpell abgeschabt und mit Quarzsand und wenig destilliertem Wasser gründlich zerrieben, mit der 10- bis 20fachen Menge 2%igem Fluornatrium oder Wasser und mit reichlichem Toluolzusatz bei Zimmertemperatur aufgehoben. Zum Versuch diente in der Regel der unfiltrierte Extrakt, der seine Wirksamkeit, wie sich später erwies, viele Wochen beibehielt. Bei den kleinsten Foeten wurde der ausgestreifte

¹⁾ E. Hekma, Arch. f. Physiol. 1904, 346.

²⁾ a. a. O.

³⁾ Eine Zerstörung der Enterokinase durch den 2%igen Fluornatriumgehalt, die J. M. Hamill (Journ. of Physiol. 33, 483) gesehen haben will, erfolgte nicht, wie die positiven Resultate beweisen.

Dünndarm in toto verrieben, da das Abschaben der Schleimhaut untunlich erschien.

Der Inhalt der einzelnen Darmabschnitte wurde mehrfach in der gleichen Weise untersucht.

Die Mettschen Röhren zeigen, in Übereinstimmung mit Hekmas¹⁾ Angaben in allen positiven Fällen einen durchscheinenden Kegel an den angedauten Enden der Eiweißsäulchen. Gemessen wurde mit Nonius und Lupenvergrößerung der Abstand von der Spitze des Kegels bis zum freien Rande des Röhrens. Es wurden stets 4 Messungen (2 Röhren) vorgenommen, die gut übereinstimmende Resultate ergaben; die seitliche Abbiegung der Kegelspitze bedingte mitunter kleine Abweichungen. In den Tabellen sind die Mittelwerte aus den 4 Messungen angeführt.

Tabelle I.

Nummer	Ausgangsmaterial	Datum des Versuches	Versuchsordnung	Ver-	Länge
				suchs-	der ver-
				dauer	dauten
				Std.	Eiweiß-
					säule
					mm
1	Frühgeburt vom 19. VI. 08, 2 Std. gelebt, 2130 g, 46 cm; 29 cm T. U., sezirt 2 ³ / ₄ Std. post mort.	20. VI. 08	Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	20 ¹ / ₂	0,3
			" II + "	"	1,85
			" I allein "	"	0
			" II "	"	0
			Schweinepankreas "	"	0
2	Frühgeburt vom 19. VI. 08, 4 Std. gelebt, 2320 g, 48 cm; 33 cm T. U., sezirt 1 ³ / ₄ Std. post mort.	20. VI. 08	Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	20 ¹ / ₂	1,7
			" II + "	"	0,26
			" I allein "	"	0
			" II "	"	0
			Schweinepankreas "	"	0
3	Neugeborenes v. 3. VII. 08, 2770 g, 49 cm; 33 cm T. U., sezirt 11 Std. post mort.	4. VII. 08	Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	24	1,1
			" II + "	"	0,6
			Dünndarminhalt I + "	"	1,5
			Dünndarmschleimh. I allein "	"	0
			" II "	"	0
			Dünndarminhalt I "	"	0
		7. VII. 08	Schweinepankreas "	"	0,5
			Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	26	0,3
			" II + "	50	0,7
			" II + "	26	Spur
			Dünndarminhalt II + "	50	0,35
			" II + "	26	0,2
			" II + "	50	0,65
Dünndarmschleimh. I allein "	"	0			
" II "	"	0			
Dünndarminhalt II "	"	0			
Schweinepankreas "	"	0			

¹⁾ a. a. O., S. 361.

Nummer	Ausgangsmaterial	Datum des Versuches	Versuchs-anordnung	Ver-	Länge
				suchs-	der ver-
				dauer	dauden
				Std.	Eiweiß-
					säule
					mm
4	Neugeborenes v. 10. VII. 08, 3300 g, 54 cm; 35 cm T. U., sezirt 13 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	11. VII. 08	Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	48 ¹⁾	0,5
			" II + "	"	0
			" III + "	"	0,7
			Dünndarminhalt I + "	"	0,4
			" III + "	"	0,3
			Dünndarmschleimh. I allein	"	0
			" II "	"	0
			" III "	"	0
			Dünndarminhalt I "	"	0
			" III "	"	0
5	Frühgeburt vom 18. VII. 08, 820 g, 36 cm; 21 cm T. U., sezirt 13 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	20. VII. 08	Schweinepankreas	"	0
			Dünndarmschleimh. I + Schweinepankreas	49	0,05
			" II + "	"	0,25
			Dünndarminhalt I + "	"	0,3
			" II + "	"	0,4
			Dickdarminhalt + "	"	0,25
			Dünndarmschleimh. I allein	"	0
			" II "	"	0
			Dünndarminhalt I "	"	0
			" II "	"	0
6	Frühgeburt vom 20. VII. 08, 400 g, 30 cm; 18 cm T. U., sezirt 14 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	31. VII. 08	Schweinepankreas	"	Spur
			Dünndarminhalt + Schweinepankreas	29	Spur
			" allein	53	"
			Schweinepankreas "	"	0
7	Frühgeburt vom 6. VIII. 08, 390 g, 27 cm; sezirt 31 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	7. VIII. 08	Dünndarmschleimh. + Schweinepankreas	47	Spur
			Dünndarminhalt + "	"	0,3
			Dünndarmschleimh. allein	"	0
			Dünndarminhalt "	"	0
			Schweinepankreas "	"	0
			" + Dünndarmschleimh. von Nr. 4 (zur Kontrolle)	"	2,6
8	Foetus vom 18. VIII. 08, 150 g, 20 cm; 14 cm T. U., sezirt 6 Std. post mort.	23. VIII. 08	Dünndarm + Schweinepankreas	56	0
			Darminhalt + "	"	0 (Spur?)
			Schweinepankreas allein	"	0
			" + Dünndarmschleimh. von Nr. 4 (als Kontrolle)	24	0,7
9	Frühgeburt vom 19. VIII. 08, 800 g, 31 cm; 21 cm T. U., sezirt 15 Std. post mort.	23. VIII. 08	Dünndarm + Schweinepankreas	56	2,1
			Dünndarm + Schweinepankreas	24	0
			Darminhalt + "	56	0,15
			"	24	0,1
			Dünndarm allein	56	1,4
			Darminhalt "	"	0
10	Frühgeburt vom 19. VIII. 08, 780 g, 31 cm; 21 cm T. U., sezirt 15 Std. post mort.	23. VIII. 08	Schweinepankreas allein	"	0
			Darminhalt + Schweinepankreas	24	0,1
			" allein	56	1,3
			Schweinepankreas allein	"	0
			"	"	0

1) Davon 18 Stunden bei Zimmertemperatur.

Es zeigte sich, daß nicht nur bei ausgetragenen, sondern auch bei frühgeborenen Kindern die Extrakte der Dünndarmschleimhaut einen merklich aktivierenden Einfluß auf das Zymogen des Schweinepankreas ausübten. Selbst bei kleinen Foeten von 390 und 400 g war dieser Einfluß noch nachweisbar, während er beim kleinsten untersuchten Foetus von 150 g Gewicht und 20 cm Länge (Tabelle Nr. 8) fehlte, bzw. nicht mit Sicherheit erkannt werden konnte.

5 mal wurde der obere und untere Dünndarmabschnitt getrennt untersucht. 2 mal schien der obere, 3 mal der untere Abschnitt wirksamer zu sein.

Wie sich aus der Tabelle ergibt, besitzt auch der Darminhalt, und zwar sowohl der des Dünndarms wie auch das im Dickdarm enthaltene Meconium aktivierende Kraft. Im Darminhalt des Neugeborenen und Foetus findet sich zwar ein proteolytisches Ferment, wie Schild¹⁾ zuerst an Gelatineplatten und Ed. Müller²⁾ mit Hilfe der Blutserumplatte dartun konnte. Auch ich konnte das Ferment in gleicher Weise regelmäßig nachweisen. Doch zeigte sich, daß die angewandten 10- bis 20fachen Meconiumverdünnungen auf die Mettschen Eiweißröhrchen keine verdauende Wirkung entfalteten, so daß die Proben auf Enterokinase dadurch nicht beeinträchtigt wurden.

Auch die Schleimhaut des Dickdarmes habe ich mehrfach auf Enterokinasegehalt geprüft. Ich erhielt stets mehr oder minder wirksame Extrakte, und zwar nicht nur aus dem Blinddarm, sondern auch aus tiefer gelegenen Teilen. Es wäre möglich, daß durch anhaftendes Meconium, das gerade im Dickdarm schwer durch Auswaschen ganz zu entfernen ist, ein Fermentgehalt der Schleimhaut vorgetäuscht wurde, der in Wirklichkeit nicht vorhanden war. Da diese Fehlerquelle nicht in allen Fällen berücksichtigt wurde, verzichte ich auf eine zahlenmäßige Wiedergabe der Versuchsergebnisse, möchte aber betonen, daß ich auch bei sehr gründlichem Abspülen unter der Wasserleitung mit Zuhilfenahme von Daumen und Zeigefinger, mehrmals positive Resultate erhielt.³⁾

¹⁾ W. Schild, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 19, 118, 1895.

²⁾ E. Müller, Arch. f. klin. Med. 92, 209, 1908.

³⁾ Auch Hekma (a. a. O., S. 348) fand regelmäßig die Extrakte der Dickdarmschleimhaut (bei Schwein und Katze) kinasehaltig.

Zum Nachweise des Trypsinogens bzw. des Trypsins bediente ich mich der Müller-Jochmannschen Serumplatte¹⁾, die für meinen Zweck besonders geeignet erschien, da sie bei geringstem Materialverbrauch ein rasches und steriles Arbeiten gestattet und auch noch sehr geringe Mengen aktiven Fermentes deutlich erkennen läßt.

Die Bauchspeicheldrüse wurde mit Messer und Schere zerkleinert und im Mörser mit Quarzsand und wenig destilliertem Wasser zu einem feinen Brei zerrieben. Von diesem Brei wurden je 2 Tropfen auf eine Serumplatte ohne sonstigen Zusatz aufgetragen, 2 Tropfen wurden mit etwa der gleichen Menge enterokinasehaltigen Dünndarmextraktes eines Neugeborenen versetzt; als Kontrolle dienten 2 Tropfen des gleichen Dünndarmextraktes ohne weiteren Zusatz. Die Platte kam in einen Thermostaten, dessen Temperatur auf 55 bis 57° eingestellt war. Durchsichtigwerden, Verflüssigung und Dellenbildung bewies das Vorhandensein aktiven Trypsins. Auch bei dieser Versuchsanordnung zeigten die Dünndarmextrakte allein keine tryptischen Eigenschaften.

Tabelle II.

Nr.	Ausgangsmaterial	Datum des Versuches	Versuchsanordnung	Versuchsdauer Std.	Resultat
1	Frühgeburt vom 19. VI. 08, 2130 g, 46 cm; 29 cm T. U., sezirt 2 ³ / ₄ Std. post mort.	19. VI. 08	Pankreasbrei allein	22	⊘
2	Frühgeburt vom 19. VI. 08, 2320 g, 48 cm; 33 cm T. U., sezirt 1 ³ / ₄ Std. post mort.	19. VI. 08	Pankreasbrei allein	22	⊘
3	Neugeborenes vom 10. VII. 08, 3300 g, 54 cm; 35 cm T. U., sezirt 13 ¹ / ₂ Std. post mort.	10. VII. 08	Pankreasbrei allein	4	⊘
			„ „ + Enterokinase vom 4. VII. 08	24	+
			Enterokinase allein	4	+
4	Frühgeburt vom 18. VII. 08, 820 g, 36 cm; 21 cm T. U., sezirt 13 ¹ / ₂ Std. post mort.	18. VII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊘
			„ „ + Enterokinase vom 10. VII. 08	2	+
			Enterokinase allein	24	⊘
5	Neugeborenes vom 20. VII. 08, 3450 g, 52 cm; sezirt 7 ³ / ₄ Std. post mort.	20. VII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊘
			„ „ + Enterokinase vom 10. VII. 08	3	+
			Enterokinase allein	24	⊘

¹⁾ E. Müller und G. Jochmann, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 29.

Tabelle II (Fortsetzung).

Nr.	Ausgangsmaterial	Datum des Versuches	Versuchsordnung	Versuchsdauer Std.	Resultat
6	Frühgeburt vom 20. VII. 08, 400 g, 30 cm; 18 cm T. U., sezirt 14 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	20. VII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	4	+
			Enterokinase allein	24	⊖
7	Frühgeburt vom 6. VIII. 08, 430 g, 27 cm; 20 cm T. U., sezirt 10 $\frac{3}{4}$ Std. post mort.	6. VIII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	3	+
			Enterokinase allein	24	⊖
8	Frühgeburt vom 6. VIII. 08, 390 g, 27 cm; sezirt 31 $\frac{1}{2}$ Std. post mort.	6. VIII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	20	+
			Enterokinase allein	24	⊖
9	Säugling v. 6 Wochen, Brustkind, an Eklampsie † am 6. VIII. 08, sezirt 5 Std. post mort.	6. VIII. 08	Pankreasbrei allein	1	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	24	+
			Enterokinase allein	24	⊖
10	Frühgeburt vom 12. VIII. 08, 2050 g, 47 cm; 31 cm T. U., sezirt 10 Std. post mort.	12. VIII. 08	Pankreasbrei allein	20	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	1	+
			Enterokinase allein	20	⊖
11	Foetus vom 18. VIII. 08, 150 g, 20 cm; 14 cm T. U., sezirt 6 Std. post mort.	18. VIII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	1 $\frac{1}{2}$	eben +
			Enterokinase allein	24	eben +
12	Frühgeburt vom 19. VIII. 08, 780 g, 31 cm; 21 cm T. U., sezirt 15 Std. post mort.	19. VIII. 08	Pankreasbrei allein	24	⊖
			„ + Enterokinase vom 10. VII. 08	1 $\frac{1}{2}$	+
			Enterokinase allein	24	⊖

Es zeigte sich, daß bei der angewandten Versuchsordnung fast durchweg mit dem Pankreasbrei allein negative Resultate erzielt wurden, daß hingegen auch bei kleineren Foeten der Pankreasbrei die Serumplatte verdaute, wenn das Trypsinogen durch Enterokinasezusatz in wirksame Form übergeführt worden war. Die negativen Befunde von Jaeggy dürften sich wohl durch diese Feststellung leicht erklären lassen. Er arbeitete auch mit sehr frischem Material, bei dem eine Aktivierung

durch Bakterien, die sonst ja leicht eintreten kann, noch nicht erfolgt war.

Bei einem Neugeborenen (Nr. 3) und einem 6 Wochen alten Säugling (Nr. 9) war neben dem Zymogen auch aktives Trypsin zu konstatieren; bei einem anderen Neugeborenen (Nr. 5) wurde letzteres vermißt.

Der jüngste Foetus, bei dem sich das Ferment eben nachweisen ließ (Nr. 11), war 150 g schwer und 20 cm lang; es entspricht das etwa dem 4. Foetalmonat. Das Trypsinogen gehört somit jedenfalls zu den ersten Verdauungsfermenten, die sich beim menschlichen Embryo einstellen. Die Probe auf Enterokinase war bei dem gleichen Foetus fraglich geblieben.

Es sei hier kurz angefügt, was über die anderen proteolytischen Verdauungsfermente beim menschlichen Embryo bekannt ist.

Pepsin wurde von Zweifel¹⁾ bei einem 4monatigen Foetus vermißt, ebenso auch von Langendorff²⁾ bei einem Foetus aus dem 3. Monat; dagegen konnte der gleiche Autor das Ferment vom 4. Foetalmonat an regelmäßig (in 7 Fällen) nachweisen.

Über das Erepsin liegen mehrere Mitteilungen vor. O. Cohnheim³⁾ selbst hatte das Ferment schon beim Neugeborenen nachweisen können. Jaeggy⁴⁾ fand es sowohl bei 2 reifen Neugeborenen, als auch bei 4 frühgeborenen Kindern in der Dünndarmschleimhaut. Das jüngste Kind stammte aus dem 5. Monat (25 cm Länge), bei einem 14 cm langen Foetus (4. Monat) fehlte das Erepsin. Analoge Befunde erhoben Langstein und Soldin⁵⁾. Sie fanden Erepsin bei einem frühgeborenen Kind von 1570 g (7. Monat), vermißten es dagegen bei einem $4\frac{1}{2}$ Monate alten Foetus (24 cm Länge).

Daß auch der Darminhalt des Neugeborenen Erepsin enthält, ist durch Schoenberner⁶⁾ kürzlich ermittelt worden.

1) Zweifel, a. a. O., S. 35.

2) O. Langendorff, a. a. O., S. 106 ff.

3) Laut mündlicher Mitteilung.

4) E. Jaeggy, a. a. O.

5) L. Langstein und M. Soldin, *Jahrb. f. Kinderheilk.* 67, 9, 1908.

6) R. Schoenberner, *Zur Kenntnis der Meconiumfermente.* J. D., München 1909.

Aus der Gesamtheit der bisher vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß die proteolytischen Verdauungsfermente in den Verdauungsdrüsen beim menschlichen Embryo fast gleichzeitig sich einstellen, und zwar ist zuerst das Pepsin (Anfang des 4. Monats), dann bald nacheinander das Trypsin (4. Monat) und das Erepsin (5. Monat) nachweisbar. Die Enterokinase erscheint kurz nach, möglicherweise sogar gleichzeitig mit dem Trypsinogen.

Über den Einfluß der Pepsin- und Salzsäuremengen auf die Intensität der Verdauung, speziell bei Abwesenheit „freier“ Salzsäure.

Von

Julius Schütz, Wien-Marienbad.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolf-Stiftung“ zu Wien.)

(Eingegangen am 25. August 1909.)

Von klinisch-diagnostischen Gesichtspunkten ausgehend, habe ich in zwei früheren Mitteilungen¹⁾ gezeigt, daß auch bei beträchtlichem Salzsäuredefizit eine Pepsinverdauung möglich ist und daß diese Verdauung desto intensiver verläuft, je mehr Gesamtsalzsäure vorhanden ist. In praktischer Beziehung ermöglichte diese Feststellung, neben dem Ewald-Boasschen Probefrühstück und in Ergänzung desselben, Milch als Probenahrung zu verwenden, ein Verfahren, welches zum Teil bereits zu diagnostisch brauchbaren Ergebnissen²⁾ geführt hat, und mit dessen möglichst quantitativer Ausarbeitung ich derzeit beschäftigt bin. Konnte demnach die Frage, soweit sie eine Basis für rein diagnostische Überlegungen abgab, zum größten Teil als abgeschlossen betrachtet werden, so blieben doch in physiologischer, bzw. biochemischer Hinsicht eine ganze Reihe von Fragestellungen offen. Es wird dies verständlich, wenn man sich vor Augen hält, daß der überwiegend größte Teil der Untersuchungen — wenn nicht gar alle —, welche den Einfluß der Pepsin- und Salzsäuremengen auf die Intensität der Verdauung zum Vorwurfe hatten, stets, oder doch in erster Linie

¹⁾ Wiener med. Wochenschr. 1906 u. Wiener klin. Wochenschr. 1907.

²⁾ Kongr. f. inn. Med. in Wien 1908 und Wiener med. Wochenschr. 1908.

nur die Menge der „freien“, d. h. überschüssigen Salzsäure berücksichtigten. Durch die Feststellung nun, daß bereits weit unterhalb des Sättigungspunktes¹⁾ Pepsinverdauung nachweisbar wird, erhob sich die Forderung, die ganze oben erwähnte Frage in der Weise zu revidieren, daß man ganz kleine Mengen (gebundener) Salzsäure zum Ausgangspunkt nähme und den Verdauungseffekt mit demjenigen bei Anwesenheit steigender Salzsäuremengen vergliche. In der vorhergehenden Mitteilung war ich dieser Frage bereits nahegetreten und zu dem oben erwähnten Ergebnis gelangt, daß unterhalb des Sättigungspunktes die Intensität der Verdauung mit steigenden Salzsäuremengen größer wird. Von irgendwelcher genaueren mathematischen Charakterisierung mußte damals abgesehen werden, weil, wie daselbst ausführlich auseinandergesetzt wurde, die Volhardsche Methode bei der von mir gewählten Versuchsanordnung nicht ausreichte. Es war daher nötig, die Untersuchungen mit der zwar umständlichen, jedoch quantitativ-analytisch völlig eindeutigen Methode des nicht koagulablen N zu wiederholen und zu erweitern. Es sei zunächst eine Serie der Versuche wiedergegeben.

Versuchsreihe 1.

Als Versuchsmaterial diente ausschließlich frisches Eierklar. Kleine Kochkölbchen wurden mit je 10 ccm Eierklar, wechselnden Mengen $\frac{2}{10}$ -HCl²⁾ und mit je 1 ccm einer Lösung von 5 g Pepsinum purissimum (Grübler) in 250 ccm $\frac{2}{10}$ -HCl beschickt und mit destilliertem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. Die Kölbchen blieben dann 12 bis 14 Stunden im Thermostaten, wurden dann mit N-freier 0,6%iger Kochsalzlösung (weil nach meiner Beobachtung bei Verwendung von destilliertem Wasser jedenfalls wegen der zu geringen Salzkonzentration die Koagulation manchmal mißlingt) in Porzellanschalen übergespült und bei sehr schwach essigsaurer Reaktion durch Aufkochen enteiweißt. Im Filtrat wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt und von dem erhaltenen Wert derjenige abgezogen, der sich für nicht koagulablen N in den Kontrollproben,

¹⁾ Unter Sättigungspunkt einer Eiweißlösung gegenüber Salzsäure ist hier — in Übereinstimmung mit der allgemein üblichen Bezeichnung — derjenige Gehalt einer Eiweißlösung an Salzsäure verstanden, bei welchem noch keine freie Salzsäure nachweisbar ist, aber ein selbst minimaler weiterer Zusatz von Salzsäure positive Reaktion auf freie Salzsäure zur Folge hat.

²⁾ Da Eierklar gegen Phenolphthalein alkalisch reagiert, so wurde diese Alkaleszenz stets durch Zusatz von je 1 ccm $\frac{2}{10}$ -HCl auf 10 ccm Eierklar abgestumpft. In den Zahlen für die verwendeten HCl-Mengen ist dieser eine Kubikzentimeter $\frac{2}{10}$ -HCl nicht inbegriffen.

d. h. ohne Pepsinzusatz ergeben hatte. Der erhaltene Wert gibt die Menge des verdauten N (bzw. Eiweißes) an. Die erhaltenen Zahlen verstehen sich nach Abzug des N-Wertes für die Pepsin-HCl-Lösung (= 3,0 mg pro Kubikzentimeter) und bilden das Mittel aus zwei Parallelversuchen. Das HCl-Bindungsvermögen wurde gegen Kongopapier bestimmt. Über das Verhältnis der angegebenen Werte gegenüber den durch die Methylacetatmethode gewonnenen siehe unten.

Versuch 1.

Dauer: 6 Stunden bei 37°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm (Kongo Spur).¹⁾

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	2,5	1,0	3,5	ad 50,0	1,9 = fast 0
10	6,0	1,0	7,0	ad 50,0	8,9
10	13,0	1,0	14,0	ad 50,0	32,0

Versuch 2.

Dauer: 20 Stunden bei 37°.

HCl-Bindungsvermögen: 14 ccm (Kongo-Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	2,0	1,0	3,0	ad 50	1,9 = fast 0
10	5,0	1,0	6,0	ad 50	7,2
10	8,0	1,0	9,0	ad 50	36,2

Versuch 3.

Dauer: 16 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm (Kongo Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	2,5	1,0	3,5	ad 50	4,0
10	6,0	1,0	7,0	ad 50	16,0
10	13,0	1,0	14,0	ad 50	46,7

Versuch 4.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm (Kongo Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	5,0	1,0	6,0	ad 50	15,0
10	11,0	1,0	12,0	ad 50	42,0
10	35,0	1,0	36,0	ad 50	144,0

¹⁾ scil: 10 ccm Eierklarlösung binden 16 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl, wobei als Endreaktion eine spurweise Bläuung von Kongopapier angenommen wurde.

Versuch 5.

Dauer: 14 Stunden bei 37 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 13,0 ccm (Kongo Spur), 18,0 ccm deutlich.

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest. ad 100	Verdaut N mg
10	4,0	1,0	5,0	ad 100	28
10	9,0	1,0	10,0	ad 100	21,0
10	19,0	1,0	20,0	ad 100	91,0

Aus obigen Versuchen geht folgendes hervor:

1. In Bestätigung früherer (in der 2. Mitteilung publizierter) Versuche, daß unterhalb des Sättigungspunktes die Intensität der Verdauung desto größer wird, je mehr Salzsäure vorhanden ist.

2. Das Optimum der Pepsinverdauung liegt oberhalb des HCl-Sättigungspunktes (s. u.).

3. Die Intensität der Pepsinverdauung ist nicht in einfacher Proportion von den Salzsäuremengen abhängig, sondern zeigt einen schnelleren Anstieg als diese — beim Eiereiweiß ungefähr dem Quadrat der Salzsäuremengen entsprechend.

Versuchsreihe 2.

Um zu prüfen, wie weit bei gleichbleibendem HCl-Gehalt die Intensität der Pepsinverdauung von den relativen Pepsinkonzentrationen abhängig ist, bzw. ob das Quadratwurzelgesetz (E. Schütz, Borissow, Verf. u. a.) der Pepsinwirkung auch unterhalb des HCl-Sättigungspunktes gilt, wurden folgende Versuche angestellt.

Versuch 6.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl (Kongo Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest. ad 50	Verdaut N mg
10	8,0	1,0	9,0	50	21,5
10	5,0	4,0	9,0	50	37,7
10	0	9,0	9,0	50	38,0

Versuch 7.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 14,0 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl (Kongo Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest. ad 100	Verdaut N mg
10	8,0	1,0	9,0	50	21,5
10	5,0	4,0	9,0	50	25,5
10	0	9,0	9,0	50	19,0

Versuch 8.

Dauer: 20 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl (Kongo Spur).

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest. ad 50	Verdaut N mg
10	8,9	0,1	9,0	50	6,5
10	8,6	0,4	9,0	50	15,7
10	8,1	0,9	9,0	50	24,7

In diesen drei Versuchen ließ sich einigemal das Quadratwurzelgesetz erkennen, jedoch nicht in jener Schärfe, wie dies bei einem Salzsäureüberschuß der Fall ist. Was den Grund dieses Unterschiedes ausmacht, ob er tatsächlich eine Eigenschaft des Pepsins selbst ist oder nur von gewissen Eigentümlichkeiten der verwendeten Eiweißkörper abhängt, ließe sich erst auf Grund ausgedehnter Versuchsreihen entscheiden. Jedenfalls fordern diese Versuche dazu auf, den Einfluß der relativen Pepsinmengen auf die Verdauung auch unterhalb des Sättigungspunktes zu untersuchen, bevor sich ganz verallgemeinernde Schlüsse ziehen lassen.

Auf jeden Fall gehen aus der Versuchsreihe 2 in Zusammenhang mit Versuchsreihe 1 folgende Tatsachen hervor:

1. Der relative Anstieg der Verdauungsintensität bei Steigerung der HCl-Mengen und gleichbleibender Pepsinmenge ist weitaus größer als der relative Anstieg der Verdauungsintensität bei Steigerung der Pepsinmengen und gleichbleibenden HCl-Mengen.

2. Pepsin und Salzsäure können sich innerhalb gewisser Grenzen vertreten,¹⁾ doch hat *ceteris paribus* eine relative Steigerung der Salzsäuremenge einen weitaus größeren Einfluß auf die Verdauungsintensität als eine Steigerung der Pepsinmenge.

3. Diese Erscheinungen treten besonders unterhalb des Sättigungspunktes klar zutage.

Um zu prüfen, ob für den Umfang der Verdauung die Konzentration oder die absolute Menge der HCl in Betracht kommt — eine Frage, der sich nur dann mit Erfolg näher treten läßt, wenn man mit Salzsäuremengen unterhalb des Sättigungspunktes arbeitet — wurde folgende Versuchsreihe angestellt.

¹⁾ Diese Tatsache gewinnt an biologischer Bedeutung, wenn man sie mit dem kürzlich von Kudo (diese Zeitschr. 16) auf anderem Wege erhobenen Befunde vergleicht, wonach bei großer Quantität des Magensaftes der Pepsingehalt geringer ist und umgekehrt.

Versuchsreihe 3.**Versuch 9.**

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 15 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl (Kongo Spur).

Anderung der Konzentration des Pepsins und der Salzsäure bei gleichbleibender absoluter Menge.

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	9,0	1,0	10,0	50	20,0
10	9,0	1,0	10,0	25	27,0
10	9,0	1,0	10,0	100	18,0

Versuch 10.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 13,0 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl (Kongo Spur).

Anderung der HCl-Konzentration bei gleichbleibender absoluter Menge und gleichbleibender Pepsinkonzentration.

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	9,0	1,0	10,0	ad 50	21,5
10	8,0	2,0	10,0	ad 100	21,0
10	9,5	0,5	10,0	ad 25	19,5

Versuch 11.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 16,0 ccm (Kongo Spur).

Gleichbleibende Pepsinkonzentration.

Einerseits Änderung der HCl-Konzentration, andererseits der HCl-Menge.

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	8,0	2,0	10,0	ad 100	21,0
10	9,5	0,5	10,0	ad 25	22,5
10	14,0	1,0	15,0	ad 50	44,0

Versuch 12.

Dauer: 13 Stunden bei 38 bis 40°.

HCl-Bindungsvermögen: 14,0 ccm (Kongo Spur).

Anderung der HCl- und Pepsinkonzentration bei gleichbleibender absoluter Menge.

Eierklar ccm	$\frac{1}{10}$ -HCl ccm	Pepsin-HCl ccm	Gesamt-HCl ccm	Aqua dest.	Verdaut N mg
10	9,0	1,0	10,0	ad 50	18,0
10	9,0	1,0	10,0	ad 25	25,0
10	9,0	1,0	10,0	ad 100	21,0
10	6,0	4,0	10,0	ad 50	25,0
10	6,0	4,0	10,0	ad 100	24,0

Es geht aus dieser Versuchsreihe demnach hervor, daß bei Verdauung von Eierklarlösungen, deren HCl-Gehalt noch tief unterhalb des Optimums liegt, die Konzentration des HCl um auf das mindestens Vierfache vermindert werden kann, ohne daß sich ein Einfluß auf die Verdauungsintensität nachweisen läßt, während Änderungen der absoluten HCl-Mengen — wie oben gezeigt — von tiefgreifendem Einflusse sind.

Schlußfolgerungen.

Die in dieser und den früheren Arbeiten mitgeteilten Versuche lassen es möglich erscheinen, bezüglich der Rolle der H-Ionen bei der Pepsinverdauung eine gewisse einheitliche Auffassung zu gewinnen.

Als nunmehr endgültig festgestellte Tatsache kann der Satz gelten:

„Zum Zustandekommen der Pepsinverdauung ist die Anwesenheit von H-Ionen nicht notwendig.“

Indem ich bezüglich der Literatur auf meine beiden früheren Mitteilungen — wo diese ausführlich berücksichtigt ist — verweise, muß ich nur kurz auf eine Arbeit Albert Müllers (Arch. f. klin. Med. 1908) eingehen, welcher zu dem Resultat gelangt, daß „die Pepsinverdauung der Eiweißkörper nur von dem wahren Säuregehalt, der H-Ionenkonzentration abhängig ist“.

Dies ist aus folgenden Gründen nicht richtig:

1. geht aus Müllers eigenen Versuchen — in teilweiser Bestätigung meiner früheren Versuche — das direkte Gegenteil hervor;

2. widerspricht es der üblichen Nomenklatur, von H-Ionen zu sprechen, wenn es sich um an Eiweiß gebundene Salzsäure handelt;

3. bestimmt genannter Autor die H-Ionenkonzentration seiner Eiweiß-HCl-Lösungen nicht direkt, sondern stellt entsprechende Alanin-HCl-Lösungen her und überträgt die mit Alaninlösungen erhaltenen Resultate ohne weiteres und ganz willkürlich auf die Eiweißlösungen, ein Vorgang, dessen absolute Unzulässigkeit wohl außerhalb jeder Diskussion steht;

4. sind diejenigen Versuche Müllers (wie von mir bereits in der vorigen Mitteilung auseinandergesetzt), welche mit suspendiertem Fibrin angestellt wurden — die mit Casein- und Eiweißlösungen stellen nichts anderes als die Bestätigung meiner Versuche dar —, überhaupt nicht für das Studium des primären Einflusses der HCl auf die Eiweißverdauung geeignet, sondern sind in ihren Resultaten von dem Einfluß der Acidität, der elektrischen Ladung usw. auf die Verteilung des Pepsins [M. Jacoby¹⁾, L. Michaelis²⁾] abhängig, ebenso von den Verteilungsgesetzen der HCl zwischen verschiedenen Eiweißkörpern [O. Cohnheim³⁾, Spiro und Pemsel⁴⁾ u. a.].

Ein Einwand, den Müller gegen meine Versuche macht, besteht nicht zu Recht. Er wendet nämlich ein, es hätte sich bei einigen meiner Versuche in der vorigen Mitteilung⁵⁾ nicht um freie Salzsäure, sondern um HCl-Defizite gehandelt, weil zur Bestimmung des HCl-Sättigungspunktes Kongopapier verwendet wurde. Abgesehen davon, daß ich die Berechtigung dieses Verfahrens daselbst ausführlich diskutiert habe — welchen Umstand Müller, nebenbei gesagt, zu erwähnen für überflüssig zu erachten scheint —, zeigen die gleich mitzuteilenden Versuche, daß das Kongopapier zur Bestimmung der Salzsäure-Eiweiß-Sättigungsgrenze beim Studium der Pepsinverdauung sehr geeignet ist.

Versuchsreihe 4.

Die Versuche wurden im Prinzip nach F. A. Hofmann⁶⁾ bzw. Ostwald⁶⁾ angestellt.

¹⁾ M. Jacoby, diese Zeitschr. 1, 2, 4.

²⁾ L. Michaelis, diese Zeitschr. 16.

³⁾ O. Cohnheim, Zeitschr. f. Biol. 35.

⁴⁾ Spiro und Pemsel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26.

⁵⁾ Wiener klin. Wochenschr. 1907.

⁶⁾ Zit. nach Hamburger, Osmotischer Druck u. Ionenlehre usw.

Versuch 13.

Caseinlösung nach Volhard. Dauer: 13 Stunden bei 40°.

HCl-Bindungsvermögen (auf 20 ccm) Kongo Spur: 18,0, Kongo schwach positiv: 19,0, Kongo deutlich: 20,0.

Caseinlösung ccm	$\frac{n}{10}$ -HCl	Methylacetat 5% ccm	Aq. dest.	Aciditätszunahme $\frac{n}{10}$ -NaOH ccm
20	25	0	ad 60	0,0
0	3,0	10,0	ad 60	8,2
0	1,0	10,0	ad 60	2,9
0	7,0	10,0	ad 60	20,8
20	25,0	10,0	ad 60	23,6

Demnach HCl-Bindungsvermögen = 25 - (7 - 8) = 17 - 18.

Versuch 14.

Caseinlösung nach Volhard. Dauer: 12 Stunden bei 37°.

HCl-Bindungsvermögen (Kongo Spur): 16: 20.

Caseinlösung ccm	$\frac{n}{10}$ -HCl	Methylacetat 5% ccm	Aq. dest.	Aciditätszunahme $\frac{n}{10}$ -NaOH ccm
0	1,0	10,0	ad 60	1,2
0	4,0	10,0	ad 60	6,2
0	8,0	10,0	ad 60	11,5
20	25,0	10,0	ad 60	12,8
20	25,0	0	ad 60	0

Demnach HCl-Bindungsvermögen = 25 - (8 - 9) = 16 - 17.

Versuch 15.

Caseinlösung nach Volhard. Dauer: 20 Stunden bei 38°.

HCl-Bindungsvermögen (Kongo Spur): 17,0: 20,0.

Caseinlösung ccm	$\frac{n}{10}$ -HCl	Methylacetat 5% ccm	Aq. dest.	Aciditätszunahme $\frac{n}{10}$ -NaOH ccm
0	1,0	10,0	ad 60	3,3
0	4,0	10,0	ad 60	11,5
0	8,0	10,0	ad 60	24,0
20	25,0	10,0	ad 60	21,1
20	25,0	0	ad 60	0

Demnach HCl-Bindungsvermögen = 25 - (8 - 9) = 16 - 17.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß das Kongopapier bei Casein-Salzsäurelösungen fast genau den Punkt angibt, welcher dem Auftreten mittels der Methylacetatmethode nach-

weisbarer H-Ionen entspricht.¹⁾ Die Günsburgsche Reaktion, die für klinische Zwecke sehr verwendbar erscheint, ist bei Verdauungsversuchen im Reagensglas jedoch nicht zweckmäßig, weil sie das Bindungsvermögen der Eiweißkörper gegenüber Salzsäure in eingedampften, d. i. hochkonzentrierten Lösungen anzeigt, wobei im Vergleich zur ursprünglichen Konzentration bekanntlich ganz andere Werte erhalten werden.

Die Kongoreaktion jedoch wird bei derjenigen Konzentration vorgenommen, bei welcher auch die Verdauung selbst verläuft, spiegelt daher die tatsächlichen Verhältnisse wider und ist demnach zur Bestimmung des HCl-Bindungsvermögens von Eiweißkörpern bei Pepsinverdauungsversuchen vorzuziehen.

Zur Bedeutung der H-Ionen für die Pepsinverdauung zurückkehrend, sei nun folgendes bemerkt. Wenn auch nunmehr bewiesen ist, daß ihre Anwesenheit hierzu nicht nötig ist, so könnten doch unsere Versuche, aus denen hervorgeht, daß das Optimum der Verdauung jenseits des Sättigungspunktes liegt, der Ansicht Raum lassen, der freien HCl komme noch eine bestimmte Rolle bei der Pepsinverdauung zu. Die Frage ließe sich ziemlich eindeutig lösen, wenn man verfolgen könnte, wie sich die Verdauungskurve an dem Sättigungspunkte verhält. Dies ist jedoch schwer möglich, weil sich der Sättigungspunkt vom ersten Moment der Verdauung an — sobald nämlich Eiweißabbauprodukte auftreten — stetig und recht schnell verschiebt.

Indem ich mir vorbehalte, diese Frage seinerzeit einer weiteren experimentellen Bearbeitung und Diskussion zu unterziehen, sei es mir gestattet, hier eine Hypothese bezüglich der Rolle der freien HCl auszusprechen, die vielleicht — wenn auch nur rein heuristisch — es ermöglicht, die Frage von der Bedeutung der H-Ionen (der „freien HCl“) für die Pepsin-

¹⁾ Bei analog angestellten Versuchen mit Eierklarlösungen zeigte sich eine gewisse Divergenz der Kongowerte im Vergleich mit dem Methylacetat (höchstens 3 bis 5 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH entsprechend), doch ist diese Divergenz nicht auf Rechnung der Kongomethode zu setzen, sondern hat ihren Grund darin, daß HCl im Laufe des Versuches langsam neutralisiert wird (wahrscheinlich durch die Carbonate). Auf jeden Fall übersteigt der Wert von 19 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl in Versuch XVIII meiner vorigen Mitteilung die angegebenen Fehlergrenzen bei weitem.

verdauung von einem einheitlichen Gesichtspunkt betrachten zu können.

Die Hypothese findet ihre induktive Basis in den grundlegenden Untersuchungen von O. Cohnheim (l. c.) sowie Spiro und Pemsel u. a., aus denen sich schließen läßt, daß die Salzsäure, die mit Eiweiß verbunden ist, diesem wieder entrissen werden kann, wenn gleichzeitig tiefer stehende Eiweißabbauprodukte vorhanden sind. Es ist daher mehr als wahrscheinlich, daß die im Laufe der Pepsinverdauung auftretenden Abbauprodukte dem nativen Eiweiß die Salzsäure ganz oder zum Teil entreißen und es daher der Verdauung unzugänglich machen. Es ist im Lichte dieser Auffassung klar, daß eine Eiweißlösung, die gerade mit HCl gesättigt ist, noch nicht optimal verdaut werden wird, da die sofort mit dem Einsetzen der Verdauung entstehenden Albumosen und Peptone mit dem nativen Eiweiß in Konkurrenz treten, diesem die Salzsäure zum Teil entreißen und einen Teil desselben der Verdauung unzugänglich machen. Ist dagegen ein genügender Überschuß von HCl vorhanden, so wird dieser in Beschlag genommen, so daß die mit dem nativen Eiweiß bereits verbundene HCl nicht erst in Anspruch genommen zu werden braucht. Wenn auch in Wirklichkeit der Vorgang ein komplizierterer sein dürfte, so hat dieses Schema viel Wahrscheinlichkeit für sich — zumindest lassen sich die bisher bekannten Tatsachen damit gut in Einklang bringen.

Die Rolle der H-Ionen („freien“ Salzsäure) würde demnach einfach darin bestehen, die nativen Eiweißkörper vor ihren Abbauprodukten im Konkurrenzkampf um die Salzsäure zu schützen.

Es ließe sich vielleicht auch folgender allgemeine Satz formulieren:

„Wenn in einem Verdauungsgemisch native Eiweißkörper neben anderen HCl-bindenden Substanzen vorhanden sind, so werden erstere um so intensiver verdaut werden, je günstiger sich der Verteilungsquotient der Salzsäure zwischen ihnen und den anderen HCl-bindenden Substanzen für sie (d. i. die nativen Eiweißkörper) stellt.“

Bezüglich Anwendung dieses Satzes auf verschiedene spezielle Fälle (geronnenes Eiweiß usw.) sowie bezüglich des Einflusses überschüssiger („freier“) HCl auf den Verteilungsquotienten —

auf welchen Punkt sich m. E. die ganze Frage von der Bedeutung der freien HCl in letzter Linie zuspitzt — müssen weitere Untersuchungen angestellt werden.

Ergebnisse.

Wie bereits früher für Casein nachgewiesen, kommt auch in Eierklarlösungen kräftige Pepsinverdauung bei einem beträchtlichen Salzsäuredefizit zustande.

Die Anwesenheit von H-Ionen ist für die Pepsinverdauung nicht notwendig.

Die Pepsinverdauung beginnt bereits bei einem sehr geringen Gehalt von (an Eiweiß gebundener) Salzsäure.

Die Intensität der Pepsinverdauung steigt bei Eierklarlösungen mit der Menge der Salzsäure, jedoch handelt es sich hierbei nicht um eine einfache Proportionalität, sondern die Intensität der Pepsinverdauung von Eierklarlösungen scheint innerhalb gewisser Grenzen ungefähr dem Quadrat der Salzsäuremengen zu entsprechen.

Für die Intensität der Pepsinverdauung von Eierklarlösungen ist in erster Linie nicht die relative Konzentration, sondern die absolute Menge der Salzsäure maßgebend.

Salzsäure und Pepsin können sich innerhalb gewisser Grenzen vertreten, doch hat die Salzsäure *ceteris paribus* einen weitaus stärkeren Einfluß auf die Intensität der Pepsinverdauung.

Das Quadratwurzengesetz der Pepsinwirkung scheint auch bei Abwesenheit freier Salzsäure zu gelten.

Die Rolle der überschüssigen („freien“) Salzsäure dürfte in erster Linie darin bestehen, daß sie die nativen Eiweißkörper vor der Losreißung der an sie verketteten Salzsäure seitens der im Laufe der Verdauung entstandenen Eiweißabbauprodukte schützt, demnach nichts als eine Art Reservevorrat darstellt.

Über die Gasspannung in der Lunge, bei der zwingend ein neuer Atemzug ausgelöst wird.

Von

Alfred Leimdörfer.

(Aus dem physiologischen Institut der Hochschule für Bodenkultur
in Wien.)

(Eingegangen am 23. August 1909.)

Mit 2 Figuren im Text.

Einleitung.

Geppert und N. Zuntz¹⁾ haben durch ihre Versuche den Beweis erbracht, daß das Blut der Träger der Atemreize ist. Unter normalen Bedingungen bildet nach den Untersuchungen von N. Zuntz und A. Loewy²⁾ die Kohlensäure den Atemreiz, während nur hochgradige Verminderung des Sauerstoffgehaltes in der Atemluft erregend aufs Respirationszentrum wirkt. Zu demselben Resultate kommen Haldane und Priestley³⁾. Doch während Geppert und Zuntz speziell für die Zeit der Muskelarbeit die im tätigen Muskel gebildeten intermediären Stoffwechselprodukte als Atemreiz annehmen, reguliert nach Haldane und Priestley auch während gewöhnlicher Muskelarbeit die Kohlensäure die Atmung.

Bei Sauerstoffmangel ist nach Haldane und Poulton⁴⁾ der Kohlensäurereiz der vorherrschende; der Sauerstoffmangel selbst wirkt nicht direkt, sondern, wie es besonders Boycott und Haldane⁵⁾ darlegen, die bei Sauerstoffmangel entstehenden intermediären Stoffwechselprodukte bilden die Atemreize. Pflüger⁶⁾ weist schon auf die Bedeutung solcher Stoffe bei Sauerstoffmangel hin, indem er sagt: „Mutmaßlich wirkt der Mangel an Sauerstoff deshalb so positiv giftig, weil

¹⁾ Pflügers Archiv 42.

²⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1897.

³⁾ Journ. of Physiol. 32.

⁴⁾ Journ. of Physiol. 37.

⁵⁾ Journ. of Physiol. 37.

⁶⁾ Pflügers Archiv 1.

er eine Anhäufung der sich fortwährend im Körper bildenden, leicht oxydierbaren Stoffe zur Folge hat, welche das respiratorische Zentralorgan in der Medulla oblongata und viele motorische Ganglienzellen heftig erregen.“

Diese Stoffe sind nach Lehmann, Hoppe-Seyler) u. a. organische Säuren. In Zusammenhang mit dieser Tatsache steht der Befund Galeottis), daß in sauerstoffarmer Luft und im Hochgebirge, in verdünnter, also ebenfalls sauerstoffarmer Luft, eine Abnahme der Blutalkalescenz zustande kommt. Nach N. Zuntz¹⁾ reagiert das Atemzentrum sehr fein auf diese Blutreize. Wir hätten deshalb nach Zuntz in der verstärkten Atmung des ruhenden Menschen das feinste Reagens, daß irgendwo im Körper Sauerstoffmangel besteht. Von diesem Gesichtspunkt aus sei die bei Anämie und Chlorose, im Hochgebirge oder in der verdünnten Luft abnorm starke Atmung zu verstehen.

Ebenso wie Haldane und seine Mitarbeiter schließen Hill und Flack²⁾ aus ihren Versuchen, daß die normale Atmung durch den Kohlensäuregehalt der Alveolarluft geregelt wird, dagegen spielt nach ihnen in Fällen von behinderter Oxydation des Blutes die verringerte Sauerstofftension eine größere Rolle. Sie kommen zu diesem Schlusse durch Versuche, aus denen sich ergab, daß nach möglichst langem Atemanhalten der alveolare Sauerstoffprozentgehalt tiefer sinkt, als der Kohlensäureprozentgehalt ansteigt. Scott³⁾, welcher ebenfalls Versuche über die Regulation der Atmung ausführte, fand ebenso, wie es sich bei den früher erwähnten Versuchen gezeigt hat, daß das Respirationszentrum durch geringe Mengen von Kohlensäure oder durch starke Verminderung des Sauerstoffes in der Einatemungsluft erregt werden könne.

Um einen Beitrag zur Frage nach der Bedeutung der alveolaren Kohlensäure- und Sauerstofftension zu liefern, wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

Es wurde nach verschieden tiefer Einatmung von atmosphärischer Luft, in anderen Versuchen von Gasgemischen, der Atem so lange angehalten, bis gebieterisch der Zwang eintrat, auszuatmen. Dann wurde die expirierte Luft behufs Festsetzung der Alveolartensionen analysiert.

Versuche mit atmosphärischer Luft.

Nach möglichst kräftiger Expiration wurde durch einen Zweiweghahn (*H*) bei *F* atmosphärische Luft eingeatmet. Der Mund befand sich, um Röhrenatmung möglichst auszuschließen, ganz nahe am Hahn. Es wurde ein Kautschukmundstück mit Einbeißblappen verwendet. Hierauf wurde der Hahn umgedreht und stand nun mit einem Kautschuksack (*K*) in Verbindung.

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. Suppl. 1905, N. Zuntz, Sitzungsberichte.

²⁾ Journ. of Physiol. 37.

³⁾ Journ. of Physiol. 37.

Der Atem wurde so lange als irgend möglich angehalten, dann maximal in den Sack ausgeatmet und der Hahn sofort wieder umgedreht. Die Dauer des Atemanhaltens wurde nicht bestimmt, weil dies durch die Art der Methodik — es mußte zweimal der Hahn umgelegt werden — nicht möglich war, die Bestimmung hätte auch wenig Zweck gehabt, weil der Sauerstoffverbrauch in den einzelnen Versuchen ein wechselnder war, indem bereits die verschieden starken Inspirationen, abgesehen von den sonstigen Handgriffen, die der Versuch erforderte, verschiedene Muskeltätigkeit erforderten. Es befand sich nun die expirierete Luft luftdicht abgeschlossen im Kautschuksack, wo sie vorerst durchgemischt wurde. Das die Verbindung zwischen Hahn und

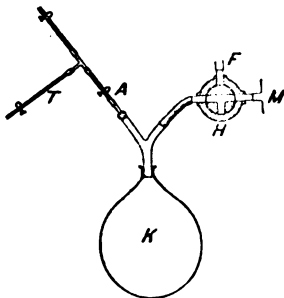


Fig. 1.

Sack herstellende Rohr hatte eine durch einen Hahn verschließbare Abzweigung (A), welche zu einer Durigschen Meßflasche¹⁾ führte, um das Volumen der expirierten Luft bestimmen zu können. Durch Einschaltung eines T-Stückes (T) in die zur Flasche führende Leitung war es möglich, aus einer capillaren Abzweigung in Sammelröhren Proben der expirierten Luft aufzufangen, welche im Zuntz-Geppertschen Analysenapparat²⁾ analysiert wurden. Bei den Analysen wurde zur Absorption des Sauerstoffs Natriumhydrosulfit³⁾ angewendet, welches in kurzer Zeit verlässliche Resultate lieferte und bei den Versuchen mit sauerstoffreichen Gasgemischen überhaupt nur zur Verwendung gelangen konnte, um brauchbare Resultate zu erhalten.

Um die alveolaren Kohlensäure- und Sauerstoff-Tensionen bei den Versuchen mit atmosphärischer Luft und bei den anderen Versuchen beurteilen zu können, war es notwendig, zuerst die alveolare Tension unter normalen Verhältnissen bei ruhiger Atmung kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurden Ruhe-Respirationsversuche ausgeführt. Tabelle I gibt hierüber Aufschluß.

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. Suppl. 1903, S. 262.

²⁾ Magnus-Levy, Pflügers Archiv 55.

³⁾ A. Durig, diese Zeitschr., 4, Heft 1, 1907.

Tabelle I.

% CO ₂	O ₂ Def.	R. Q.	V (T ₃₇)	alv. % CO ₂	alv. % O ₂	alv. CO ₂ Te	alv. O ₂ Te	
3,98	5,16	0,765	688,9	4,99	14,71	34,62	101,9	
3,68	4,78	0,763	568,4	4,88	14,89	33,84	103,2	
3,54	4,52	0,777	573,6	4,69	15,21	32,50	105,4	
Mittelwerte	3,78	4,82	0,768	605,3	4,85	14,95	33,65	103,5

% CO₂ bezeichnet den Prozentgehalt der expirierten Luft an Kohlensäure, O₂ Def. das Sauerstoffdefizit, R. Q. den respiratorischen Quotienten, V (T₃₇) das auf 37° berechnete, nicht reduzierte Atemvolumen pro Atemzug, alv. % CO₂ den alveolaren Prozentgehalt an Kohlensäure, alv. % O₂ den an Sauerstoff, alv. CO₂ Te die alveolare Kohlensäuretension, alv. O₂ Te die alveolare Sauerstofftension.

Die folgende Tabelle II enthält die Versuche über Atemhalten nach verschieden tiefer Inspiration aus freier Luft. Die Versuche sind nach steigendem Atemvolumen angeführt.

Tabelle II.

	V (T ₃₇)	% CO ₂	O ₂ Def.	R. Q.	alv. % CO ₂	alv. % O ₂	alv. CO ₂ Te	alv. O ₂ Te
	1873	5,30	7,99	0,659	5,73	12,90	39,30	88,50
	1946	5,46	9,03	0,601	5,88	12,00	40,87	83,34
	2081	6,11	9,25	0,657	6,55	11,71	45,53	81,40
	2160	6,01	8,96	0,667	6,43	11,98	44,27	82,50
	2214	5,99	8,50	0,701	6,39	12,41	44,05	85,48
	2299	6,09	9,18	0,660	6,48	11,83	45,07	82,26
1. Mittel:	2095	5,83	8,22	0,657	6,24	12,14	43,18	83,91
	2499	5,46	7,82	0,694	5,78	13,17	39,84	90,66
	2534	5,38	7,56	0,705	5,69	13,40	39,59	93,17
	2592	6,01	8,66	0,689	6,35	12,31	44,09	85,52
	2753	5,68	7,88	0,717	5,99	13,12	41,69	91,36
	2785	5,36	7,80	0,684	5,65	13,25	39,23	91,98
2. Mittel:	2633	5,58	7,94	0,698	5,89	13,05	40,89	90,54
	2843	5,92	8,56	0,688	6,23	12,51	43,22	86,81
	2848	5,71	8,74	0,650	6,01	12,40	42,02	86,69
	2921	5,14	7,40	0,691	5,40	13,65	37,58	95,04
	2987	5,58	7,62	0,728	5,85	13,38	40,17	91,77
	3000	5,90	8,25	0,712	6,05	12,79	42,41	87,70
	3099	5,64	7,66	0,732	5,91	13,35	41,03	92,70
	3218	5,53	6,95	0,789	5,78	13,97	40,16	97,03
3. Mittel:	2988	5,63	7,88	0,718	5,89	13,15	40,94	91,11
	3325	5,66	8,01	0,703	5,91	13,99	41,13	97,43
	3417	5,53	7,69	0,715	5,77	13,38	39,80	92,28
	3488	5,14	6,79	0,753	5,35	14,21	37,20	98,73
	3514	5,81	7,55	0,765	6,05	13,44	42,24	93,83
	3525	5,91	7,71	0,763	6,15	13,29	42,72	92,21
	3885	5,65	6,96	0,808	5,87	13,98	40,72	97,03
4. Mittel:	3526	5,62	7,45	0,751	5,85	13,71	40,63	95,25

Wie aus dem Vergleich von Tabelle II mit Tabelle I hervorgeht, war in allen Versuchen sowohl die Kohlensäuretension gestiegen als auch die Sauerstofftension gefallen. Stets war die Sauerstofftension stärker gefallen, als die Kohlensäuretension gestiegen war. Übersichtlich werden diese Verhältnisse in der folgenden Hilfstabelle, in welcher eine Zusammenstellung der Mittelwerte von Tabelle I und II enthalten ist.

Mittelwerte von Tabelle I. (Ruheversuche.)

V (τ_{21})	% CO ₂	O ₂ Def.	B. Q	alv. % CO ₂	alv. % O ₂	alv. CO ₂ T _e	alv. O ₂ T _e
605,3	3,73	4,82	0,768	4,85	14,95	33,65	103,5

Mittelwerte von Tabelle II.

(Versuche mit Anhalten des Atems.)

1. Mittel	2095	5,83	8,82	0,657	6,24	12,14	43,18	83,91
2. Mittel	2633	5,58	7,94	0,698	5,89	13,05	40,88	90,54
3. Mittel	2988	5,63	7,88	0,713	5,89	13,15	40,94	91,11
4. Mittel	3526	5,62	7,45	0,751	5,85	13,71	40,63	95,25

Hill und Flack¹⁾ kamen bei ihren Versuchen, wie schon erwähnt, ebenfalls zu dem Resultat, daß nach Atemanhalten die Sauerstofftension bzw. der Sauerstoffprozentgehalt in der Lunge stärker sinkt, als die Kohlensäurewerte ansteigen, und sie schließen daraus, daß der Zeitpunkt, zu dem man gezwungen ist, den Atemstillstand zu unterbrechen, mehr von der Sauerstofftension als von der Kohlensäuretension in der Lunge abhängig ist. Man wäre vielleicht geneigt, das Gegenteil anzunehmen. Durch Versuche von N. Zuntz und A. Loewy²⁾, Haldane und Priestley³⁾ und anderen wissen wir, daß das Respirationszentrum selbst auf sehr geringe Kohlensäuremengen in der Einatemungsluft in heftiger Weise reagiert, während erst recht beträchtliche Sauerstoffverminderung eine Erregung im Atemzentrum erzeugt. Dieses ist für den Kohlensäurereiz weit empfindlicher als für den Reiz des Sauerstoffmangels. Infolgedessen würde ein geringes Ansteigen der Kohlensäure-

¹⁾ l. c. S. 46.

²⁾ l. c. S. 45.

³⁾ l. c. S. 45.

tension gleichwertig, wenn nicht einflußreicher als ein starkes Fallen der Sauerstofftension sein.

Außerdem weisen die Kohlensäuretensionen bei den Versuchen von Tabelle II trotz verschiedener Atemvolumina viel kleinere Schwankungen als die Sauerstofftensionen auf, was darauf hindeutet, daß das Atemzentrum auf kleinere absolute Änderungen in der Kohlensäuretension antwortet als in der Sauerstofftension, daß es also für erstere empfindlicher ist als für letztere. Relativ betrachtet ist das Steigen der Kohlensäuretension allerdings viel bedeutender als das Fallen der Sauerstofftension, denn die CO_2 -Tension stieg um rund 23%, während die O_2 -Tension um weniger als 15% absank.

Aus der verschiedenen Änderung der Kohlensäure- und Sauerstofftension gegenüber den Versuchen bei normaler Atmung, ebenso aus den niedrigen respiratorischen Quotienten ist der Schluß noch zulässig, daß die Sauerstoffaufnahme rascher vor sich gegangen ist als die Kohlensäureausscheidung, worunter nicht die Produktion gemeint ist.

Vergleicht man die Versuche von Tabelle II untereinander, so findet man, daß die respiratorischen Quotienten mit dem Steigen der Atemvolumina wachsen. Dieses Steigen der respiratorischen Quotienten ist, da die Sauerstoffaufnahme bei größer werdendem Atemvolum nicht geringer, sondern größer wird, durch stärkere Kohlensäureausscheidung bedingt.

Dieses Verhalten kann seine Erklärung in folgender Weise finden: Bei einem großen Atemvolumen herrscht in der Lunge anfangs eine niedrigere Kohlensäurespannung und höhere Sauerstoffspannung, wodurch das Ansteigen der Kohlensäuretension bis zu jenem Schwellenwert, bei welchem eine Expiration eintreten muß, längere Zeit erfordert als bei einem kleinen Atemvolumen. Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion werden während dieser längeren Zeit im selben Verhältnis gewesen sein wie in anderen Versuchen; dagegen wird aber eine größere Menge von Kohlensäure aus den Geweben in die Lunge abströmen können, da wegen des verschiedenen großen Absorptionskoeffizienten von Kohlensäure und Sauerstoff (ersterer 0,57, letzterer 0,024 für Wasser) an eine Ausschwemmung von Kohlensäure gedacht werden muß, der keine analoge Retention von Sauerstoff gegenübersteht.

Bohr¹⁾ veröffentlichte von Halberstadt an Kaninchen ausgeführte Versuche, in denen die rechte und linke Lunge durch Einführung einer Kanüle in jeden Bronchus separat ventiliert und der Gaswechsel jeder Lunge für sich untersucht wurde. Es zeigte sich, daß in der stärker ventilierten Lunge der Gaswechsel steigt, die Kohlensäureausscheidung aber stärker als die Sauerstoffaufnahme. Auch hier steigen demnach die respiratorischen Quotienten. Nach Bohr sind „diese Änderungen des Gaswechsels zunächst einer inzitierenden Wirkung der Vermehrung der Atemgröße auf die Zellenarbeit zuzuschreiben; einigen Einfluß üben vielleicht auch die geänderten Bedingungen der Diffusion besonders hinsichtlich der Kohlensäure.“ Demnach ist jedenfalls auch an eine Verschiebung des respiratorischen Quotienten durch den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureproduktion des Lungengewebes selbst zu denken. Auch die Vergrößerung der Atemtiefe an und für sich ist als wirksamer Faktor in Betracht zu ziehen, da „bei ruhiger, normaler Atmung nicht alle Teile der Lunge entfaltet werden, manche direkt luftarm bleiben, und doch wird das Blut die Capillaren, die die Septa dieser Partien durchsetzen, in reichem Maße durchfließen“. „Bei Vertiefung der Atemzüge werden auch früher nicht ventilierte Lungenabschnitte der Arterialisierung zugänglich gemacht“ (Durig²⁾).

Wie viel dies für ein Verschwinden von Sauerstoff bedeutet, illustriert schön ein Versuch von Geppert und Zuntz³⁾ an einem Hunde, der durch Aufspritzen von heißem Wasser auf den Rücken zu tiefen Atemzügen angeregt wurde und bei dem der Prozentgehalt an Sauerstoff im Blute um 2^o/_o stieg.

Versuche mit verschiedenen Gasgemischen.

Das Gasgemenge wurde in einer 50 l fassenden Flasche (*F*) hergestellt, die mit Wasser gefüllt und in welche aus einer Kohlensäure, Stickstoff oder Sauerstoff enthaltenden Bombe durch Hinaustreiben von Wasser Gas und atmosphärische Luft in verschiedenen Quantitäten je nach Bedarf eingelassen

¹⁾ Nagels Handb. d. Physiol. d. Mensch. 1905, S. 174.

²⁾ l. c. S. 47, Note 1.

³⁾ l. c. S. 45.

wurde. Durch kräftiges Schütteln der Flasche sollte ein möglichst homogenes Gasgemenge hergestellt und die Flüssigkeit mit dem Gas gesättigt werden. Die Gasflasche war mit einem Kautschuksack (K_1) in Verbindung gesetzt, in welchen Portionen des Gasgemenges aus der Gasflasche übergetrieben wurden, um dort als Inspirationsgas aufgefangen zu werden. Von der Leitung (A) zu diesem Sack zweigte ein capillares Rohr (T)

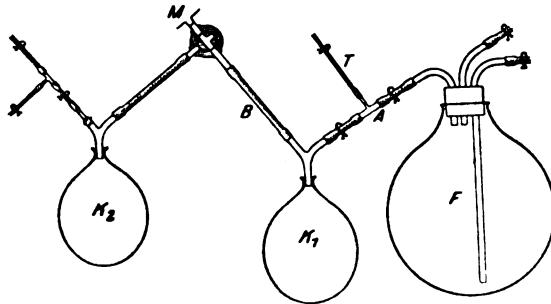


Fig. 2.

ab, um dem Kautschuksack Gasmenge zwecks Analysierung des zu inspirierenden Gases entnehmen zu können. Außerdem bewerkstelligte eine zweite, weite Abzweigung (B) die Verbindung mit dem Zweiweghahn, welcher auch in den Versuchen mit atmosphärischer Luft in Verwendung stand, und durch den das Gasgemenge leicht inspiriert werden konnte. Von diesem Hahn setzte sich eine Leitung zu einem zweiten Kautschuksack (K_2) fort, um das expirierte Gas auffangen und dann messen zu können. Dieser Teil der Vorrichtung war derselbe wie bei den Versuchen mit atmosphärischer Luft.

Versuche mit Kohlensäuregemischen.

In allen Versuchen erscheint die alveolare Sauerstofftension nur in geringem Grade gegenüber den Versuchen bei atmosphärischer Luft verändert, als Ausdruck dessen, daß die Kohlensäurevermehrung in der Einatemungsluft ausschlaggebend für die Zeit des Atemstillstandes war. Dies bewirkt schon eine geringe Zunahme des CO_2 -Gehaltes im Inspirationsgemisch. Im Einklang damit stehen die bereits angeführten Versuchsergebnisse

Tabelle III.

Die Versuche sind nach steigendem Kohlensäuregehalt im Inspirationsgas unter Berücksichtigung der Größe des eingeatmeten Volums angeführt.

Inspirationsgas				V (T 37)	alv. % CO ₂	alv. % O ₂	alv. CO ₂ Te	alv. O ₂ Te
% CO ₂	CO ₂ Partialdruck	% O ₂	O ₂ Partialdruck					
2,41	18,31	20,46	155,5	3382	4,85	14,39	34,37	99,59
"	"	"	"	4159	4,99	14,01	34,60	96,95
4,06	30,86	20,11	152,84	3987	5,15	13,73	35,75	95,30
"	"	"	"	4108	5,06	14,09	35,19	93,50
"	"	"	"	4153	4,85	13,90	33,66	96,43
6,32	48,03	19,64	149,26	2011	5,58	13,46	38,77	93,55
"	"	"	"	2376	5,84	14,29	40,56	99,09
7,44	56,54	19,44	147,74	2220	5,99	14,26	41,52	98,90
"	"	"	"	3372	6,31	14,05	43,76	97,38
"	"	"	"	3549	6,44	13,82	44,89	92,55
"	"	"	"	3899	6,44	14,02	44,64	97,17
"	"	"	"	4591	6,35	13,82	43,87	95,44
9,35	71,06	19,05	144,78	3392	6,39	14,10	44,40	97,89
"	"	"	"	3656	6,79	13,84	47,09	95,99
30,54	232,10	14,57	110,73	3027	9,88	13,88	67,79	95,07
"	"	"	"	3149	10,77	14,28	74,69	99,09
"	"	"	"	3188	10,92	13,99	75,75	97,01
"	"	"	"	3216	10,05	14,15	68,99	97,20

von Zuntz und Loewy¹⁾ und anderen. In geringen Mengen wirkt die Kohlensäure erregend aufs Atemzentrum, in großen Mengen narkotisierend. Bei einer gewissen Höhe des Partialdrucks wird Kohlensäure unzweifelhaft ausgiebig retiniert oder bei noch größerem Kohlensäuregehalt aufgenommen. In den vorliegenden Versuchen war am Schlusse der Expiration vor Beginn der Inspiration noch Gas von 4,85% CO₂-Gehalt in der Lunge (siehe Tab. I); da wir die Residualluft mit rund 1000 ccm annehmen können, so mußte durch Zumischung eines Volums von 2011 bzw. 2376 ccm Gas von 6,32% CO₂-Gehalt mit der Inspiration (siehe den 6. und 7. Versuch in Tab. III) bereits am Beginne des Atemanhaltens ein Gasgemenge von 5,8 bzw. 5,9% CO₂-Gehalt in der Lunge vorhanden gewesen sein, dies entspricht also gerade dem Prozentgehalt bei Ausführung der Expiration am Schlusse des Atemanhaltens, so daß die ganze Menge der während des Atemstillstandes pro-

¹⁾ l. c. S. 45.

duzierten Kohlensäure retiniert worden ist. In den folgenden Versuchen mit 7,44% CO_2 im Inspirationsgemisch ist der CO_2 -Gehalt der Alveolarluft zu Beginn des Versuches bereits mit 6,6 bzw. 6,8% anzusetzen, repräsentiert also einen höheren Wert als denjenigen, welchen das Gas am Schlusse des Atemanhaltens aufwies, weshalb also nicht nur eine Menge, die der während des Versuches gebildeten Kohlensäure entspricht, retiniert worden, sondern auch noch aus dem Inspirationsgemisch CO_2 zur Resorption gelangt sein muß.

Bohr¹⁾ veröffentlicht auch bezüglich der Kohlensäureatmung Versuche von Halberstadt an Kaninchen, wobei die eine Lunge atmosphärische Luft, die andere ein kohlensäurehaltiges Gasgemenge atmete; in der kohlensäureatmenden Lunge war die Kohlensäureausscheidung herabgesetzt; erreichte der Partialdruck der Kohlensäure eine gewisse Größe, wurde Kohlensäure aufgenommen; die Grenze, an welcher Kohlensäure weder ausgeschieden noch aufgenommen wurde, liegt beim Kaninchen beim Gehalt der Einatemungsluft von ungefähr 15,5% CO_2 (117,8 mm Partialdruck), wenn eine Lunge atmosphärische Luft, die andere ein kohlensäurehaltiges Gasgemenge von demselben Sauerstoffgehalt einatmet. In meinen Versuchen lag demnach diese Grenze bei einem viel niedrigeren Druck.

Bei ungefähr 30% CO_2 machte sich schon die narkotische Wirkung der Kohlensäure geltend und forderte sofortige Expiration.

Hill und Flack²⁾ finden bei ihren Tierversuchen, daß über 30% kohlensäurehaltige Gasgemische einen narkotischen Effekt haben. Nach A. Loewy³⁾ liegt die narkotische Wirkung erst bei 40%, bei noch höheren Prozenten ist die Kohlensäure irrespirabel wegen Glottisverschlusses, und es tritt Erstickung ein.

In den ersten Versuchen von Tabelle III, in welchen das Inspirationsgas einen Kohlensäuregehalt von 2,41% und 4,06% hatte, ist die alveolare Kohlensäuretension viel niedriger als bei den Versuchen mit Atmung aus freier Luft, die in Tabelle II angeführt sind, wo die alveolare Kohlensäuretension um 40 mm schwankt. Man sollte erwarten, daß auch in den Versuchen

¹⁾ l. c. S. 51.

²⁾ l. c. S. 46.

³⁾ Handb. d. Biochemie v. Oppenheimer 4.

von Tabelle III die Kohlensäuretension diese Höhe erreichen kann, zumal da kohlenäurereiche Gemische inspiriert wurden. Wäre dies der Fall, könnte man annehmen, daß nur die Kohlensäuretension den Zeitpunkt der Unterbrechung des Atemstillstandes bestimmt. Dies trifft aber nicht ein. Es besteht daher die Notwendigkeit, noch eine andere Ursache für dieses Verhalten verantwortlich zu machen. Es wurde wahrscheinlich auch in diesen Fällen schon Kohlensäure retiniert, besonders da wir durch die schon erwähnten Versuche von Halberstadt wissen, daß in der kohlenäureatmenden Lunge die Kohlensäureausscheidung herabgesetzt ist — dies war schon bei niedrigem Partialdruck in der Einatemungsluft z. B. 1,5% CO₂ der Fall. Es mußte daher schon von Beginn des Atemanhaltens an im Blute eine höhere CO₂-Spannung herrschen. Die retinierte Kohlensäure wirkte gleich als stärkerer Reiz aufs Atemzentrum und es wurde, so wie beim Reflex-Schwefelsäure-Frosch durch Summation von stärkeren Reizen die Reflexe rascher ausgelöst werden, durch Summation der stärkeren Kohlensäurereize die Zeit des Atemstillstandes verkürzt; hierbei konnte die alveolare Kohlensäuretension nicht jene Höhe erreichen wie bei den Luftversuchen. Bei den höheren Kohlensäureprozenten im Inspirationsgas steigt natürlich die Kohlensäuretension in der Lunge stark an.

Man kann sich die eben besprochenen Verhältnisse auch noch auf eine andere Art erklären. Es ist insbesondere durch die Untersuchungen von Bohr¹⁾ bekannt, daß mit dem Steigen der Kohlensäuretension im Blute die Sättigungsfähigkeit des Hämoglobins mit Sauerstoff abnimmt, andererseits die Dissoziation des Oxyhämoglobins zunimmt. Ist in der Atemluft die Kohlensäuremenge vermehrt, wird auch im Blute die Kohlensäuremenge indirekt zunächst durch Verminderung der Kohlensäureausscheidung größer werden. So ist die Möglichkeit gegeben, daß die Wirkung der Kohlensäure auf die Sauerstoffbindung des Hämoglobins in Kraft trat. Die Folge davon war, daß früher Sauerstoffmangel im Blute zustande kommen konnte als unter gewöhnlichen Bedingungen, welcher die Zeit des Atemstillstandes verkürzte.

¹⁾ l. c. S. 51.

Es würde dann die Summe von CO_2 -Reiz und dem Reiz durch Mangel an Sauerstoff (Oxydationszwischenstufen) die Ursache für die Auslösung des unabweislichen Bedürfnisses zu atmen gewesen sein. Diese Annahme ist aber bei den vorliegenden Versuchen darum nicht wahrscheinlich, weil die Höhe der alveolaren Kohlensäuretension von jener der alveolaren Sauerstofftension, die in den Versuchen von Tabelle III bestand, nicht merklich beeinflußt wurde.

Es wäre nun zu entscheiden, wieso die CO_2 -Tensionen, die wesentlich über der Höhe der normalen CO_2 -Tension liegen, zustande kommen konnten, wenn sich bereits bei nicht absonderlich hohem Kohlensäuregehalt in der Inspirationsluft der Zwang zum Atmen einstellt. Hierbei handelt es sich unzweifelhaft darum, daß der Reflex einige Zeit willkürlich gehemmt werden kann, und daß während dieser Zeit bei hohem Kohlensäuregehalt der Inspirationsluft Kohlensäure in den Körper aufgenommen wird, die sich auf das Blut und die Gewebsflüssigkeit (durch Absorption) verteilt. Je höher die CO_2 -Tension im Inspirationsgemisch ist, um so größer muß die restierende Spannung in den Alveolen zur Zeit der Auslösung des erzwungenen Atemzuges sein. Es ist begreiflich, daß bei größerer Atemtiefe auch die CO_2 -Tension in der Alveole höher bleiben muß als dann, wenn nur wenig von dem stark CO_2 -haltigen Gemisch inspiriert wurde, was man in den Versuchen mit 6,32, 7,44 und 9,35% CO_2 in Tabelle III sieht, bei denen ein Zusammenhang zwischen Atemvolum und CO_2 -Tension unverkennbar ist. Bei 30,54% CO_2 im Inspirationsgemisch ist wegen der Höhe des Reizes, der sofort den neuen Atemzug erzwingt, dieses Verhältnis natürlich verwischt, ebenso wie dies bei der Einatmung nur wenig CO_2 -haltender Gemische nicht zu erwarten ist.

Versuche mit Stickstoffgemischen.

In diesen Versuchen hält sich der Mittelwert der Kohlensäuretension in der Lunge niedriger als bei den Versuchen mit atmosphärischer Luft (Tab. II). Die Verminderung des Sauerstoffprozentgehaltes der Atemluft verringert die Zeit des Atemstillstandes, wirkt direkt oder indirekt als Atemreiz, indem Sauerstoffmangel eintritt. Dieser kommt dadurch zustande,

daß das Hämoglobin wegen des niedrigen Sauerstoffdruckes in der Einatemungsluft nicht genügend mit Sauerstoff gesättigt wird; während der kürzeren Zeit wird auch weniger CO_2 gebildet, und es bleibt daher die CO_2 -Tension niedriger, immerhin wird sie aber während des Atemanhaltens doch noch so hoch, daß die Sättigungsfähigkeit des Hämoglobins mit Sauerstoff noch eine weitere Einbuße erleidet, indem die Dissoziation des Oxyhämoglobins ansteigt. Eine Analogie zu diesem Verhalten liefert die Beobachtung Mossos¹⁾; derselbe findet die Zeit des Atemanhaltens kürzer in der verdünnten, also sauerstoffärmeren Luft.

Tabelle IV.

Die Reihenfolge der Versuche richtet sich nach dem steigenden Stickstoffgehalt der Einatemungsluft.

Inspirationsgas		V(T 37)	alv. % CO_2	alv. % O_2	alv. CO_2 Te	alv. O_2 Te
% O_2	O_2 Partialdruck					
15,05	114,38	2314	4,85	13,30	33,79	92,60
"	"	3418	5,14	13,15	35,88	91,80
"	"	3472	4,93	12,52	34,32	87,17
"	"	3652	5,28	12,52	36,78	87,16
"	"	3734	4,29	13,55	29,95	94,60
"	"	3968	5,07	13,07	35,20	90,79
10,27	73,05	1372	5,22	13,07	36,44	91,17
"	"	1518	4,37	12,66	30,51	88,37
"	"	1830	4,99	11,95	34,79	83,32
"	"	2010	4,88	12,08	33,65	84,17
"	"	2555	5,27	11,47	36,32	79,08
"	"	2901	5,53	12,31	38,30	85,16
"	"	2993	5,15	11,59	35,69	80,33
"	"	3117	5,01	11,21	34,79	77,77
"	"	4021	5,11	11,89	35,21	82,00
Bombenstickstoff		3703	4,74	5,46	32,83	37,79
"		3931	4,97	6,66	34,52	46,21

Mit dem Fallen der Sauerstoffspannung in der Atemluft geht natürlich Hand in Hand ein Sinken der alveolaren Sauerstofftension, wobei diese in den Versuchen mit stark herabgesetztem Sauerstoffgehalt im Inspirationsgas höher ist als der Teildruck in diesem, wofür die Erklärung in der Residualluft zu suchen ist.

In allen Versuchen, selbst wenn reiner Stickstoff geatmet wurde, änderte sich die Kohlensäuretension nicht bedeutend.

¹⁾ Centralbl. f. Physiol. 1904, S. 569.

Dies spricht dafür, daß der Sauerstoffmangel zwar als Atemreiz wirkt, aber nur in schwachem Ausmaße, zur Unterstützung des Kohlensäurereizes, der nicht seine normale Höhe zu erreichen braucht. Der hauptsächlichste Atemreiz ist aber die Kohlensäure.

Übereinstimmend damit sind die Versuchsergebnisse von Haldane und Poulton¹⁾, welche konstatieren, daß der vornehmste Atemreiz die Kohlensäure ist, während Sauerstoffmangel nur den Reizwert der Kohlensäure alteriert. Während besonders nach den Darlegungen von Boycott und Haldane²⁾ der Sauerstoffmangel nicht direkt wirkt, sondern nur die sich bei Sauerstoffmangel bildenden Zwischenprodukte des Stoffwechsels, wäre anzunehmen, daß bei den vorliegenden Versuchen der Sauerstoffmangel selbst direkt wirkt, indem wohl nicht genügend Zeit zur Bildung solcher Stoffe vorhanden war. Eine Stütze findet diese Annahme in Versuchen Scotts³⁾ mit sauerstoffarmen Gasgemengen, welcher dabei Dyspnoe nach sehr kurzer Zeit, ungefähr $\frac{1}{2}$ Minute, auftreten sah und deshalb schwer an die Anhäufung von intermediären Stoffwechselprodukten in der kurzen Zeit glauben kann.

Die Bedeutung des Sauerstoffmangels erhellt gut aus Versuchen von Haldane und Poulton; es wurde sauerstoffarme Luft gestmet, und bei einem alveolaren Kohlensäureprozent, bei welchem sonst Apnoe entstehe würde, trat Dyspnoe ein.

Im Hochgebirge, also in der verdünnten, sauerstoffarmen Luft, trat nach Durig⁴⁾ die Wirkung des Sauerstoffmangels dadurch zutage, daß die alveolare Kohlensäuretension, welche in der Ebene in feiner Weise die Atmung reguliert, um so mehr absank, je größer die Meereshöhe war, in der er die Marschversuche ausführte; es konnte deshalb die Kohlensäure bei der Arbeit im Hochgebirge allein nicht jener Faktor gewesen sein, welcher die Vertiefung der Atemzüge auslöste, sondern in den Folgen der fortschreitenden Verminderung des Sauerstoffdruckes wären weitere Komponenten zu suchen, deren Wirkung hier in Betracht gekommen ist. Während also in der Ebene der CO₂-

¹⁾ l. c. S. 45.

²⁾ l. c. S. 45.

³⁾ l. c. S. 46.

⁴⁾ Pfügers Archiv 113.

Reiz das fast ausschließlich Ausschlaggebende war, trat im Hochgebirge bei großem O_2 -Verbrauch die Wirkung des O_2 -Mangels infolge des Entstehens reichlicherer Zwischenprodukte deutlich hervor. Im selben Sinne sprechen die Ergebnisse von Haldane und Poulton für den vorherrschenden Einfluß der Kohlensäure. Apnoe, erzeugt durch künstliche, abnorm starke Atmung, verschwindet nicht, bis die alveolare Kohlensäuretension den Schwellenwert erreicht hat; erst wenn der Sauerstoffdruck in der Lunge so niedrig ist, daß die durch den Sauerstoffmangel erzeugten Stoffwechselprodukte die Kohlensäurewirkung verstärken, verschwindet die Apnoe, bevor die alveolare CO_2 -Tension den Schwellenwert erreicht hat.

Auch Versuche von Mosso¹⁾ besagen dasselbe. Es zeigte sich, daß sowohl nach tiefer Sauerstoffatmung als auch nach ausgiebiger Ventilation mit atmosphärischer Luft oder mit reinem Wasserstoff Apnoe eintrat. Bei Einatmung von CO_2 -haltigen Gemischen war dies nicht der Fall. Die Versuche Aggazzottis haben ferner erwiesen, daß Menschen und Affen unter vermindertem Luftdruck, auch wenn reichlich Sauerstoff zugeführt wird, viel eher geschädigt werden, wenn das zugeführte Gas nicht hinreichende Mengen CO_2 enthält, um eine entsprechend kräftige Ventilation auszulösen.

Interessant und bedeutungsvoll hinsichtlich der Frage der Wirkung des Sauerstoffmangels sind Versuchsergebnisse von Yandell Henderson.²⁾ Dieser forschte nach der Ursache des Choks, welcher oft während Operationen bei offener Pleurahöhle, wobei nach dem Überdruck- bzw. Unterdruckverfahren nach Sauerbruch-Brauer geatmet wird, entsteht; er machte die Beobachtung, daß dieser Chok durch Akapnie, also durch eine Verminderung des Kohlensäuregehaltes im Blute und in den Geweben hervorgerufen werde. Henderson konnte künstlich durch starke Ventilation der Lunge, unter denselben Umständen wie bei den angeführten Operationen, Akapnie und als Folge Chok erzeugen; es stellte sich zuerst Tachykardie, dann Sinken des Blutdrucks und Herzstillstand ein, das Tier ging zugrunde, ohne die geringste Atemanstrengung gemacht zu haben, wobei doch unzweifelhaft Sauerstoffmangel bestand.

¹⁾ Centralbl. f. Physiol. 1903, S. 793.

²⁾ American Journ. of Physiol. 21, 1908.

Henderson schließt daraus, daß der Sauerstoffmangel kein Atemreiz ist, er lähmt mehr. Anschließend daran wäre eine Beobachtung von Friedländer und Herter¹⁾ erwähnenswert, welche fanden, daß bei länger andauerndem Sauerstoffmangel die Erregbarkeit der Centra allmählich sinkt, so daß die im Blute vorhandenen reizenden Stoffe wenig Effekt haben. Wird dann wieder sauerstoffreiche Luft zugeführt, so reagiert nun das Atemzentrum heftig auf die im Blute zirkulierenden reizenden Stoffe.

Außerdem waren schon früher Versuche von Zuntz und anderen ausgeführt, in denen das Atemzentrum schon durch geringe Vermehrung der Kohlensäure in der Einatemluft stark erregt wird, während große Schwankungen im Sauerstoffgehalt der Atemluft, so von 12 bis 60%, ohne großen Einfluß blieben.

Die Atemtiefe zeigt sich in den Versuchen von Tabelle IV von nicht besonderer Bedeutung; in den Versuchen mit 10,27% O₂ im Inspirationsgas und kleinerem Atemvolumen ist die alveolare Sauerstofftension höher als in den entsprechenden Versuchen mit großer Atemtiefe, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß bei geringer Atemtiefe früher Sauerstoffmangel eintrat und früher expiriert werden mußte.

Versuche mit Sauerstoffgemischen.

Tabelle V.

Inspirationsgas		V _(T 37)	alv. % CO ₂	alv. % O ₂	als. CO ₂ Te	alv. O ₂ Te
% O ₂	O ₂ -Partialdruck					
59,46	491,90	1236	5,79	20,00	40,60	140,1
59,46	491,90	1292	6,25	20,91	43,66	145,9
59,46	491,90	1747	5,66	18,77	39,50	130,9
59,46	491,90	2603	6,91	27,89	48,06	193,9
59,46	491,90	3017	7,64	29,82	53,29	207,8
59,46	491,90	3073	6,94	29,06	48,24	202,1
59,46	491,90	3146	6,79	29,11	47,51	203,6
59,46	491,90	3148	7,49	29,47	52,07	204,8
59,46	491,90	3323	6,89	28,53	48,17	199,4
Bombensauerstoff		996	7,42	31,01	52,06	217,5
„	„	1071	6,39	32,06	44,79	224,9
„	„	1343	7,79	33,22	54,03	230,3
„	„	2404	6,91	50,39	49,05	357,5
„	„	3180	7,33	52,58	51,97	372,7
„	„	3337	6,59	50,95	46,69	361,0
„	„	3442	6,40	50,27	45,26	355,5

¹⁾ l. c. S. 46.

Die alveolare Kohlensäuretonsen ist in den Versuchen von Tabelle V bedeutend gestiegen gegenüber den Versuchen bei Einatmung von atmosphärischer Luft, die Sauerstoffspannung natürlich auch. Bei den Beobachtungen, in denen die Atemtiefe eine geringe war und bei 59,46% O_2 in der Einatmungs-luft, ist die Kohlensäure- und Sauerstofftonsen in der Lunge niedriger als in den anderen Versuchen, weil hier das kleine Atemvolumen zur Geltung kommt; die Sauerstofftonsen ist trotzdem beträchtlich höher als bei den Versuchen in freier Luft. In den Versuchen mit geringer Atemtiefe bei reiner Sauerstoffatmung zeigt erstere nur auf die alveolare Sauerstoff-tonsen im Sinne einer Herabsetzung derselben einen Einfluß. Es findet im allgemeinen eine erheblich größere Sauerstoffauf-nahme statt als unter gewöhnlichen Umständen, wie es sich aus der Betrachtung der alveolaren Sauerstoffspannung und des Sauerstoffdruckes in der Atemluft ergibt. Dieser Mehraufnahme entspricht aber kein Mehrverbrauch, da besonders durch die Untersuchungen von Durig¹⁾ nachgewiesen wurde, daß bei er-höhtem Partialdruck des Sauerstoffs ein Mehrverbrauch nicht zustande kommt, daß der Sauerstoffverbrauch innerhalb weiter Grenzen von der Sauerstoffzufuhr unabhängig ist, wie es zuerst von Pflüger²⁾ ausgesprochen wurde. Die erhöhte alveolare Kohlensäuretonsen kann also nicht die Folge eines vermehrten Sauerstoffverbrauchs sein, sondern es konnte die Kohlensäure-tonsen in der Lunge zu einer größeren Höhe ansteigen, mußte es vielmehr, weil eine höhere Sauerstoffspannung in der Lunge bestand. Es ist der Schwellenwert der Reizwirkung der Kohlen-säure in die Höhe gerückt; doch zeigen die Werte der Kohlen-säuretonsen trotz sehr verschiedenem Sauerstoffgehalt im Inspirationsgas keine großen Schwankungen, was darauf hin-weist, daß der Höhe der Sauerstoffspannung in der Lunge, wenn sie einmal eine gewisse Größe überschritten hat, keine erhebliche Bedeutung beizulegen ist, und daß der Kohlensäure-reiz vorherrschend und ausschlaggebend ist. Aus der erhöhten Kohlensäuretonsen kann man auf die längere Dauer des Atem-stillstandes schließen. Auch Hill und Flack³⁾ finden bei ihren

¹⁾ l. c. S. 47.

²⁾ Pflügers Archiv 10.

³⁾ l. c. S. 46.

Versuchen, daß nach Einatmung von reinem Sauerstoff die Zeit des Atemanhaltens stark erhöht ist; nach vorhergehenden drei Atemzügen aus reinem Sauerstoff ist sie fast dreimal so lang als unter gewöhnlichen Bedingungen; dabei ist die Kohlensäuremenge in der Lunge stark vermehrt.

Ebenso ist in Versuchen von Haldane und Poulton¹⁾ die Apnoe nach vorheriger Sauerstoffatmung von längerer Dauer und die Kohlensäuretension erhöht.

Es fragt sich nun, worauf diese Erscheinung beruhen kann. Es wäre natürlich am naheliegendsten, an den Wegfall des Reizes des Sauerstoffmangels zu denken. Dazu ist man jedoch nicht berechtigt. Denn nach der Bohrschen Dissoziationskurve²⁾ ist noch bei einer Spannung von 100 mm Hg und beträchtlicher Kohlensäuretension die Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff fast eine vollständige. Es kann also ein Ansteigen der Sauerstoffspannung in der Lunge von 100 auf 193 mm, und noch weniger ein solches von 193 auf 357 mm das Anwachsen der alveolaren Kohlensäurespannung darum veranlaßt haben, weil die Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff eine höhere geworden und der Reiz des Sauerstoffmangels weggefallen wäre. Es ist möglich, daß darum, weil das Blutplasma und dadurch auch die Gewebsflüssigkeit entsprechend dem Absorptionskoeffizienten reichlicher Sauerstoff erhielt und die Gewebe, vor allem das Atemzentrum im Zustande besserer Sauerstoffversorgung bzw. höheren Sauerstoffgehaltes sich befanden, diese für den Kohlensäurereiz weniger empfindlich waren. So ließe es sich erklären, daß die Auslösung eines Atemzuges zu einem späteren Zeitpunkt erfolgt, als wenn das Hämoglobin zwar mit Sauerstoff gesättigt, der Sauerstoffgehalt des Plasmas und der Gewebe aber kein übernormaler ist.

Auch aus diesen Versuchen folgt demnach, daß der Sauerstoff resp. der Sauerstoffmangel eine gewisse, wenn auch der Kohlensäure untergeordnete Bedeutung für den Atmungsvorgang haben; Sauerstoffmangel und Kohlensäurereiz zusammen wirken erregend aufs Atemzentrum, doch nicht in gleichem Maße und gleicher Weise.

¹⁾ l. c. S. 45.

²⁾ l. c. S. 51.

Der Kohlensäurereiz kann auch allein wirken, doch findet er unter Umständen im Reiz des Sauerstoffmangels (dessen Folgen) eine Unterstützung, so daß er nicht die Höhe erreichen muß, damit ein Atemzug erzwungen wird, wie wenn er allein wirkt. Der Sauerstoffmangel macht anscheinend die Zellen des Respirationszentrums für den Kohlensäurereiz empfindlicher. Doch ist dies nicht eine ihm speziell zukommende Eigenschaft, sondern auch unter anderen Bedingungen trifft dies ein; so beobachteten Beddard, Pembrey und Spriggo¹⁾, daß im Coma diabeticum das Atemzentrum durch die gesteigerte Acidität des Blutes — bei Sauerstoffmangel besteht auch, wie schon erwähnt wurde, eine Abnahme der Alkaleszenz des Blutes — für den Kohlensäurereiz empfindlicher ist.

Der Sauerstoffmangel kann allein nicht wirken, wie es sich herausstellt, wenn dafür gesorgt wird, daß der Kohlensäurereiz entfällt; er bestimmt nur die Höhe, in welcher die Kohlensäure regulierend und ausschlaggebend wirken soll.

¹⁾ Journ. of Physiol. 37;

Über die Bindungsweise hämolytischer Amboceptoren.

Von

S. von Poggenpohl, St. Petersburg.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts
der Universität Berlin.

(Eingegangen am 24. August 1909.)

Wenn auch ein Teil der fundamentalen Gesetze, welche die Entstehung, die Wirkung und das gesamte Verhalten der komplexen Cytotoxine beherrschen, durch das Studium der praktisch wichtigsten Repräsentanten dieser Klasse, der Bakteriolytine, erkannt worden ist, wenn weiterhin die Erkenntnis der großen Mannigfaltigkeit dieses Gebietes uns weite Ausblicke eröffnet hat, so haben wir doch erst der wissenschaftlichen Bearbeitung der spezifischen Hämolytine die gründlichste Vertiefung unserer Kenntnisse zu verdanken. Es unterliegt nach zahlreichen Erfahrungen keinem Zweifel, daß es gestattet ist, vom Verhalten der Hämolytine Schlüsse zu ziehen auf das Verhalten der übrigen Cytotoxine. Für sehr viele Fragen können nur auf diese Weise befriedigende Antworten gefunden werden, ermöglicht durch die Einfachheit der Methodik bei den Hämolytine-untersuchungen, die weitgehende Variabilität der Versuchsbedingungen und die Eindeutigkeit und Klarheit der im Reagensglasversuch erhaltenen Resultate. So sehr infolgedessen gerade das Studium der spezifischen Hämolytine die Arbeit vieler Forscher in Anspruch genommen hat, so sind wir doch noch weit davon entfernt, die Gesetze ausreichend zu kennen, welche dieses Teilgebiet und damit auch größere Gebiete der Immunitätslehre beherrschen. Die theoretische und praktische Bedeutung desselben ist sicherlich groß genug, um ein immer weiteres Eindringen zu rechtfertigen.

Es ist hier nicht der Ort, des näheren auf die Tatsachen und Theorien einzugehen, die sich auf die Wirkungsweise der komplexen Cytotoxine, speziell der Hämolsine beziehen, um so weniger, als dieses Gebiet durch H. Sachs¹⁾ mehrfach eine vortreffliche, leicht zugängliche Darstellung erfahren hat.

Die Versuche, die wir im folgenden beschreiben wollen, beziehen sich auf die Bindung immunisatorisch erzeugter hämolytischer Amboceptoren an rote Blutkörperchen. Bekanntlich ist diese Bindung die Vorbedingung für die Verankerung und Wirkung der Komplemente. Die Beziehungen dieser letzteren zu den Amboceptoren resp. den Blutkörperchen, in deren Auffassung wir dem Vorgang von Ehrlich und Morgenroth folgen, kommen für die vorliegenden Versuche unmittelbar nicht in Frage.

Wir sind uns darüber klar, daß unsere Studien keineswegs erschöpfend sein können, und daß die immunisatorisch gebildeten Amboceptoren, die bis jetzt bekannt sind, in ihrem Verhalten nicht die einzigen Typen dieser Körperklasse repräsentieren müssen. Hat doch besonders das Studium der normalen hämolytischen Amboceptoren ergeben, daß hier einzelne Vertreter in vielen Stücken als physiologische Analoga der hämolytischen Immunkörper zu betrachten sind, während wieder andere in ihren Bindungseigenschaften erheblich abweichen, indem ihre Verwandtschaft zu den Blutkörperchen sich nur in Gegenwart des Komplements zeigt (Ehrlich und Sachs). Wie groß auf diesem Gebiete die Variationsbreite ist, lehren am besten die hämolytischen Amboceptoren, welche nach den wichtigen Untersuchungen von Donath und Landsteiner bei der paroxysmalen Hämoglobinurie auftreten; bekanntlich treten dieselben bei Körpertemperatur, im Gegensatz zu allen bekannten Reaktionen auf dem Gebiete der Antikörper und Antigene, mit den Receptoren der Blutkörperchen überhaupt nicht in Reaktion und werden nur innerhalb niedriger Temperaturen gebunden.

Bemerkenswert ist übrigens, daß, abgesehen von diesem paradoxen Fall, über das Verhalten der Amboceptorbindung bei verschiedenen Temperaturen fast nichts bekannt ist.

¹⁾ H. Sachs, Die Hämolsine. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 7, 1902 und Sonderabdruck, ferner 11, 1907 und Sonderabdruck, endlich in Kraus-Levaditi, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung 2, 1909.

Was die quantitativen Verhältnisse der Bindung der Amboceptoren an die roten Blutkörperchen betrifft, so sind schon von Ehrlich und Morgenroth¹⁾ einige Fälle beschrieben, welche zeigen, daß hier die weitestgehenden Verschiedenheiten in Frage kommen. Einerseits gibt es Amboceptoren, von denen nur eine lösende Dosis gebunden wird (Amboceptor einer mit Hammelblut resp. Hundelblut vorbehandelten Ziege); andererseits sind wiederum Amboceptoren zu beobachten, von denen ein großes Multiplum der lösenden Dosis von den Blutkörperchen aufgenommen werden kann (mit Ochsenblut resp. Ziegenblut vorbehandelte Kaninchen). Späterhin hat Arrhenius²⁾ mit Morgenroth einige weitere Versuche über die quantitativen Bindungsverhältnisse der hämolytischen Amboceptoren angestellt. Die Zahl der bis jetzt vorliegenden Beobachtungen ist eine viel zu geringe, um irgendwie eine Einteilung treffen oder Verallgemeinerungen aufstellen zu können; es wird hierzu noch die Ergänzung durch sehr zahlreiche weitere Versuche nötig sein. Zu einer gewissen Erweiterung und Vertiefung unserer Kenntnisse sollen die folgenden Versuche beitragen, welche ich auf Veranlassung und mit Unterstützung von Prof. Morgenroth³⁾ angestellt habe.

Wir stellten uns folgende hämolytischen Amboceptoren her: vier verschiedene Amboceptoren von Kaninchen, welche mit Ziegenblut behandelt wurden, einen Amboceptor eines mit Ochsenblut immunisierten Kaninchens, ferner je einen Amboceptor einer mit Ochsenblut resp. Kaninchenblut vorbehandelten Ziege. Außerdem wurde ein normaler Amboceptor des Ziegen-serums untersucht, der auf Kaninchenblut wirkt und durch normales Kaninchenserum aktiviert wird.

Die Immunisierung der Tiere wurde nach den bekannten Prinzipien durchgeführt, indem wir die Kaninchen intravenös oder intraperitoneal, die Ziegen intraperitoneal oder subcutan injizierten. Die intraperitoneale Injektion von Kaninchenblut wird von den Ziegen schlecht vertragen. Wir verloren zwei Tiere unmittelbar nach einer Injektion, ohne daß bakteriologisch

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 22 und 1901, Nr. 10.

²⁾ S. Arrhenius, Immunochemie, 1907.

³⁾ Die Kosten der Versuche wurden zum Teil aus Mitteln bestritten, die Prof. Morgenroth von der Gräfin Bose-Stiftung bewilligt wurden.

eine Infektion nachzuweisen war. Bei subcutaner Injektion konnten wir ohne Schwierigkeit immunisieren. Alle Sera wurden durch halbstündiges Erwärmen auf 55 bis 56° in sterilen Reagensröhrchen inaktiviert und in diesen im Eisschrank aufbewahrt. Die hämolytische Wirkung der Amboceptoren wurde stets durch Einstellung nach bekannten Prinzipien kontrolliert. Es wurde hierbei kein Wert auf eine feinere Abstufung gelegt, die nur bei einer weit subtileren Anordnung der Bindungsversuche Sinn hätte. Hier kam es auf Feststellung zunächst allgemeiner Prinzipien und der Größenordnung der Vorgänge an. Die auf diese Weise festgestellte lösende Dosis des Amboceptors diente als Einheit für die Bindungsversuche. Bei diesen wurden zu einer konstanten Menge einer 5% igen Aufschwemmung der gewaschenen Blutkörperchen wechselnde Mengen des Amboceptors gefügt; ein Röhrchen ohne Amboceptor diente als Kontrolle. Überall wurde durch Auffüllen mit 0,85% iger Kochsalzlösung gleiches Volum hergestellt. Die Röhrchen blieben dann eine bestimmte Zeit bei konstanter Temperatur unter häufigem Umschütteln, hierauf wurde zentrifugiert, die Flüssigkeit wurde sorgfältig von dem Sediment abgossen und dann jeder Anteil besonders untersucht. Die Sedimente wurden von neuem in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, zu den Abgüssen wurde von neuem Blutkörperchenaufschwemmung zugesetzt, hierauf überall Komplement zugefügt und endlich die eingetretene Hämolyse nach zweistündigem Verweilen bei 37° und Sedimentieren im Eisschrank bis zum folgenden Tag beurteilt. In der Kontrolle darf weder das Sediment noch der Abguß mehr als Spuren von Hämolyse zeigen. Variiert wurde die Menge des Amboceptors, ferner die Bindungszeit und die Temperatur.

Zunächst wurden Amboceptoren von mit Ziegenblut vorbehandelten Kaninchen (Ziegen-Kaninchen) untersucht.

Versuch 1.

Bindung des Amboceptors während $\frac{1}{2}$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ziegenblut 5%, 1 \times gewaschen, überall je 2 ccm.

Z.-K. Amboceptor v. 16. III.

Amboceptormengen

1. 0,1 $\frac{1}{100}$ = 1 \times lösende Dosis,
2. 0,3 " = 3 \times " " Gesamtvolum = 3 ccm.

3. $0,1 \frac{1}{10} = 10 \times$ lösende Dosis, Gesamtvolum = 3 ccm.

4. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbad.

A. bei 0° ; B. bei 20° ; C. bei 37° .

Zentrifugiert 2 Minuten.

Die Sedimente in Kochsalzlösung gewaschen und in 3 ccm aufgeschwemmt; davon je 1,5 ccm + Meerschweinchenserum 0,1.

Die Abgüsse: 1,5 ccm des Abgusses + 1 ccm Ziegenblut 5% + 0,1 Meerschweinchen-Serum.

A.		B.		C.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	Spur	1. komplett	Spur	1. komplett	Spur
2. „	mäßig	2. „	Spur	2. „	Spur
3. „	komplett	3. „	mäßig	3. „	wenig
4. 0	0	4. fast 0	fast 0	4. Spürchen	0

Der Versuch zeigt, daß nach einer halben Stunde bei den drei angewandten Temperaturen die einfache lösende Dosis des Amboceptors gebunden ist. Bei einem größeren Multiplum derselben, dem zehnfachen, tritt jedoch eine deutliche Differenz hervor, indem bei 37° der gesamte Amboceptor bis auf einen geringen Rest gebunden ist, bei 20° die Bindung etwas weniger vollständig ist, während bei 0° noch mindestens eine lösende Dosis im Abguß verbleibt. Es weist dieses Verhalten schon darauf hin, daß der zeitliche Ablauf der Reaktion bei höherer Temperatur ein schnellerer ist, vor allem aber auch darauf, daß bei geeigneter Versuchsanordnung die Möglichkeit gegeben ist, diesen Ablauf messend zu verfolgen. Daß die Menge des gebundenen Amboceptors bei konstanter Temperatur mit der Bindungszeit steigt, geht aus dem folgenden Versuch 2 hervor. Hier ersieht man, daß bei möglichst raschem Abzentrifugieren auch die einfache lösende Dosis noch nicht vollständig gebunden ist und daß auch die Bindung der Multipla noch mit der Zeit fortschreitet.

Versuch 2.

Bindung des Amboceptors bei 20° während verschiedener Zeit.

Ziegenblut 5%, $1 \times$ gewaschen, überall je 2 ccm.

Z.-K. Amboceptor v. 16. III.

Amboceptormengen

1. $0,1 \frac{1}{100} = 1 \times$ l. D.

2. $0,3 \text{ „} = 3 \times$ l. D.

3. 0,1 $\frac{1}{10}$ = 10 \times l. D.
 4. 0 Kontrolle
 Bindung bei 20°; A sofort.
 B während 90 Min.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	mäßig	1. komplett	Spürchen
2. „	fast komplett	2. „	Spur
3. „	komplett	3. „	mäßig stark
4. Spur	fast 0	4. Spürchen	fast 0

Die Versuche zeigen zugleich, daß in diesem Falle die Blutkörperchen imstande sind, mindestens 10 lösende Dosen des Amboceptors aufzunehmen. Wir lassen nun Versuche mit einem zweiten Amboceptor derselben Art folgen.

Versuch 3.

Bindung des Amboceptors während $\frac{1}{2}$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ziegenblut 5 $\frac{0}{0}$, 1 \times gewaschen, überall je 2 ccm.

Amboceptor Z.-K. v. 15. V.

Amboceptormengen

1. 0,5 $\frac{1}{100}$ = 1 \times l. D.
 2. 0,15 $\frac{1}{10}$ = 3 \times l. D.
 3. 0,5 „ = 10 \times l. D.
 4. 0 Kontrolle

Bindung während $\frac{1}{2}$ Stunde.

A. bei 0°; B. bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. fast komplett	Spur	1. komplett	Spur
2. komplett	wenig	2. „	„
3. „	komplett	3. „	wenig
4. Spur	fast 0	4. Spur	fast 0

Die Differenzen der Bindung bei verschiedenen Temperaturen sind auch bei diesem Amboceptor in derselben Weise ausgeprägt wie in Versuch 1. Daß die hier erhaltenen Resultate der Ausdruck für den zeitlichen Verlauf der Reaktion sind, illustriert besonders gut der folgende Versuch 4. Beim sofortigen Abzentrifugieren ist zwar überall eine komplett lösende Dosis des Amboceptors gebunden, es bleibt aber von dem 8fachen, 12fachen und 16fachen der lösenden Dosis noch mindestens eine lösende Dosis beim sofortigen Abzentrifugieren im Abguß, während nach Verlauf von 30 Minuten auch die Bindung der 16fachen löslichen Dosis beinahe erfolgt ist.

Versuch 4.

Bindung des Amboceptors bei 20° während verschiedener Zeiten.

Ziegenblut 5%, 1× gewaschen, überall je 2 ccm.

Z.-K. Amboceptor v. 15. V.

Amboceptormengen

1.	0,5	$\frac{1}{100}$	=	1 × l. D.
2.	0,1	$\frac{1}{10}$	=	2 × l. D.
3.	0,2	"	=	4 × l. D.
4.	0,4	"	=	8 × l. D.
5.	0,6	"	=	12 × l. D.
6.	0,8	"	=	16 × l. D.
7.	0			Kontrolle

Bindung bei 20°

A sofort; B 30 Min.

A.			B.	
	Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1.	komplett	wenig	1. komplett	Spürohen
2.	"	mäßig	2. "	"
3.	"	stark	3. "	Spur
4.	"	komplett	4. "	"
5.	"	"	5. "	wenig
6.	"	"	6. "	"
7.	0	0	7. 0	0

Die beiden untersuchten Amboceptoren dieser Gruppe verhalten sich offenbar in bezug auf ihre Bindung an die Blutkörperchen, wenigstens in den Hauptzügen, gleichartig. Es wurde, um dies mit Sicherheit festzustellen, noch ein weiterer Bindungsversuch ausgeführt, in welchem beide Amboceptoren gleichzeitig geprüft wurden, und zwar so, daß stets die entsprechenden Multipla der lösenden Dosis beider Amboceptoren, was Zeit und Temperatur betrifft, in der gleichen Weise behandelt wurden. Wie der Versuch 5 zeigt, ist eine sehr gute Übereinstimmung vorhanden. Bei Zusatz des 16fachen der lösenden Dosis werden mehr als 15 lösende Dosen gebunden. Auch zwischen den übrigen entsprechenden Werten der Tabelle herrscht gute Übereinstimmung.

Versuch 5.

Ziegenblut 5%, 1× gewaschen, überall je 2 ccm.

A.

Z.-K. Amboceptor v. 16. III.

Amboceptormengen

1.	0,1	$\frac{1}{100}$	=	1 × l. D.
2.	0,2	"	=	2 × l. D.
3.	0,4	"	=	4 × l. D.
4.	0,6	"	=	8 × l. D.
5.	0,8	"	=	12 × l. D.
6.	0,16	$\frac{1}{10}$	=	16 × l. D.
7.	0			Kontrolle

B.

Z.-K. Amboceptor v. 15. V.

Amboceptormengen

1.	0,5	$\frac{1}{100}$	=	1 × l. D.
2.	0,1	"	=	2 × l. D.
3.	0,2	"	=	4 × l. D.
4.	0,4	"	=	8 × l. D.
5.	0,6	"	=	12 × l. D.
6.	0,8	$\frac{1}{10}$	=	16 × l. D.
7.	0			Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 20°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	fast 0	1. komplett	fast 0
2. "	" 0	2. "	" 0
3. "	Spur	3. "	Spur
4. "	wenig	4. "	wenig
5. "	stark	5. "	mäßig stark
6. "	fast komplett	6. "	sehr "
7. 0	0	7. 0	0 "

Daß diese Übereinstimmung in der „Avidität“ der beiden Amboceptoren nicht etwa einer allgemeinen Gesetzmäßigkeit entspricht, die für alle Amboceptoren dieser Gruppe gilt, ergab sich aus der Prüfung eines weiteren Amboceptors (vom 22. V.), die in analoger Weise wie der vorige Versuch unter den gleichen Kautelen vorgenommen wurde. Es wurden gleichzeitig der an zweiter Stelle untersuchte Amboceptor mit dem neuen Amboceptor untersucht. Während bei dem ersteren von 16 lösenden Dosen mehr als 15 gebunden wurden, blieb bei Anwendung von 20 lösenden Dosen mindestens eine übrig; bei dem zweiten Amboceptor dagegen wurden selbst noch 60 lösende Dosen bis auf einen geringen Rest gebunden. Der Ausfall des Versuches ist um so eklatanter, als die absoluten Werte bei beiden Amboceptoren übereinstimmen.

Versuch 6.

Ziegenblut 5%, 1 × gewaschen, überall je 2 ccm.

A.	B.
Z.-K. Amboceptor v. 15. V.	Z.-K. Amboceptor v. 22. V.

Amboceptormengen

- | | | | | |
|----|-----|----------------|---|------------|
| 1. | 0,2 | $\frac{1}{10}$ | = | 4 × l. D. |
| 2. | 0,4 | " | = | 8 × l. D. |
| 3. | 0,8 | " | = | 16 × l. D. |
| 4. | 0,1 | $\frac{1}{1}$ | = | 20 × l. D. |
| 5. | 0,2 | " | = | 40 × l. D. |
| 6. | 0,3 | " | = | 60 × l. D. |
| 7. | 0 | | | Kontrolle |

Bindung $\frac{1}{4}$ Stunden bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	Spürchen	1. komplett	Spürchen
2. "	fast komplett	2. "	"
3. "	" "	3. "	wenig
4. "	" komplett	4. "	mäßig
5. "	"	5. "	"
6. "	"	6. "	fast komplett
7. Spürchen	Spürchen	7. Spürchen	Spürchen

Der Einfluß der Temperatur auf den Ablauf der Reaktion auch bei diesem Amboceptor, der dem schon beschriebenen analog ist, ist aus folgendem Versuch zu ersehen.

Versuch 7.

Ziegenblut 5%, 1× gewaschen, je 2 com.

Z.-K. Amboceptor v. 22. V.

Amboceptormengen

1. 0,5 $\frac{1}{100}$ = 1× l. D.
2. 0,1 $\frac{1}{10}$ = 2× l. D.
3. 0,2 „ = 4× l. D.
4. 0,4 „ = 8× l. D.
5. 0,6 „ = 12× l. D.
6. 0,8 „ = 16× l. D.
7. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{3}{4}$ Stunden.
A bei 0°; B bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	Spur	1. komplett	Spürchen
2. „	„	2. „	„
3. „	wenig	3. „	„
4. „	mäßig	4. „	Spur
5. „	fast komplett	5. „	„
6. „	komplett	6. „	„
7. 0	Spürchen	7. 0	Spürchen

Ein vierter Amboceptor, der aber nicht in exakt vergleichender Weise geprüft wurde, scheint nach dem folgenden Versuch eher eine geringere Avidität zu besitzen, indem nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° von 8 lösenden Dosen noch fast eine frei geblieben ist.

Versuch 8.

Ziegenblut 5%, 1× gewaschen, überall je 2 com. Z.-K.-Amboceptor vom 14. VII.

Amboceptormengen

1. 0,5 $\frac{1}{100}$ = 1× l. D.
2. 0,1 $\frac{1}{10}$ = 2× l. D.
3. 0,2 $\frac{1}{10}$ = 4× l. D.
4. 0,4 $\frac{1}{10}$ = 8× l. D.
5. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde
A. bei 0°; B. bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	Spur	1. komplett	Spürchen
2. „	wenig	2. „	Spur
3. „	fast komplett	3. „	„
4. „	„	4. „	fast komplett
5. Spürchen	Spürchen	5. Spürchen	fast 0

Fassen wir die Versuchsergebnisse dieser ersten Gruppe (Ziegen-Kaninchen-Amboceptor) zusammen, so können wir dieselben folgendermaßen ausdrücken:

1. Die Reaktion der Bindung des Amboceptors an die Blutkörperchen beginnt fast sogleich nach Zusatz des Amboceptors; ihr weiterer Verlauf ist von Zeit und Temperatur abhängig, in der Weise, daß in gleichen Zeiten um so mehr Amboceptor gebunden wird, je höher die Temperatur ist (Vergleich zwischen 0° und 37°), während bei ein und derselben Temperatur die Bindung des Amboceptors mit der Zeit fortschreitet.

2. Verschiedene Amboceptoren derselben Art haben verschiedenartige Avidität den Blutkörperchen gegenüber. Unter gleichartigen Bedingungen kann die Menge des gebundenen Amboceptors in weiten Grenzen schwanken. Diese Differenzen der Avidität sind nicht abhängig von der absoluten Wirkung der Amboceptoren; man findet Amboceptoren, die bei gleichartiger hämolytischer Wirkung verschiedene Avidität besitzen (Amboceptoren vom 15. V. und 22. V.), andererseits solche, die bei verschiedener hämolytischer Wirkung gleiche Avidität besitzen (Amboceptoren vom 16. III. und 15. V.).

Auch bei einem Amboceptor¹⁾, der von einem mit Ochsenblut behandelten Kaninchen stammte, ist der Einfluß der Zeit auf die Bindung in klarer Weise zu ersehen, wie der folgende Versuch 9 zeigt, der nach dem Vorausgegangenen keiner besonderen Erläuterung bedarf. Er zeigt in seinem Endergebnis, daß nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 20° von 3 lösenden Dosen mehr als 2, und von 10 mehr als 9 gebunden sind, während bei sofortiger Abtrennung des Sediments selbst von der einfach lösenden Dosis noch ein erheblicher Anteil frei ist.

¹⁾ Bei Benutzung von Ochsenblut wandten wir als Komplement das Serum von jungen Meerschweinchen von 250 g an, da das Serum ausgewachsener Meerschweinchen sehr häufig erhebliche Mengen eines Amboceptors für Ochsenblut besitzt und infolgedessen stark hämolytisch wirkt.

Versuch 9.

Bindung des Amboceptors bei 20° während verschiedener Zeit.
Ochsenblut 5%, 1× gewaschen, überall je 2 ccm. O.-K.-Amboceptor vom 3. VI.

Amboceptormengen

1. $0,2^{1/100} = 1 \times \text{l. D.}$
2. $0,6^{1/100} = 3 \times \text{l. D.}$
3. $0,2^{1/10} = 10 \times \text{l. D.}$
4. 0 Kontrolle

Bindung bei 20°.

A sofort; B während $\frac{1}{2}$ Stunde.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	stark	1. komplett	Spur
2. „	komplett	2. „	mäßig
3. „	„	3. „	fast komplett
4. Spürchen	Spürchen	4. Spürchen	Spürchen

Daß auch hier in ähnlicher Weise wie bei der vorigen Gruppe bei gleichen Zeiten die Temperatur von Einfluß ist, zeigt der folgende Versuch 10.

Versuch 10.

Bindung des Amboceptors während $\frac{1}{2}$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ochsenblut 5%, 1× gewaschen, je 2 ccm. O.-K.-Amboceptor vom 3. VI.

Amboceptormengen

1. $0,2^{1/100} = 1 \times \text{l. D.}$
2. $0,6^{1/100} = 3 \times \text{l. D.}$
3. $0,1^{1/10} = 5 \times \text{l. D.}$
4. $0,2^{1/10} = 10 \times \text{l. D.}$
5. $0,4^{1/10} = 20 \times \text{l. D.}$
6. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde

A bei 0°; B bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	mäßig	1. komplett	wenig
2. „	fast komplett	2. „	mäßig stark
3. „	„ „	3. „	fast komplett
4. „	komplett	4. „	„ „
5. „	„	5. „	komplett
6. 0	0	6. 0	0

Es verhält sich also offenbar dieser Ochsen-Kaninchen-Amboceptor im wesentlichen wie die Ziegen-Kaninchen-Amboceptoren.

Die Bindungsversuche mit dem Amboceptor einer mit Ochsenblut behandelten Ziege ergaben folgende Resultate: Der Amboceptor, den wir zunächst zu unseren Versuchen (vom 29. V.) verwendeten, war, nach kurzer Immunisierung gewonnen, außerordentlich schwach, so daß die lösende Dosis für 2 ccm 5%iges Ochsenblut 1,4 ccm des unverdünnten Serums betrug, bei Verwendung von normalem Ziegen serum zur Aktivierung. Das Verhalten dieses schwach wirkenden Amboceptors ist insofern außerordentlich bemerkenswert, als es offenbar eine Mittelstellung einnimmt und sich stark dem Verhalten gewisser normaler Amboceptoren nähert. Aus den beiden folgenden Versuchen 11 und 12 ist zu ersehen, daß nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 0° und bei 37° von der einfach lösenden Dosis nur ein geringer Bruchteil gebunden ist, während bei 37° von der 3fachen lösenden Dosis eine gebunden ist. Selbst nach 4 Stunden bei 37° haben die Blutkörperchen von einer lösenden Dosis noch nicht alles aufgenommen, während doch bei Gegenwart von Komplement in derselben Zeit eine vollkommene Bindung und Hämolyse erfolgt sein müßte.

Versuch 11.

Bindung des Amboceptors während $\frac{1}{2}$ Stunde bei verschiedenen Temperaturen.

Ochsenblut 5%, 2 x gewaschen, je 2 ccm. O.-Z.-Amboceptor vom 29. V.

Amboceptormengen

1. $1,4\frac{1}{1} = 1 \times$ l. D.
2. $4,2\frac{1}{1} = 3 \times$ l. D.
3. $8,4\frac{1}{1} = 6 \times$ l. D.
4. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde

A. bei 0°; B. bei 37°.

Zentrifugiert 2'. Zur weiteren Behandlung wird die Hälfte der Sedimente und der Abgüsse genommen; als Komplement: normales Ziegen serum aktiv 0,5 ccm.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. Spur	fast komplett	1. wenig	fast komplett
2. fast komplett	komplett	2. komplett	komplett
3. " "	"	3. "	"
4. 0	0	4. 0	0

Versuch 12.

Ochsenblut 5%, 2 × gewaschen, überall je 2 ccm O.-Z.-Amboceptor vom 29. V., inaktiv.

Amboceptormengen

1. $1,4\frac{1}{1} = 1 \times$ l. D.
2. $2,8\frac{1}{1} = 2 \times$ l. D.
3. $4,2\frac{1}{1} = 3 \times$ l. D.
4. 0 Kontrolle

Bindung bei 37°

A. während $\frac{1}{2}$ Stunde; B. während 4 Stunden.

Weiter wie in Versuch 11.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. Spur	stark	1. stark	mäßig stark
2. stark	komplett	2. fast komplett	fast komplett
3. fast komplett	"	3. " 0 "	" 0 "
4. 0	0	4. " 0 "	" 0 "

Bei einer weiteren Steigerung der hämolytischen Wirkung des Amboceptors im Verlauf der Immunisierung gewannen wir den Eindruck einer Aviditätssteigerung. Die Versuche konnten jedoch aus äußeren Gründen nicht beendet werden; die Frage hat durch P. Th. Müller¹⁾ eine vortreffliche Bearbeitung erfahren, aus der sich die Aviditätssteigerung im Verlaufe der Immunisierung ergibt.

Auch die Bindung eines Amboceptors einer mit Kaninchenblut vorbehandelten Ziege ist, wie der folgende Versuch 13 zeigt, bei konstanter Zeit von der Temperatur abhängig.

Versuch 13.

Kaninchenblut 5%, 1 × gewaschen, überall je 2 ccm. Kaninchen-Ziegen-Amboceptor vom 7. VII. Komplement: Meerschweinchen-serum 0,1.

Amboceptormengen

1. $0,5\frac{1}{10} = 1 \times$ l. D.
2. $0,1\frac{1}{1} = 2 \times$ l. D.
3. $0,15\frac{1}{1} = 3 \times$ l. D.
4. $0,2\frac{1}{1} = 4 \times$ l. D.
5. 0 Kontrolle

Bindung 1 Stunde

A. bei 0°; B. bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. fast komplett	mäßig	1. komplett	Spur
2. komplett	stark	2. "	wenig
3. "	"	3. "	mäßig
4. "	komplett	4. "	fast komplett
5. Spürchen	fast 0	5. fast 0	fast 0

¹⁾ Arch. f. Hygiene 54.

Wir lassen nun noch einen Versuch folgen, welcher die Bindungsweise eines normalen Amboceptors zeigt. Benutzt wurde Kaninchenblut, als Amboceptor diente durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erwärmen auf 56° inaktiviertes Ziegen Serum, welches durch Kaninchenserum (0,5) aktiviert wurde. Wie der Versuch erkennen läßt, erfolgt hier die Bindung der lösenden Dosis ziemlich rasch, doch werden offenbar auch nach längerer Zeit von 3 lösenden Dosen nicht mehr als 2 gebunden.

Versuch 14.

Kaninchenblut 5%, $1 \times$ gewaschen, überall je 2 ccm. Normal-Ziegen Serum, inaktiv.

Serummengen

1. $1,0\frac{1}{1} = 1 \times$ l. D.
2. $2,0\frac{1}{1} = 2 \times$ l. D.
3. $3,0\frac{1}{1} = 3 \times$ l. D.
4. 0 Kontrolle

Bindung bei 37°

A. während $\frac{1}{4}$ Stunde; B. während 2 Stunden.

	A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß	
1. komplett	fast 0	1. komplett	fast 0	
2. „	fast komplett	2. „	wenig	
3. „	komplett	3. „	komplett	
4. 0	0	4. fast 0	fast 0	

Vergleichen wir das Verhalten der von Kaninchen und von Ziegen gewonnenen Amboceptoren, so hat es den Anschein, als ob die Avidität der ersteren im allgemeinen eine stärkere wäre als die der letzteren. Doch bedarf es zur sicheren Feststellung dieser Tatsache noch einer Ausdehnung der Versuche auf mehrere Blutarten und auf eine größere Anzahl von Amboceptoren verschiedener Stärke. Es wird sich dann auch ergeben, ob unsere, auf diese Versuche basierte Vermutung richtig ist, daß das Hauptmoment, welches den Habitus des Amboceptors bestimmt, nicht in der Blutart, die zur Immunisierung benutzt wurde, sondern in der Spezies des immunisierten Tieres liegt.

Im Hinblick auf das von Ehrlich und Morgenroth eingeführte Prinzip von der Pluralität der Receptoren taucht die prinzipiell wichtige Frage auf, ob für gleichsinnig gerichtete Amboceptoren, die von verschiedenen Tierspezies stammen,

dieselben Receptoren der Blutkörperchen in Frage kommen oder nicht. Wir haben einige Versuche zur Entscheidung dieser Frage ausgeführt, und zwar unter Verwendung der beiden auf Ochsenblut wirkenden Amboceptoren, deren einer vom Kaninchen, der andere von der Ziege stammte. Der folgende Versuch zeigt ein eindeutiges Resultat.

Versuch 15.

4 Reagensröhren: Überall je 1,0 Ochsenblut 5%, 1× gewaschen + 1,0¹/₁₀ O.-Z.-Amboceptor, inaktiv, vom 6. VI. (4 lösende Dosen). Nach ¹/₂stündiger Bindung im Brutschrank bei 37° werden die Röhren zentrifugiert und die Abgüsse in bekannter Weise auf Amboceptor Gehalt geprüft. (Resultat: überall komplett.) Die Sedimente werden in Kochsalzlösung gewaschen und in 1 ccm aufgeschwemmt. Mit diesen Sedimenten wird schließlich der folgende Bindungsversuch aufgestellt:

Sediment (vorbehandelte Blutkörperchen), überall je 1 ccm. Ochsen-Kaninchen-Amboceptor vom 3. VI., inaktiv.

Amboceptormengen

1. 0,25¹/₁₀₀ = 1× l. D.
2. 0,5¹/₁₀₀ = 2× l. D.
3. 0,1¹/₁₀ = 4× l. D.
4. 0,2¹/₁₀ = 8× l. D.

Bindung ¹/₂ Stunde bei 37°.

Sediment	Abguß
1. komplett	1. komplett
2. „	2. „
3. „	3. „
4. „	4. „

Kontrolle.

Normales Ochsenblut 5%, 2× gewaschen, überall je 1 ccm Ochsen-Kaninchen-Amboceptor vom 3. VI., inaktiv.

Amboceptormengen

1. 0,25¹/₁₀₀ = 1× l. D.
2. 0,5¹/₁₀₀ = 2× l. D.
3. 0,1¹/₁₀ = 4× l. D.
4. 0,2¹/₁₀ = 8× l. D.
5. 0 Kontrolle

Bindung ¹/₂ Stunde bei 37°.

Sediment	Abguß
1. komplett	1. mäßig
2. „	2. stark
3. „	3. fast komplett
4. „	4. „ „
5. 0	5. 0

Der Versuch zeigt, daß die Blutkörperchen nach vorheriger Behandlung mit dem Amboceptor der Ochsen-Ziege ihre Fähigkeit verlieren, den Amboceptor des Ochsen-Kaninchens zu binden, welcher von den zur Kontrolle verwendeten Blutkörperchen in reichlichem Maße gebunden wird. Ein Versuch im umgekehrten Sinne ergab dasselbe Resultat. Wir lassen denselben folgen.

Versuch 16.

1. Ochsenblut 5%₀ 1 × gew. 1 ccm + 0,5¹/₁₀ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI., inaktiv (20 × 1. D.).
2. Ochsenblut 5%₀ 1 × gew. 1 ccm + 0,5¹/₁₀ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI., inaktiv
3. Ochsenblut 5%₀ 1 × gew. 1 ccm + 0,5¹/₁₀ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI., inaktiv
4. Ochsenblut 5%₀ 1 × gew. 1 ccm + 0,5¹/₁₀ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI., inaktiv

Bindung ¹/₂ Stunde bei 37°

Abguß: komplett.

1. Sediment + 0,1¹/₁₀ O.-Z.-Amboc. vom 6. VI. inaktiv (= 1 × 1. D.)
2. „ + 0,2¹/₁₀ do. (= 2 × 1. D.)
3. „ + 0,4¹/₁₀ do. (= 4 × 1. D.)
4. „ + 0,8¹/₁₀ do. (= 8 × 1. D.)

Bindung ¹/₂ Stunde bei 37°.

Sediment: komplett.

Kontrolle

(O.-Bl. + O.-Z.-Amboc.)

Abguß	Sediment	Abguß
	1. komplett	1. Spur Kuppe
1. mäßig stark	2. „	2. „ „
2. komplett	3. „	3. mäßig stark
3. „	4. „	4. komplett
4. „	5. fast 0	5. fast 0

Die beiden folgenden Versuche (17 und 18) ergänzen die eben beschriebenen, indem sie zeigen, daß die Bindung der hier benutzten Amboceptoren in analoger Weise gehemmt wird, wenn vorher die gleichartigen Amboceptoren von den Blutkörperchen gebunden sind.

Versuch 17.

1. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $1,0\frac{1}{10}$ O.-Z.-Amboc.
vom 6. VI. inaktiv (= 10 \times l. D.)
2. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $1,0\frac{1}{10}$ O.-Z.-Amboc.
vom 6. VI. inaktiv
3. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $1,0\frac{1}{10}$ O.-Z.-Amboc.
vom 6. VI. inaktiv
4. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $1,0\frac{1}{10}$ O.-Z.-Amboc.
vom 6. VI. inaktiv

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° .

Abguß: komplett.

- | | | | |
|----|---|--------------------|----------------------|
| 1. | Sediment + $0,1\frac{1}{10}$ O.-Z.-Amboc. | vom 6. VI. inaktiv | (= 1 \times l. D.) |
| 2. | „ + 0,2 | do. | (= 2 \times l. D.) |
| 3. | „ + 0,4 | do. | (= 4 \times l. D.) |
| 4. | „ + 0,8 | do. | (= 8 \times l. D.) |

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° .

Sediment: komplett.

Kontrolle

Abguß	Sediment	Abguß
1. mäßig	1. komplett	1. Spur K.
2. stark	2. „	2. „
3. komplett	3. „	3. mäßig stark
4. „	4. „	4. komplett
	5. fast 0	5. fast 0

Versuch 18.

1. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $0,5\frac{1}{10}$ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI. inaktiv (= 20 \times l. D.)
2. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $0,5\frac{1}{10}$ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI. inaktiv
3. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $0,5\frac{1}{10}$ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI. inaktiv
4. Ochsenblut $5\frac{0}{0}$ 1 \times gew. 1 ccm + $0,5\frac{1}{10}$ O.-K.-Amboc.
vom 3. VI. inaktiv

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° .

Abguß: komplett.

- | | | | |
|----|---|--------------------|----------------------|
| 1. | Sediment + $0,25\frac{1}{100}$ O.-K.-Amboc. | vom 3. VI. inaktiv | (= 1 \times l. D.) |
| 2. | „ + $0,5\frac{1}{100}$ | do. | (= 2 \times l. D.) |
| 3. | „ + $0,1\frac{1}{10}$ | do. | (= 4 \times l. D.) |
| 4. | „ + $0,2\frac{1}{10}$ | do. | (= 8 \times l. D.) |

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° .

Sediment: komplett.

Kontrolle

Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	1. komplett	1. mäßig
2. „	2. „	2. stark
3. „	3. „	3. fast komplett
4. „	4. „	4. komplett
	5. 0	5. 0

Es muß also angenommen werden, daß die Receptoren, deren Funktion die Bindung der beiden vom Kaninchen und von der Ziege stammenden Amboceptoren ist, identisch sind. Es können offenbar dieselben Receptoren, wenn man die Amboceptormengen in der einzigen uns zu Gebote stehenden biologischen Einheit, in lösenden Dosen ausdrückt, von verschiedenen Amboceptoren eine verschieden große Zahl von Einheiten binden. Es ergibt sich hieraus, daß diese Einheit uns nicht, wie man hätte annehmen können, irgendeinen Aufschluß über die absolute Menge der in einem Serum vorhandenen Amboceptoren gibt. Wenn wir die absolute hämolytische Wirkung zweier verschiedener Sera miteinander vergleichen und finden, daß dieselben im Verhältnis von 1:10 stehen, so ist damit noch keineswegs gesagt, daß das eine Serum die zehnfache Menge eines Amboceptors enthält. Die Verhältnisse, die hier vorliegen, sind offenbar weit komplizierterer Natur, und es sind für dieselben die Aviditätsunterschiede der verschiedenen Amboceptortypen wohl mit maßgebend.

Wir haben analoge Versuche, die in demselben Sinne der gegenseitigen „Sperrung“ ausgefallen sind, noch mit anderen Kombinationen angestellt, und zwar mit Amboceptor Ziegenkaninchen-Ochsenkaninchen und umgekehrt (Ochsenblut), sowie mit Ziegenkaninchen und Ochsenziege (Ochsenblut).

II.

Ebenso wie auf dem Gebiete der Physiologie, speziell der Physiologie der Ernährung und den hiermit zusammenhängenden Gebieten der Pathologie, zunächst das Interesse sich den organischen Nährstoffen, den Eiweißkörpern, Fetten und Kohlenhydraten zuwandte und erst später die wichtige Rolle der Salze im Haushalt des Organismus erkannt wurde, so wandte sich auch die Immunitätsforschung zunächst dem Studium der spezifischen Immunsustanzen und der Bedingungen ihrer Entstehung und Wirkung zu, bevor sie den Einfluß des Mediums und speziell der Salze desselben auf die hier in Frage kommenden Vorgänge zu untersuchen begann.

An vereinzelt interessanten Beobachtungen auf diesem Gebiete fehlte es nicht. Es sei hier nur an den wichtigen Be-

fund Buchners¹⁾ erinnert, daß die baktericide Wirkung des Serums in salzfreiem oder salzarmem Medium ausbleibt, ein Befund, der später durch die unter Morgenroths Leitung mit hämolysischen Sera angestellten Versuche von Ferrata²⁾ eine Erklärung fand. Später trat in einigen Untersuchungen besonders der hemmende Einfluß höherer Salzkonzentration auf die Wirkung der komplexen Hämolysine hervor, so in Versuchen von Nolf³⁾, der feststellte, daß Salze der Alkalien (NaCl, KJ und KNO₃) in konzentrierteren Lösungen, Salze der alkalischen Erden in starken Verdünnungen die Hämolyse hemmen. Ähnliche Beobachtungen hat Markl⁴⁾ angestellt, der auch die Hemmung durch phosphorsaure Salze feststellte. Hektoen und Ruediger⁵⁾ unterscheiden zwischen zwei Gruppen von Salzen, von denen die einen (NaCl, KCl, LiCl) in isotonischen Lösungen ohne Einfluß sind, während die anderen (Salze alkalischer Erden) schon in geringerer Konzentration die Hämolyse hemmen. Ehrlich und Sachs⁶⁾ benutzten die Hemmung der Hämolyse durch Salze für die Trennung von Amboceptor und Komplement, nachdem sie festgestellt hatten, daß die Vereinigung von Amboceptor und Komplement durch höhere Salzkonzentration gehindert wird. Die Ursachen, welche dem Einfluß der Salze auf die Hämolyse zugrunde liegen, sind noch unbekannt und eine Klärung der Verhältnisse ist wohl auch nicht zu erwarten, bis nicht umfangreichere Versuche vorliegen.

Über die Bindung der Amboceptoren bei Gegenwart verschiedener Salze liegen noch kaum ausgedehnte quantitative Beobachtungen vor. Ich habe deshalb eine Anzahl Versuche angestellt, um über einige hierhergehörige Punkte Aufklärung zu erhalten.

Es wurden Lösungen verwendet, welche, auf bekannte Weise berechnet, mit der gewöhnlich verwendeten 0,85%igen Kochsalzlösung isotonisch waren. In 1 l destilliertem Wasser wurden entsprechende Mengen des betreffenden Salzes (von

¹⁾ Buchner, Arch. f. Hygiene 10, 1890 und 17, 1892.

²⁾ Ferrata, Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 13.

³⁾ Nolf, Annales de l'Inst. Pasteur 14, Nr. 10, 1900.

⁴⁾ Markl, Zeitschr. f. Hygiene 39, 1902.

⁵⁾ Hektoen und Ruediger, Journ. of infect. diseases 1, 1904.

⁶⁾ Ehrlich und Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 21.

C. A. F. Kahlbaum bezogen) gelöst. Die hämolytischen Versuche wurden in der üblichen Weise angestellt, gleichzeitig vergleichende Versuche mit 0,85% iger Kochsalzlösung.

Es zeigte sich zunächst, daß die Hämolyse durch spezifische Hämolsine in isotonischen Lösungen von KCl ganz erheblich begünstigt wird, eine Beobachtung, die auch schon von Ferrata gemacht worden ist. Die folgenden Versuche demonstrieren, daß bei konstanter Komplementmenge und wechselndem Amboceptorgehalt die Hälfte bis ein Drittel derjenigen Amboceptormenge, welche in 0,85% iger Kochsalzlösung komplette Hämolyse hervorbringt, ausreicht, um in 1,1% iger Kaliumchloridlösung vollständige Hämolyse herbeizuführen.

Versuch 1.

Ziegenblut 5%, 1× gewaschen, überall je 1 ccm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 22. V.

Meerschweinchen-Serum aktiv, überall je 0,1 ccm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,1% iger KCl-Lösung.

B. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,75% iger NaCl-Lösung.

Amboceptormengen	A	B
1. 1,0 ¹ / ₁₀₀	komplett	komplett
2. 0,5	„	„
3. 0,35	„	„
4. 0,25	„	„
5. 0,15	„	stark
6. 1,0 ¹ / ₁₀₀₀	„	mäßig
7. 0,5	fast komplett	wenig
8. 0,25	stark	„
9. Blut + Komplement	Spur	Spürchen
10. Blut allein	0	0

Versuch 2.

Ochsenblut 5%, 1× gewaschen, je 1 ccm.

Ochsen-Kaninchen-Amboceptor inaktiv, vom 3. VI.

Jung. Meerschweinchen-Serum aktiv, überall je 0,1 ccm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,1% iger KCl-Lösung.

B. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,85% iger NaCl-Lösung.

Amboceptormengen		A.	B.
1.	1,0 ¹ / ₁₀₀₀	komplett	komplett
2.	0,5	"	"
3.	0,25	"	"
4.	1,0 ¹ / ₁₀₀₀₀	"	stark
5.	0,5	stark	wenig
6.	Blut + Komplement	Spur	Spürchen
7.	Blut allein	0	0

Versuch 3.

Kaninchenblut 5%, 1 × gewaschen, überall je 1 cm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 1. VII.

Meerschweinchen-Serum je 0,1 cm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,1 % iger KCl-Lösung.

B. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,85 % iger NaCl-Lösung.

Amboceptormengen		A.	B.
1.	1,0 ¹ / ₁₀	komplett	komplett
2.	0,85	"	"
3.	0,75	"	"
4.	0,6	"	fast komplett
5.	0,5	"	" stark "
6.	0,25	"	stark
7.	1,0 ¹ / ₁₀₀	stark	mäßig
8.	0,5	mäßig	wenig
9.	0,25	wenig	"
10.	0,1	Spürchen	Spur
11.	Blut + Komplement	0	0
12.	Blut allein	0	0

Gänzlich ähnlich, quantitativ noch ausgeprägter, verhält sich KBr, wie der folgende Versuch zeigt, gegenüber dem NaBr.

Versuch 4.

Ziegenblut 5%, 1 × gewaschen, je 1 cm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 22. V., inaktiv.

Meerschweinchen-Serum aktiv, je 0,1 cm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,73 % iger KBr-Lösung.

B. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,5 % iger NaBr-Lösung.

Amboceptormengen		A.	B.
1.	0,5 ¹ / ₁₀₀	komplett	komplett
2.	0,25	"	"
3.	1,0 ¹ / ₁₀₀₀	"	stark
4.	0,75	"	"
5.	0,5	"	mäßig
6.	0,25	stark	wenig
7.	1,0 ¹ / ₁₀₀₀₀	wenig	Spürchen
8.	0,5	"	"
9.	0,25	Spur	"
10.	Blut + Komplement	0	0
11.	Blut allein	0	0

Es kommt also offenbar Halogensalzen des Kaliums gegenüber dem Natriumsalz eine begünstigende Wirkung der Hämolyse in den untersuchten Fällen zu. Ganz entsprechend verhält sich das Lithiumchlorid, was besonders aus dem zuerst untersuchten Fall, in dem das Serum einer mit Kaninchenblut vorbehandelten Ziege benutzt wurde, hervorgeht.

Versuch 5.

Kaninchenblut, 5%, 1× gewaschen, überall je 1 ccm.

Kaninchen-Ziegen-Amboceptor vom 1. VII., inaktiv.

Meerschweinchenserum aktiv, überall je 0,1 ccm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,62% iger LiCl-Lös.

B. " " " " " " " 0,85% iger NaCl- "

Amboceptormengen	A.	B.
1. 1,0 ¹ / ₁₀	komplett	komplett
2. 0,75 ¹ / ₁₀	"	"
3. 0,6 ¹ / ₁₀	"	fast komplett
4. 0,5 ¹ / ₁₀	"	"
5. 0,35 ¹ / ₁₀	"	stark
6. 0,25 ¹ / ₁₀	"	"
7. 1,0 ¹ / ₁₀₀	"	mäßig
8. 0,5 ¹ / ₁₀₀	fast komplett	wenig
9. 0,25 ¹ / ₁₀₀	"	"
10. 0,1 ¹ / ₁₀₀	mäßig	Spur
11. Blut + Komplement	fast 0	0
12. Blut allein	0	0

Versuch 6:

Ziegenblut, 2× gewaschen, 5%, überall je 1 ccm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 14. VII., inaktiv.

Meerschweinchenserum aktiv, überall je 0,1 ccm.

A. Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,62% iger LiCl-Lös.

B. " " " " " " " 0,85% iger NaCl- "

Amboceptormengen	A.	B.
1. 0,5 ¹ / ₁₀₀	komplett	komplett
2. 0,35 ¹ / ₁₀₀	"	"
3. 0,25 ¹ / ₁₀₀	"	"
4. 0,15 ¹ / ₁₀₀	"	stark
5. 1,0 ¹ / ₁₀₀₀	fast komplett	mäßig
6. 0,75 ¹ / ₁₀₀₀	stark	wenig
7. 0,5 ¹ / ₁₀₀₀	mäßig	Spur
8. 0,35 ¹ / ₁₀₀₀	"	"
9. 0,25 ¹ / ₁₀₀₀	wenig	Spürchen
10. 0,1 ¹ / ₁₀₀₀	Spur	"
11. Blut + Komplement	Spürchen	0
12. Blut allein	0	0

Die hemmende Wirkung der Chloride der alkalischen Erden ist aus dem folgenden Versuch zu ersehen.

Versuch 7.

Ziegenblut 5%, 1 × gewaschen, in 0,85% iger NaCl-Lösung, überall je 1 ccm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 22. V., inaktiv, in 0,85% iger NaCl-Lösung, überall je 0,5¹/₁₀₀.

Meerschweinchenserum aktiv, überall je 0,1 ccm.

A. Steigende Mengen von 1,39% iger MgCl₂-Lösung.

B. " " " 1,62% iger CaCl₂- " "

C. " " " 3,03% iger BaCl₂- " "

	Fallende Mengen von 0,85% iger NaCl-Lösung	Steigende Mengen des betreffenden Salzes	A.	B.	C.
1.	2,0	0	komplett	komplett	komplett
2.	1,75	0,25	"	"	Spur
3.	1,5	0,5	"	f. komplett	0
4.	1,25	0,75	"	stark	0
5.	1,0	1,0	f. komplett	wenig	0
6.	0,75	1,25	stark	"	0
7.	0,5	1,5	Spur	Spur	0
8.	0,25	1,75	Spürchen	Spürchen	0
9.	0	2,0	"	"	0
10.	Blut allein	2,5	0	0	0

Bei Zusatz steigender Mengen der Lösungen, welche äquimolekular, also unter sich vergleichbar sind, zeigt sich, daß die hemmende Wirkung mit dem Atomgewicht ansteigt, indem das Magnesiumsalz am schwächsten, das Bariumsalz am stärksten hemmt und das Calciumsalz eine Mittelstellung einnimmt.

Inwieweit besonders bei der begünstigenden Wirkung eine Beeinflussung der Bindung des Amboceptors in Betracht kommt, ist bis jetzt noch nicht untersucht worden, und wir haben deshalb Versuche angestellt, deren Technik den im vorigen Abschnitt beschriebenen entspricht. Die Versuche lassen erkennen, daß in Lösungen von KCl und LiCl die Bindung der Amboceptoren eine geringere ist als in der entsprechenden Kochsalzlösung.

Versuch 8.

Bindung des Amboceptors in isotonischer KCl-Lösung.

A:

Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,1% iger KCl-Lösung.

B.

Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,85% iger NaCl-Lösung.

Ziegenblut 5%, 1 × gewaschen, je 2 ccm.

Ziegen-Kaninchen-Amboceptor vom 22. V., inaktiv.

Amboceptormengen		Amboceptormengen	
1.	$0,4^{1/100} = 2 \times \text{I. D.}$	1.	$0,1^{1/10} = 2 \times \text{I. D.}$
2.	$1,6^{1/100} = 8 \times \text{I. D.}$	2.	$0,4^{1/10} = 4 \times \text{I. D.}$
3.	$0,64^{1/10} = 32 \times \text{I. D.}$	3.	$1,6^{1/10} = 32 \times \text{I. D.}$
4.	0 Kontrolle	4.	Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	1. wenig	1. komplett	1. Spürchen
2. „	2. fast komplett	2. „	2. wenig
3. „	3. komplett	3. „	3. stark
4. Spürchen	4. Spürchen	4. Spürchen	4. Spürchen

Versuch 9.

Bindung des Amboceptors in isotonischer KCl-Lösung.

A.		B.	
Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 1,1%iger KCl-Lösung.		Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,85%iger NaCl-Lösung.	
Ochsenblut 5%, 1 × gewaschen, überall je 2 ccm.			
Ochsen-Kaninchen-Amboceptor vom 3. VI. (inaktiv).			

Amboceptormengen		Amboceptormengen	
1.	$0,2^{1/1000} = 1 \times \text{I. D.}$	1.	$0,5^{1/1000} = 1 \times \text{I. D.}$
2.	$0,6^{1/1000} = 3 \times \text{I. D.}$	2.	$0,15^{1/100} = 3 \times \text{I. D.}$
3.	$0,2^{1/100} = 10 \times \text{I. D.}$	3.	$0,5^{1/100} = 10 \times \text{I. D.}$
4.	$0,4^{1/100} = 20 \times \text{I. D.}$	4.	$1,0^{1/100} = 20 \times \text{I. D.}$
5.	0 Kontrolle	5.	0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°.

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	1. stark	1. komplett	1. mäßig
2. „	2. fast komplett	2. „	2. stark
3. „	3. komplett	3. „	3. fast komplett
4. „	4. „	4. „	4. komplett
5. Spürchen	5. Spürchen	5. Spürchen	5. Spürchen

Versuch 10.

Bindung des Amboceptors in isotonischer LiCl-Lösung.

A.		B.	
Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,62%iger LiCl-Lösung.		Verdünnung des Blutes und Amboceptors in 0,85%iger NaCl-Lösung.	
Ziegenblut 5%, 1 × gewaschen, überall je 2 ccm.			
Ziegen-Kaninchen Amboceptor vom 14. VII., inaktiv.			

Amboceptormengen

1. $0,3^{1/100} = 1 \times \text{I. D.}$
2. $0,12^{1/10} = 4 \times \text{I. D.}$
3. $0,24^{1/10} = 8 \times \text{I. D.}$
4. $0,48^{1/10} = 16 \times \text{I. D.}$
5. $0,96^{1/10} = 32 \times \text{I. D.}$
6. 0 Kontrolle

Amboceptormengen

1. $0,5^{1/100} = 1 \times \text{I. D.}$
2. $0,2^{1/10} = 4 \times \text{I. D.}$
3. $0,4^{1/10} = 8 \times \text{I. D.}$
4. $0,8^{1/10} = 16 \times \text{I. D.}$
5. $0,16^{1/1} = 32 \times \text{I. D.}$
6. 0 Kontrolle

Bindung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° .

A.		B.	
Sediment	Abguß	Sediment	Abguß
1. komplett	1. Spur	1 komplett	1. Spürchen
2. „	2. „	2. „	2. „
3. „	3. wenig	3. „	3. Spur
4. „	4. fast komplett	4. „	4. mäßig
5. „	5. komplett	5. „	5. fast komplett
6. Spürchen	6. 0	6. Spürchen	6. 0

Es kann also die verstärkende Wirkung des Kalium- und Lithiumsalses nicht auf eine Erhöhung der Avidität des Amboceptors zurückgeführt werden, sondern die Bindungsversuche weisen im Gegenteil auf eine Verringerung derselben hin.

Daß auch in den hemmenden Lösungen der Salze der alkalischen Erden die Bindung statthat, zeigt der folgende Versuch.

Versuch 11.

In jedes der vier Reagensröhrchen wird zugefügt: unverdünntes Ziegenblut überall je 0,1 ccm + $0,7^{1/100}$ Amboceptor. Ziegen-Kaninchen vom 22. V. (inaktiv) mit 2 ccm folgender Lösung verdünnt:

1. 0,85%ige NaCl-Lösung.
2. 1,39%ige MgCl_2 - „
3. 1,62%ige CaCl_2 - „
4. 3,03%ige BaCl_2 - „

In eine zweite Reihe von Reagensröhrchen, die zur Kontrolle dienen, wird überall je 0,1 ccm unverdünntes Z.-Blut und je 2 ccm derselben Lösungen (ohne Amboceptor) zugefügt.

Alle Röhrchen nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen im Brutschrank bei 37° werden zentrifugiert; die Sedimente werden mehrmals in physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen und in 2 ccm aufgeschwemmt, dazu wird 0,1 ccm Meerschweinchenserum (aktiv) zugefügt. Nach 2 stündigem Stehen im Brutschrank wird das folgende Resultat notiert:

Versuchsreihe	Kontrollreihe
1. überall komplett	1. fast 0
2. „ „	2. „ „
3. „ „	3. „ „
4. „ „	4. „ „

Ein weiterer quantitativ durchgeführter Bindungsversuch zeigte, daß auch die einfach lösende Dosis des Amboceptors (festgestellt in Kochsalzlösung) aus isotonischen Lösungen von Magnesium-, Calcium- und Bariumchlorid von den Blutkörperchen gebunden wird. Die hemmende Wirkung der Salze der alkalischen Erden dürfte also wohl auf einer Beeinflussung des Komplements beruhen, und zwar wird dasselbe offenbar nicht zerstört, sondern nur unwirksam. Denn verdünnt man eine derartige Lösung, in der das Komplement durch Zusatz eines hemmenden Salzes gerade ausgeschaltet ist, mit Kochsalzlösung, so tritt die Wirkung desselben wieder hervor, ähnlich wie in den Versuchen von Ehrlich und Sachs, mit stärkeren Kochsalzlösungen. Wir dürfen aus diesen Versuchen wohl schließen, daß es sich bei den hier beschriebenen Wirkungen der Salze, sowohl den begünstigenden wie den hemmenden, nicht um Einwirkungen auf die Amboceptorbindung handelt, sondern daß in dem einen Fall die Komplementwirkung begünstigt, in dem anderen geschädigt wird. Ob auch hier eine Art Antagonismus der Salze festgestellt werden kann, wie z. B. in den bekannten Untersuchungen von J. Loeb, das müssen erst weitere Versuche lehren.

Über Oberflächenspannungs- und Viscositätsbestimmungen bei Kuhmilch unter Verwendung des Traubeschen Stalagmometers.

Von

R. Burri und Ths. Nußbaumer.

(Aus der schweiz. milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Versuchsanstalt Bern-Liebefeld.)

(Eingegangen am 30. August 1909.)

In neuerer Zeit macht sich das Bestreben geltend, zur Untersuchung und Beurteilung von Blut, Harn, Milch usw. mehr als es bisher geschehen ist, die physikalischen Methoden heranzuziehen. Für Kuhmilch hat C. Schnorf¹⁾ vor einiger Zeit zunächst bezüglich der Verwendbarkeit von Leitfähigkeits-, Gefrierpunkterniedrigungs- und refraktometrischen Messungen Grundlegendes mitgeteilt. Angeregt durch verschiedene Publikationen von J. Traube unternahmen wir es, die Oberflächenspannungsverhältnisse der Kuhmilch einer näheren Verfolgung zu unterziehen, wobei das vom genannten Autor angegebene Stalagmometer zur Verwendung kam. Das Prinzip und die Handhabung des Apparates setzen wir als bekannt voraus.

Nach Beginn unserer Untersuchungen ist eine Arbeit von B. Kobler²⁾ erschienen, die sich mit Untersuchungen über Viscosität und Oberflächenspannung der Kuhmilch befaßt, also den unsrigen ähnliche Ziele verfolgt. Kobler hat die Bestimmungen über Oberflächenspannung nach einer eigenen, unter H. Zanggers Leitung ausgearbeiteten Methode ausgeführt, während er für die Viscositätsbestimmungen das Heßsche Viscosimeter benutzte. Schon aus diesem Grunde schien es wünschenswert, unsere begonnene Arbeit fortzusetzen, denn die auf verschiedenen Wegen er-

¹⁾ C. Schnorf, Neue physikalisch-chemische Untersuchungen der Milch. Zürich 1908.

²⁾ B. Kobler, Dissert. Zürich 1908.

haltenen Ergebnisse konnten sich nicht nur gegenseitig ergänzen, sondern sie mußten auch geeignet sein, das Urteil über die benutzten Arbeitsverfahren abzuklären. Unsere Versuche auch auf die Viscosität auszudehnen, war um so naheliegender, als der Traubesche Apparat, der in seinem Bau dem Ostwaldschen Viscosimeter entspricht, sowohl für Bestimmungen der Oberflächenspannung, als der Viscosität geeignet sein soll.

Unsere Versuche beanspruchen übrigens aus dem Grunde noch ein besonderes Interesse, weil wir bei den Messungen, die im allgemeinen bei genau 20° vorgenommen wurden, dem Einfluß der Temperatur, welcher die Milch vor der Untersuchung ausgesetzt war, besondere Berücksichtigung schenkten.

Dieses Moment, das sich für die Ergebnisse der Oberflächenspannungsbestimmungen von außerordentlicher Tragweite erwiesen hat, ist von Kobler sozusagen nicht berücksichtigt worden.

Zu der von uns befolgten Arbeitsweise sei kurz folgendes bemerkt: Die Versuche sind mit dem Stalagmometer Nr. II (von C. Gerhardt in Bonn bezogen; Tropfenzahl für Wasser bei 15° C = 59,15) ausgeführt worden. Der Apparat war im Innern eines durchsichtigen Wasserbehälters montiert, dessen Inhalt auf die Temperatur von 20° C eingestellt war. Eine besondere Vorrichtung zur Regulierung des auf der Versuchsflüssigkeit lastenden Druckes wurde nicht angebracht, indem bei Anwendung des genannten Stalagmometers auf Milch die in einer bestimmten Zeit fallende Tropfenzahl die gewünschten Verhältnisse nicht überschritt. Ein großer Teil der Versuche ist mit der Milch einer einzelnen Kuh durchgeführt, ein kleiner Teil mit einer Mischmilch von 40 Kühen. Die Milch wurde unmittelbar oder bald nach dem Melken noch warm durch eine dünne Watteschicht filtriert, um gröbere Verunreinigungen, die die Capillaren des Stalagmometers hätten verstopfen können, zurückzuhalten. Eine nennenswerte Beeinflussung der Milch, wie sie bei langsam verlaufender Filtration durch Filtrierpapier zu befürchten ist, mußte so ausgeschlossen erscheinen. Zur genauen Feststellung der Auslaufzeiten diente selbstverständlich ein arretierbares Chronometer. Die Resultate sind bei den einzelnen Versuchen so ausgedrückt, daß bezüglich der Viscosität der nach Ostwald¹⁾ berechnete, auf destilliertes Wasser von 20° bezogene Koeffizient für die relative innere Reibung angegeben wurde, während die bei der Oberflächenspannung aufgeführten Zahlen direkt die ermittelte Tropfenzahl bedeuten. Zwischen letzterer und der capillaren Steighöhe einer Flüssigkeit bestehen einfache Beziehungen, so daß die vorliegenden Tropfenzahlen durch Umrechnung auch einen Ausdruck für die Oberflächenspannung liefern können. Die in den folgenden Versuchen für Viscosität und Tropfenzahl angegebenen Werte sind das Mittel von Doppelbestimmungen. Wenn die Ausflußzeiten um mehr als eine Sekunde

¹⁾ W. Ostwald, Grundriß der allg. Chemie. Leipzig 1909, S. 99.

differierten, so wurde eine dritte und ev. eine vierte Bestimmung ausgeführt.

Zwischen den einzelnen Bestimmungen fand immer eine vollkommene Reinigung des Apparates in der Weise statt, daß zuerst mit warmer, 10%iger Sodalösung, dann mit destilliertem Wasser, Alkohol und Ather gespült und zuletzt trockene Luft durchgeleitet wurde.

Das Stalagmometer als Viscosimeter.

Um zu sehen, in wie weit die mit dem Stalagmometer für die Viscosität erhaltenen Werte mit den nach andern Methoden erlangten übereinstimmen, wurden einige vergleichende Versuche mit dem von Kobler (l. c.) benutzten Viscosimeter nach W. Heß ausgeführt.

Versuch 1.

Morgenmilch der Kuh „Gais“. Die Versuche sind bei 20° und bei 30° ausgeführt.

Versuchstemperatur	Viscositätswert im Viscosimeter abgelesen	Viscositätswert nach der Ausfußzeit (Stalagmometer) berechnet
20°	1,88	1,899
	1,89	1,901
	1,88	1,892
30°	1,79	1,776
	1,75	1,745
	1,75	1,756

Die bei den betreffenden Temperaturen erhaltenen Werte stimmen sonach für die benützten Methoden wie auch unter sich in befriedigender Weise überein.

Veränderung von Viscosität und Oberflächenspannung bei Milch, welche konstant bei 20° aufbewahrt wird.

Schon bei den ersten Versuchen hatten wir den Eindruck bekommen, daß Viscosität und Oberflächenspannung der Milch auch bei verhältnismäßig kurzer Aufbewahrungszeit sich ändern.

Um Sinn und Intensität dieser Änderung zu ermitteln, empfahl es sich zunächst, eine Serie von Untersuchungen bei ein und derselben Milch, die unmittelbar nach dem Melken auf eine bestimmte mittlere Temperatur gebracht war, in gleichmäßigen Zeitintervallen vorzunehmen.

Versuch 2.

Morgenmilch der Kuh „Gais“ vom 16. III. 1909.

Zeit der Untersuchung	Tropfenzahl	Viscosität
7 ^h morgens	81,2	1,899
9 ^h „	81,7	1,911
11 ^h „	82,4	1,912
1 ^h nachmittags	82,2	1,940
3 ^h „	82,4	1,942
5 ^h „	82,8	1,941
7 ^h „	83,0	1,944

Versuch 3.

Morgenmilch der Kuh „Gais“ vom 17. III. 1909.

Zeit der Untersuchung	Tropfenzahl	Viscosität
7 ^h morgens	80,5	1,867
9 ^h „	80,7	1,887
11 ^h „	81,5	1,909
1 ^h nachmittags	81,7	1,909
3 ^h „	81,7	1,916
5 ^h „	82,5	1,922
7 ^h „	82,3	1,917

Nach diesen beiden Versuchen scheint also im Verlauf von 12 Stunden die Oberflächenspannung merklich abzunehmen, während die Viscosität um ein geringes steigt.

Da die Versuchsmilch die ganze Zeit im offenen Kolben gestanden hatte, war in einem weiteren Versuche zu untersuchen, ob bezüglich der Viscositätszunahme vielleicht die Verdunstung bzw. die Konzentrationszunahme der Milch eine Rolle spielen konnte.

Versuch 4.

Die Milch derselben Kuh wurde sofort nach dem Melken filtriert, gut gemischt, auf zwei je 1 l fassende konische Kolben verteilt und im Wasserbade bei 20° aufgestellt. Die Kolben wurden zunächst etwa 1½ Stunde stehen gelassen, damit sich der Gasaustausch ungehindert vollziehen konnte. Um 8 Uhr morgens wurden bei der Untersuchung für beide Kolben übereinstimmende Werte gefunden. Der eine der Kolben wurde nun mit einem Gummistopfen gut verschlossen, um die Verdunstung zu verhindern, und nach weiteren 8 Stunden wurde die Milch wieder untersucht.

Untersuchungszeit	Tropfenzahl	Viscosität
8 ^h morgens in beiden Kolben	81,2	1,889
4 ^h abends im offenen Kolben	82,5	1,918
4 ^h abends im verschlossenen Kolben	82,3	1,917

Nach diesen Versuchen zu schließen, hat also die Verdunstung der bei 20° gehaltenen Milchprobe keinen wesentlichen Anteil an der beobachteten Zunahme der Viscosität gehabt.

Einfluß der Kühlung der Milch auf ihre Viscosität und Oberflächenspannung.

Gewisse Unregelmäßigkeiten in den Befunden für die Werte der Oberflächenspannung haben es uns nahe gelegt, den Aufbewahrungstemperaturen der Versuchsmilch besondere Beachtung zu schenken. Zunächst sollte ein und dieselbe Milch bei verschiedenen Temperaturen einige Zeit aufbewahrt und dann vergleichend geprüft werden.

Versuch 5.

1 l Milch der Kuh „Gais“ wurde unmittelbar nach dem Melken in drei Teile a, b und c geteilt, wie unten angegeben aufbewahrt und zu Anfang und Ende der Versuchszeit auf Viscosität und Oberflächenspannung untersucht. Die Untersuchungen selbst sind sämtlich bei 20° ausgeführt.

Zeit der Untersuchung	a. Im Wasserbad bei 20° aufgestellt	b. Im Kühlraum bei 10° aufgestellt	c. Zum Gefrieren gebracht
7 ^h morgens { Tropfenzahl Viscosität	81,3 1,847	— —	— —
4—6 ^h nachmittags { Tropfenzahl Viscosität	83,2 1,896	87,2 1,898	85,8 1,888

Ganz ähnliche Resultate ergab der folgende

Versuch 6.

Zeit der Untersuchung	a. Im Wasserbad bei 20° aufgestellt	b. Im Kühlraum bei 10° aufgestellt	c. Zum Gefrieren gebracht
7 ^h morgens { Tropfenzahl Viscosität	81,3 1,852	— —	— —
4—6 ^{1/2} h nachmittags { Tropfenzahl Viscosität	82,6 1,900	87,0 1,907	86,8 1,906

Diese Versuche bestätigen zunächst für die Aufbewahrungstemperatur von 20° die schon früher erwähnte merkliche Abnahme der Oberflächenspannung einerseits, die geringe, aber doch deutliche Zunahme der Viscosität andererseits. In die Augen springend ist nun aber die ganz beträchtliche Zunahme der Tropfenzahl, also Abnahme der Oberflächenspannung bei Milch, die kühl gehalten war, während die Viscosität durch Kühlung anscheinend nicht wesentlich beeinflusst worden ist. Es mußte nun von Interesse sein, den zeitlichen Verlauf der betreffenden Änderung bei verschiedenen Temperaturen etwas näher zu verfolgen.

Versuch 7.

Die Morgenmilch der Kuh „Gais“ wurde kurz nach dem Melken untersucht, ein Teil der Probe zur Kontrolle bei 20° aufgestellt und die Hauptmenge in einem Gemisch von Schnee und Wasser den ganzen Tag gekühlt. Alle zwei Stunden wurde von der gekühlten Milch eine kleine Menge entnommen, auf 20° temperiert und untersucht.

Zeit der Untersuchung	Im Schmelzwasser gekühlt		Im Wasserbad bei 20° gehalten	
	Tropfenzahl	Viscosität	Tropfenzahl	Viscosität
7 ^h morgens	—	—	80,8	1,847
9 ^h „	86,4	1,859	—	—
11 ^h „	87,0	1,861	—	—
1 ^h nachmittags	86,8	1,871	—	—
3 ^h „	86,8	1,883	—	—
5 ^h „	86,8	1,877	—	—
7 ^h „	86,8	1,876	82,6	1,891

Bei ganz gleicher Anordnung und mit gleichem Ergebnis wurde auch die Morgenmilch einer Kuh „Nelli“ untersucht.

Zeit der Untersuchung	Im Schmelzwasser gekühlt		Im Wasserbad bei 20° gehalten	
	Tropfenzahl	Viscosität	Tropfenzahl	Viscosität
7 ^h morgens	—	—	82,0	2,019
9 ^h „	88,2	2,035	—	—
11 ^h „	89,5	2,041	—	—
1 ^h nachmittags	89,8	2,053	—	—
3 ^h „	—	—	—	—
5 ^h „	89,4	2,060	—	—
7 ^h „	89,0	2,070	83,2	2,087

Versuch 8.

In diesem Falle wurde die Milch von „Gais“ nicht im Schmelzwasser, sondern nur im fließenden Leitungswasser bei ungefähr 10° gekühlt.

Zeit der Untersuchung	Im Wasser von 10° aufbewahrt		Im Wasserbad bei 20° aufbewahrt	
	Tropfenzahl	Viscosität	Tropfenzahl	Viscosität
7 ^h morgens	—	—	81,2	1,880
9 ^h „	86,4	1,886	—	—
11 ^h „	86,8	1,890	—	—
1 ^h nachmittags	86,8	1,904	—	—
3 ^h „	86,6	1,905	—	—
5 ^h „	86,6	1,908	—	—
7 ^h „	86,8	1,923	83,0	1,915

Die Versuche 7 und 8 zeigen deutlich, daß die bedeutende Verminderung der Oberflächenspannung als Folge der Aufbewahrung der Versuchsmilch bei niedrigen Temperaturen nicht das Ergebnis eines langsam verlaufenden, auf die ganze Versuchsdauer sich erstreckenden Prozesses ist, sondern daß der Endwert, den wir nach 12 Stunden feststellen können, in annähernd derselben Größe schon nach zwei Stunden, vielleicht schon früher, erreicht ist. Bemerkenswert ist ferner, daß die Wirkung der Kühlung auf die Oberflächenspannung ungefähr dieselbe ist, ob wir als Kühltemperatur 0° oder 10° anwenden. Diese Tatsache geht nicht nur aus dem Vergleich von Versuch 7 und 8 hervor, sondern wurde noch durch besondere Versuchsreihen, die hier nicht aufgeführt sind, erhärtet. Was die Viscosität anbetrifft, so ist ein ähnlicher Einfluß als Folge der Milchkühlung nicht vorhanden. Ähnlich wie bei 20°, nimmt auch bei 10° und bei 0° die Ausflußzeit unbedeutend zu und zwar bei niedrigen Temperaturen durchschnittlich in etwas geringerem Maße als bei 20°.

Da wir vermuteten, daß durch die Kühlung ein eigentümlicher labiler Zustand der Milch geschaffen würde, der vielleicht durch nachträgliche längere Aufbewahrung der Proben bei 20° wieder rückgängig gemacht werden konnte, haben wir im folgenden Versuch, wie die Tabelle zeigt, eine anfängliche Kühlperiode mit einer nachfolgenden Erwärmungsperiode (20°) kombiniert.

Versuch 9.

Die Abendmilch der Kuh „Gais“ wurde in frischem Zustande untersucht und die Probe in verschiedene Portionen geteilt. Diese wurden verschieden lange gekühlt, bzw. ausgefroren und nachher bis am folgenden Morgen in das Wasserbad von 20° gestellt. Die Untersuchung wurde also erst an der mindestens 12 Stunden alten Milch vorgenommen.

Untersuchung kurz nach dem Melken:

Tropfenzahl	Viscosität
81,6	1,940

Untersuchung 12 Stunden später:

	Tropfenzahl	Viscosität
a) Die ganze Zeit bei 20° gehalten	83,0	1,986
b) 1 Std. bei 10° gekühlt, nachher bei 20° gehalten	88,0	1,972
c) 4 „ „ 10° „ „ 20° „	87,6	1,968
d) Ausgefroren und sofort „ „ 20° „	87,0	1,957
e) 4 Std. ausgefroren und „ „ 20° „	88,2	1,950

Die nachträgliche Aufstellung bei 20° hat somit die Wirkung der vorhergehenden, mehr oder weniger langen Kühlung nicht rückgängig gemacht. In einem folgenden ähnlichen Versuch wurde mit noch kürzeren Kühlperioden begonnen.

Versuch 10.

Untersuchung kurz nach dem Melken:

Tropfenzahl	Viscosität
81,0	1,942

Untersuchung 12 Stunden später:

	Tropfenzahl	Viscosität
a) Die ganze Zeit bei 20° gehalten	83,0	1,990
b) 1/4 Std. bei 10° gekühlt, nachher bei 20° gehalten	86,6	1,993
c) 1/2 „ „ 10° „ „ 20° „	88,0	2,005
d) 1 „ „ 10° „ „ 20° „	88,6	1,982
e) 4 „ „ 10° „ „ 20° „	90,2	1,980
f) Ausgefroren und sofort „ „ 20° „	89,6	1,983
g) 4 Std. ausgefroren und „ „ 20° „	89,8	1,975

Wie besonders aus dem Versuch 10 hervorgeht, genügt schon eine sehr mäßige Kühlung der Milch (1/4 Stunde bei 10°), um die Oberflächenspannung merklich herabzusetzen; um aber den überhaupt möglichen Grenzwert zu erreichen, muß die genannte Temperatur immerhin 1/2 bis 1 Stunde wirken.

Von Interesse schien es uns ferner, zu untersuchen, ob das Verweilen der Milch bei Körperwärme, also in dem Zustande,

wie er unmittelbar nach dem Melken besteht, an den bisher ermittelten Verhältnissen etwas ändern könne. Von mehreren diesbezüglichen Versuchen sei der folgende

Versuch 11

erwähnt. Selbstverständlich wurden für die höhere Temperatur nur Zeiten gewählt, in denen eine sekundäre Beeinflussung der Viscositäts- und Oberflächenspannungswerte durch Bakterientätigkeit ausgeschlossen erscheinen mußte.

Die Abendmilch der Kuh „Gais“ wurde wie gewöhnlich frisch untersucht, die entnommene Probe in 2 Teile a und b geteilt und der eine davon 1 Stunde lang, der andere 2 Stunden lang im Wasserbade von 37° gelassen. Nachher wurde die gut umgeschüttelte Milch von a und b auf je 3 Fläschchen I, II und III verteilt. Je eines von diesen wurde durch eine Mischung von Schnee und Salz zum Gefrieren gebracht, je ein zweites in fließendes Wasser von 10° gestellt und das dritte in einem Wasserbade von 20° gehalten. Die 3 Fläschchenpaare verblieben dann bei den betreffenden Temperaturen bis zum folgenden Morgen. Zur Kontrolle wurde auch eine Probe der ursprünglichen Milch dauernd bei 20° gehalten, hatte also weder unter dem Einflusse einer längeren Einwirkung der Blutwärme, noch unter dem einer eigentlichen Kühlung gestanden.

Untersuchung kurz nach dem Melken:

Tropfenzahl	Viscosität
80,8	1,914

Untersuchung 12 Stunden später:

Probe a: anfänglich 1 Std. bei 37° gehalten, dann

	I	II	III
	ausgefroren	im fließenden Wasser von 10° C	im Wasserbade von 20° C
Tropfenzahl:	87,4	86,2	83,0
Viscosität:	1,943	1,963	1,965

Probe b: anfänglich 2 Std. bei 37° gehalten, dann

	I	II	III
	ausgefroren	im fließenden Wasser von 10° C	im Wasserbade von 20° C
Tropfenzahl:	87,4	87,8	83,0
Viscosität:	1,941	1,957	1,965

Kontrollprobe: dauernd bei 20° gehalten:

Tropfenzahl	83,2
Viscosität	1,974

Der Umstand, daß die Milch vor der Kühlung 1 oder 2 Stunden bei Körperwärme gehalten wurde, ist somit ohne nachweisbaren Einfluß auf die durch die Kühlung hervorgerufene Depression der Oberflächenspannung geblieben. Diese Tatsache im Zusammenhange mit der früher hervorgehobenen, daß nach der Kühlung vorgenommenes mehrstündiges Erwärmen auf 20° ebenfalls ohne merkbaren Einfluß blieb, macht es äußerst wahrscheinlich, daß es zur Erzielung der fraglichen Depression der Oberflächenspannung nur darauf ankommt, daß überhaupt gekühlt wird, und daß es belanglos ist, ob vor oder nach oder vor und nach der Kühlungsperiode eine Erwärmungsperiode zur Wirkung gelangt, wenn nur die Kühlung ein gewisses Maß erreicht, das etwa der halbstündigen Einwirkung einer Temperatur von 10° C entspricht. An dieser Stelle sei übrigens erwähnt, daß wir in besonderen Versuchen nach vorausgegangener Kühlung die Milch 1 und 2 Stunden bei Körperwärme hielten, ohne daß die infolge der Kühlung hoch gestiegenen Tropfenzahlen beeinflußt wurden.

Versuch 12.

Bei diesem Versuche wurden zwischen Wärmeperioden (20°) Kühlperioden (10°) von verschieden langer Dauer eingeschaltet und die dabei erhaltenen Werte mit jenen bei durchgehender Erwärmung und durchgehender Kühlung in Vergleich gestellt. Versuchsdauer 8 Uhr morgens bis 4 Uhr nachmittags.

Untersuchung kurz nach dem Melken:

Tropfenzahl	Viscosität
82,0	1,929

Untersuchung 8 Stunden später:

	Tropfenzahl	Viscosität
Von 10 ⁴⁵ bis 11 ¹⁵ bei 10° gekühlt	87,2	1,949
„ 12 ⁰⁰ „ 2 ⁰⁰ „ „ „	86,8	1,944
„ 8 ⁰⁰ „ 4 ⁰⁰ „ „ „	86,8	1,958
„ 8 ⁰⁰ „ 4 ³⁰ „ 20° gewärmt	83,0	1,958

Dieses Ergebnis entspricht ganz dem, was oben gesagt wurde und bedarf keiner weiteren Erörterung. Im gleichen Sinne sind auch weitere, hier nicht mitgeteilte Versuche ausgefallen.

Nachdem die bisherigen Versuche sozusagen ausschließlich mit der Milch einer bestimmten Kuh ausgeführt worden waren,

schien es wünschenswert, die Gültigkeit der Ergebnisse auch für sog. Mischmilch, d. h. für das gemischte Gemelk einer größeren Zahl von Kühen darzutun. Die diesbezüglichen Versuche haben der Erwartung vollkommen entsprochen. Als Beispiel sei das folgende herausgegriffen.

Versuch 13.

Eine Probe einer Mischmilch von 40 Kühen wurde in zwei Portionen geteilt und davon die eine im Wasserbade von 20°, die andere im fließenden Wasser von 10° von morgens 8 Uhr bis abends 5 Uhr aufbewahrt. In den in der Tabelle angegebenen Zeiten wurden Oberflächenspannungs- und Viscositätsbestimmungen ausgeführt.

Zeit der Untersuchung	Bei 20° aufbewahrt		Bei 10° aufbewahrt	
	Tropfenzahl	Viscosität	Tropfenzahl	Viscosität
8 ^h morgens	83,4	1,861	—	—
11 ^h „	83,8	1,883	89,0	1,893
2 ^h nachm.	84,4	1,903	89,6	1,896
5 ^h „	84,8	1,910	89,8	1,911

Ein Blick auf diese Tabelle läßt ohne weiteres eine Übereinstimmung mit den Erscheinungen erkennen, die uns bezüglich des Einflusses der Kühlung der Milch auf die Oberflächenspannung und Viscosität schon bei den ersten Versuchen entgegengetreten sind und die wir zusammenfassend in folgenden Schlußsätzen niederlegen möchten.

Zusammenfassung.

1. Normale Kuhmilch erleidet, sich selbst überlassen, in den ersten 12 Stunden nach dem Melken, also zu einer Zeit, in der eine wesentliche chemische Veränderung durch Bakterienwirkung als ausgeschlossen gelten kann, eine merkbare Abnahme der Oberflächenspannung und eine geringe aber deutliche Zunahme der Viscosität.

2. Die Abkühlung der Milch äußert sich nicht in gleicher Weise auf Oberflächenspannung und Viscosität. Während bei einer Milch, deren Temperatur nicht unter 20° sinkt, die Oberflächenspannung nur in bescheidenem Maße zurückgeht, genügt schon die halbstündige Einwirkung einer Temperatur von 10°,

um eine auffallend kräftige Depression zu erzeugen. Die Oberflächenspannung erreicht unter diesen Verhältnissen einen minimalen Grenzwert, wie er auch nach Kühlung der Milch auf 0° oder nach eigentlichem Gefrieren der Milch festgestellt werden kann. Im Gegensatz zu dieser großen Empfindlichkeit der Oberflächenspannung gegenüber geringfügigen Kühlwirkungen zeigen die Viscositätswerte keine deutliche Abhängigkeit von einer stattgefundenen kürzeren oder längeren Kühlung der Milch.

3. Die infolge einer genügenden Kühlung der Milch aufgetretene Eigentümlichkeit der letzteren, einen gegenüber frisch gemolkener Milch bedeutend verminderten Wert für die Oberflächenspannung aufzuweisen, ist durch nachträgliches Erwärmen der Milch auf Temperaturen bis zu 37° nicht rückgängig zu machen. Es gehen somit gewisse Bestandteile der Milch unter dem Einfluß der Kühlung von einem labilen in einen stabilen Zustand über.

Schlußbemerkungen: Der im vorliegenden behandelte eigentümliche Zusammenhang zwischen der Oberflächenspannung einer Milchprobe und ihrer Aufbewahrungstemperatur muß selbstverständlich berücksichtigt werden, soweit überhaupt Oberflächenspannungsbestimmungen bei Milch zur Anwendung kommen. Da man vielfach über die Vorbehandlung einer zu Versuchszwecken dienenden Milch nicht unterrichtet ist, empfiehlt es sich, Messungen nur vorzunehmen, nachdem man die Milch während einer Stunde auf ungefähr 10° gekühlt und so den stabilen Zustand hervorgerufen hat, der einen minimalen Grenzwert der Oberflächenspannung bedingt. Selbstverständlich hat die hier behandelte Erscheinung auch ihre praktische Seite, indem durch eine Oberflächenspannungsbestimmung vor und nach der 1stündigen Kühlung auf einfache Weise ermittelt werden kann, ob die Milch schon vorher gekühlt war oder nicht. Im ersten Falle werden die beiden erhaltenen Werte ungefähr zusammenfallen, im letzteren Falle wird eine charakteristische Differenz auftreten.

Bei dieser Gelegenheit möchten wir unserer Meinung dahin Ausdruck geben, daß für praktische, bzw. klinische und molkereitechnische Zwecke das Stalagmometer als einfacher und zuverlässiger Apparat für Oberflächenspannungs- und Viscositätsbestimmungen vorzügliche Dienste leisten kann.

Was die Ursache betrifft, welche der hier im Vordergrund stehenden Erscheinung zugrunde liegt, so dürfte es sehr wahrscheinlich sein, daß der beim Abkühlen der Milch erfolgende Übergang der Fettkügelchen vom flüssigen in den festen Zustand das ausschlaggebende Moment darstellt. W. Fleischmann¹⁾ hat vor nicht langer Zeit an Hand von Bestimmungen der spezifischen Wärme der Milch den Schluß abgeleitet,

¹⁾ W. Fleischmann, Journ. f. Landwirtschaft. 50, 33, 1902.

daß beim Aufbewahren der Milch bei gewöhnlichen Wärmegraden (12 bis 20°) ein proportional der Zeit sich vergrößernder Teil des Fettes der Fettkügelchen erstarrt. Fleischmann (l. c. S. 69) sagt: „Weiter ist es wahrscheinlich, daß das Fett nicht mit der Hartnäckigkeit, die man übrigens bei der überaus feinen Verteilung erwarten sollte, auch bei Wärmegraden zwischen 0 und 30° im flüssigen Zustande verharrt, sondern daß es bei diesen Wärmegraden leicht fest wird, um so leichter, je tiefer die Temperaturen sind.“

Welche weiteren physikalischen Vorgänge nun die Zustandsänderung des Fettes in der Milch begleiten, bleibt noch aufzuklären. Vermutlich spielen sich die Prozesse, welche die bedeutende Herabsetzung der Oberflächenspannung im Gefolge haben, in den Grenzflächen zwischen Fettkügelchen und umgebender Flüssigkeit ab. Vielleicht gelingt es, künstlich ein Dispersoid herzustellen, das als Modell des komplizierten Systems, wie es durch die Milch dargestellt wird, dienen kann und die in Frage stehende Oberflächenspannungsänderung einer Flüssigkeit durch Überführung eines in letzterer enthaltenen Emulsoids in ein Suspensoid nachzuahmen gestattet.

Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen.

VI. Mitteilung.

Die elektrolytische Reduktion des Traubenzuckers.

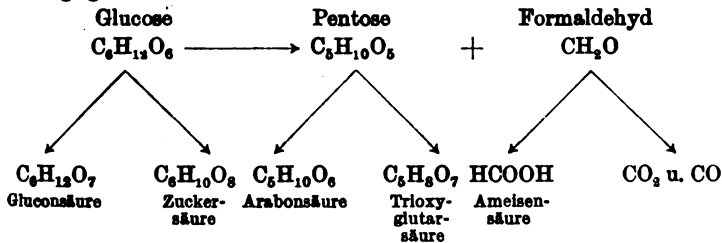
Von

Walther Löb.

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses
in Berlin.)

(Eingegangen am 29. August 1909.)

In der Mitteilung „Die Elektrolyse des Traubenzuckers“
(Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen, III¹⁾) habe ich für die an
einer Bleianode auftretenden Oxydationsvorgänge folgende Auf-
fassung gewählt:



Als primären Prozeß betrachtete ich also den Zerfall des
Traubenzuckers, als sekundären die Oxydation zu den Säuren.

Es lag nahe, anzunehmen, daß das Auftreten einer Pentose
und des Formaldehyds einem Oxydationsvorgang zuzuschreiben
ist. Für die von mir bereits entwickelten Anschauungen über
die Umkehrbarkeit der Zuckersynthese²⁾ aus Formaldehyd und
für die in der nächsten Mitteilung begründeten theoretischen
Vorstellungen war es mir wesentlich, direkt experimentell nach-
zuweisen, daß die oxydativen Vorgänge an der Anode lediglich

¹⁾ Diese Zeitschr. 17, 132, 1909.

²⁾ Diese Zeitschr. 20, 516, 1909.

ein zwischen Zucker und seinen Spaltprodukten $C_5H_{10}O_5$ und CH_2O bestehendes Gleichgewicht stören und dadurch eine Anreicherung an Pentose und Formaldehyd veranlassen, die natürlich teilweise, ebenso wie der Traubenzucker, dem Angriff des Sauerstoffs unterliegen. Bei den Versuchen über die Elektrolyse der Glucose war der Anodenraum von dem Kathodenraum, der nur verdünnte Schwefelsäure enthielt, getrennt. Ich beschloß deshalb, die Verhältnisse umzukehren und zu prüfen, ob nicht bei der kathodischen Behandlung des Zuckers der Wasserstoff, ebenso wie vorher der Sauerstoff, als Störer dieses Gleichgewichtes fungieren und eine Anreicherung an Pentose und Formaldehyd veranlassen könne. Die Versuche gaben ein sicheres, positives Resultat.

Die elektrolytische Reduktion des Traubenzuckers in verdünnter Schwefelsäure unter Anwendung eines Diaphragmas führt nach den Angaben von O'Brien Gunn¹⁾ relativ glatt zu Mannit. Wenn auch Pentose — Formaldehyd ist äußerst schwer reduzierbar — dem Angriff des Wasserstoffs ausgesetzt wurde, so war bei ihrer geringen Konzentration vorauszusehen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen ihr und Wasserstoff weit hinter der zwischen letzterem und Traubenzucker zurückbleiben würde, so daß trotz des Fehlens irgendwelcher Beobachtungen nach dieser Richtung hin ein Erfolg, Pentose und Formaldehyd zu fassen, nicht ausgeschlossen schien.

Ich führte die Elektrolyse in folgender Weise aus:

20 g Traubenzucker, in 100 com 5% iger Schwefelsäure gelöst, wurden in einen sorgfältig gereinigten Thonzylinder gebracht, der durch einen dreifach durchbohrten Gummistopfen verschlossen wurde. Die Lösungsverhältnisse waren also die gleichen wie bei der elektrolytischen Oxydation des Zuckers. Durch zwei Durchbohrungen wurde die Kathode, eine dauernd von kaltem Wasser durchströmte Bleischlange mit etwa 20 qcm wirksamer Oberfläche, geführt. Sie war sorgfältig nach Tafels²⁾ Vorschrift präpariert. Besonderer Wert ist darauf zu legen, daß die Oberfläche vor Beginn des Versuches keine Spur Bleioxyd oder Bleisuperoxyd enthält. Man erreicht dies leicht durch längere kathodische Polarisation in reiner verdünnter Schwefelsäure unmittelbar vor dem Versuch. Der Thonzylinder wurde in ein weiteres Glasgefäß mit 5% iger Schwefelsäure gestellt, das die Platinanode aufnahm. Die Stromstärke betrug 1 Amp., die Spannung 4 bis 5 Volt, die Dauer 20 bis 24 Stunden.

¹⁾ D. R. P. Nr. 140318 (23. V. 1900).

²⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. **34**, 187, 1900.

Die wasserklare Lösung, die einen eigenartigen, ganz schwach an Acrolein erinnernden Geruch besaß, wurde in der Kälte mit Calciumcarbonat neutralisiert und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das neutrale Destillat zeigt alle Formaldehydreaktionen schwach, aber deutlich ausgeprägt. Der Gehalt wurde jodometrisch ermittelt. Er ist weit geringer als bei der elektrolytischen Oxydation und betrug in drei unter den angegebenen Bedingungen ausgeführten Versuchen 0,0097 g, 0,0027 g und 0,005 g Formaldehyd. Ein Teil des Destillates, mit Benzoylchlorid auf Alkohol untersucht, gab ein negatives Resultat.

Der Destillationsrückstand, Kalksalze, Zucker und Mannit enthaltend, wurde im Vakuum zur Trockene gebracht. Die nur in äußerst geringer Menge vorhandenen Calciumsalze, hauptsächlich Calciumsulfat, blieben bei dem Auskochen mit Alkohol ungelöst zurück. Das nach dem Filtrieren der Lösung und dem Verdunsten des Alkohols zurückbleibende Gemisch von Zucker und Mannit (9,5 g, 10,7 g, 10,9 g in den drei erwähnten Versuchen) wurde in verschiedener Weise bearbeitet.

Zur Prüfung auf die Gegenwart von Pentose ließ ich die wässrige Lösung des alkoholischen Extraktes mit Hefe vergären. Nach Filtration und Behandlung mit kolloidaler Eisenlösung zur Entfernung von aus der Hefe stammenden Eiweiß bzw. Albumosen und abermaliger Filtration trat die Bialsche Pentosenreaktion mit aller Schärfe auf. Durch Phenylhydrazinacetat fiel nach kurzem Stehen auf dem Wasserbad ein in heißem Wasser leicht lösliches Osazon aus, das nach der Krystallisation bei 169° unter Zersetzung schmolz. Nach nochmaliger Krystallisation stieg der Schmelzpunkt auf 170 bis 172°. Derselbe stimmt, ebenso wie das mikroskopische Bild, mit Schmelzpunkt und Aussehen des bei der elektrischen Oxydation erhältlichen Pentosazons, das zum Vergleich besonders dargestellt wurde, überein. Die Menge der Pentose wurde mittels der Tollensschen Furfuroldestillation aus dem erhältlichen Phloroglucoid als Arabinose berechnet. Die Ausbeuten betragen in den drei erwähnten Versuchen 0,15 g, 0,17 g, 0,17 g. Die Prüfung auf Dioxyceton mit Methylphenylhydrazin fiel negativ aus.

Vor kurzem hat Neuberg¹⁾ die Elektrolyse der d-Glucose in rein wässriger Lösung ausgeführt und das Auftreten von Formaldehyd nicht beobachtet. Da in seiner Anordnung ohne Diaphragma oxydierende und reduzierende Einflüsse sich geltend machen, beide aber der Bildung von Formaldehyd günstig sind, so wiederholte ich den Versuch in der von Neuberg gegebenen Anordnung. Nach 18 Stunden wurde der Versuch abgebrochen, die Flüssigkeit mit Calciumcarbonat neutralisiert und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat zeigte alle Formaldehydreaktionen ausgeprägt. Die Menge wurde nicht festgestellt.

Aus den geschilderten Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß die Zuckerspaltung in Formaldehyd und Pentose in saurer Lösung auch unter dem Einfluß des reduzierenden Wasserstoffs stattfindet.

¹⁾ Diese Zeitschr. 17, 288, 1909.

Über das Vorhandensein der Pentosen im Harn des Menschen und der Tiere.

Über die Ausnützung der Pentosen im tierischen Organismus.

Von

Luigi Cominotti.

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Physiologie der kgl. tierärztlichen Hochschule in Mailand.)

(Eingegangen am 1. September 1909.)

Auf den hohen Pentosengehalt der Vegetabilien haben Tollens, Schulze, Menozzi und Appiani die Aufmerksamkeit gelenkt.

Den Befunden Menozzis und Appianis über unsere Futterarten können wir jene Scurtis und De Platos¹⁾ hinzufügen, welche für die süditalienischen Heusorten unter 54 geprüften Mustern durchschnittlich einen Pentosanengehalt von 15,19% festgestellt haben. Nach diesen Resultaten nehmen die grasfressenden Tiere mit ihrer täglichen Nahrung eine große Quantität von Pentosanen zu sich, und es erhebt sich sofort die doppelte Frage, ob und in welchem Maße die Pentosane der Nahrung im Magendarmkanal resorbiert und vom Organismus ausgenutzt werden.

Stone und Jones²⁾ fanden diesbezüglich bei Schafen eine Resorption der Heupentosane zwischen 44 und 71%.

Jones³⁾, welcher Kaninchen mit Weizenkleie und Kornmehl fütterte, fand, daß diese Tiere die im Futter enthaltenen Pentosane zu 58,93 bis 82,48% resorbierten.

¹⁾ Stazioni sperimentali Agrarie italiane 41, 333, 1908.

²⁾ Centralbl. f. Agriculturchemie 1893, 777; nach *Agricultur. Science*, 7, 6, 1893.

³⁾ Chem. Centralbl. 1892, 566; nach *American Chem. Journ.* 14.

Weiske¹⁾ fand bei Ziegenböcken und Kaninchen bei Heu- und Haferfütterung eine Resorption der Pentosane zu 65%, und bei letzteren von 53,8%.

Verwickelter war die Frage bezüglich des Verhaltens der Pentosen im Organismus; die Resultate, zu welchen die verschiedenen Forscher gelangt sind, stimmen nicht überein. Nach Ebstein²⁾ verwertet der menschliche Organismus diese Zuckersorten gar nicht. Nach Genuß von 25 Gramm Arabinose oder Xylose soll der gesamte eingenommene Zucker unverändert ausgeschieden werden. Aber spätere Forschungen führten zur Annahme, daß die Pentosen zur Bildung von Glykogen beitragen.

Salkowski³⁾ hat bei Kaninchen konstatieren können, daß die Pentosen direkt oder indirekt die Entstehung von Glykogen veranlassen. Cremer⁴⁾ hat festgestellt, daß Arabinose, Xylose und Rhamnose Glykogenbildung nicht nur bei den Kaninchen und Schafen, sondern auch beim Menschen bewirken, so daß er zu einer Schlußfolgerung gelangt, welche jener Ebsteins gerade entgegengesetzt ist.

Hingegen bekämpfte Frenzel⁵⁾ diese Resultate Cremers, indem er Ebstein zustimmte, daß die Pentosen im Organismus kein Glykogen liefern. Weitere Versuche über die Ausnützung von Pentosen haben Neuberg und Wohlgemuth⁶⁾ mit den verschiedenen Raumformen der Arabinosen angestellt.

Nach dem Gesagten ist es klar, daß die Frage nach der Bedeutung der Pentosen für die Ernährung noch unerledigt ist. Deshalb schien es mir, daß eine Untersuchung auf Pentosen im Urin unserer großen Haustiere, welche wegen der Qualität ihrer Nahrung täglich ein großes Quantum resorbierbarer Pentosane zu sich nehmen, vielleicht einen nützlichen Hinweis auf das Verhalten der Pentosen im Organismus ergeben könnte. Wenn die resorbierbaren Pentosen so wie Pentosane vom Organismus nicht verwertet würden, so müßten sie sämtlich oder nahezu vollständig im Harn wieder auftreten.

Salkowski und Jastrowitz⁷⁾ waren die ersten, welche im Harn des Menschen Pentosen auffanden; sie erkannten diese Ausscheidung als eine pathologische Erscheinung, welche sie Pentosurie nannten. Mit dieser Pentosurie als Stoffwechsel-

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 489, 1895.

2) Centralbl. f. med. Wiss. 1893, 577.

3) Centralbl. f. med. Wiss. 1893, 193.

4) Zeitschr. f. Biol. 24, 484.

5) Arch. f. d. ges. Physiol. 56, 273.

6) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1745, 1909.

7) Centralbl. f. med. Wiss. 1892, 337.

anomalie hat sich weiter Neuberger¹⁾ beschäftigt. Pentosurie bei einem Fall von Cocainismus ist in der Folge von Luzzatto²⁾ genauer studiert worden; dieser Verfasser hat auch die Natur der Pentose in seinem Falle festgestellt.

Eine kürzlich erschienene Arbeit Funaros³⁾ sucht das ständige Vorhandensein von Pentosen im Harn des gesunden Menschen zu beweisen. Aber Funaro hat sich nur auf eine einfache qualitative Reaktion beschränkt, welche überdies nicht immer deutlich ist, und seine Schlußfolgerung bedarf daher einer Bestätigung.

Infolge dieser Resultate beim Menschen habe ich es für angezeigt gefunden, eine Fehndung auf Pentosen nicht nur im Harn unserer großen Haustiere, sondern auch in jenem des Menschen, des Hundes, der Schweine und der Schafe, also bei Fleischfressern, Grasfressern und Omnivoren vorzunehmen. Für meinen Zweck war natürlich eine bloße qualitative Feststellung nicht genügend; ich war daher gezwungen, eine Methode zu wählen, welche die quantitative Analyse der im Harn befindlichen Pentosen ermöglichte. Die beste Methode erschien mir das in geeigneter Weise abgeänderte Verfahren von Tollens zu sein, weil die Phloroglucidmethode geeignet ist, auch minimale Quantitäten Pentosen festzustellen.

Es ist bekannt, daß im Harn, besonders in jenem der grasfressenden Tiere Glucuronsäure enthalten ist, welche gleich den Pentosen die Eigenschaft besitzt, bei der Destillation Salzsäure-Furfurol zu bilden. In unserem Falle war es daher nötig, vor der Bestimmung der Pentosen die Glucuronsäure aus dem Harn zu entfernen. Zu diesem Behufe wurde ein von Salkowski und Neuberger⁴⁾ benutztes Verfahren angewandt, welches auf einer Fällung mit Bleizucker, Filtration, Erwärmung und erneuter Fällung mit Bleisubacetat beruht. Auf diese Weise wird die Glucuronsäure in Form von unlöslichem basischem Bleiglukurinat abgetrennt, während die Pentosen

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2395, 1899.

²⁾ a) Festschr. f. P. Albertoni, 1901, S. 27; b) Archivio di Farmacologia sperim. e Scienze affini 1, 1902; c) Zeitschr. f. d. ges. Biochem. 6, Heft 1/2, 87, 1902.

³⁾ Archivio di Farmacologia sperim. e Scienze affini 6, 401, 1907.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 264, 1902.

in das Filtrat übergehen. Aus diesem entfernt man dann das Übermaß an Blei vermittels Schwefelwasserstoff und durch Erwärmen des Filtrates in einem Wasserbade entfernt man das Übermaß von H_2S , wobei die Flüssigkeit auf das gewünschte Volumen eingengt wird.

Nach dieser Behandlung des Filtrates überzeugte ich mich, ob keine Glucuronsäure mehr darin enthalten war. Zu diesem Behufe habe ich 5 Liter Rinderharn auf dem Wasserbade auf 500 ccm konzentriert und dann zuerst kalt mit Bleizucker und dann warm mit Bleisubacetat gefällt; dann habe ich das erhaltene Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von überschüssigem Blei befreit und in der Wärme den Überschuß von H_2S entfernt. Die Prüfung auf Glucuronsäure in dem Filtrate verlief negativ. Der durch normales Bleiacetat erhaltene Niederschlag wurde nach den Angaben von P. Mayer und Neuberg¹⁾ behandelt, und es gelang mir, die Glucuronsäure als Bromphenylhydrazinverbindung abzuscheiden.

Das nach Anwendung der Methode von Salkowski und Neuberg erhaltene Filtrat wurde auf dem Wasserbade eingengt und dann nach Tollens mit Salzsäure destilliert. Zur Destillation ist niemals ein kleineres Quantum als 100 ccm des Filtrats verwendet worden. Wenn etwa die Hälfte der Flüssigkeit destilliert war, wurde ein der ursprünglichen Lösung gleiches Quantum verdünnter Salzsäure ($D=1060$) zugefügt und die Destillation wieder fortgesetzt. Diese neue Zugabe von Säure war notwendig, weil das Furfurol erst im Verlaufe dieser zweiten Destillation im Destillate allmählich verschwand.

Weiter wurde festgestellt, daß, wenn zu einem gewissen Zeitpunkt der Destillation eine weitere Menge Säure hinzugefügt wurde, diese die Reaktion begünstigte und gewissermaßen beschleunigte. Beim wiederholten Prüfen des Destillates habe ich bemerkt, daß die intensivste, durch die bekannten Färbungen mit Orcin, Phloroglucin, Anilin- sowie Xylidinacetat ersichtlich gemachte Reaktion nach dem erneuten Zusatz von HCl stattfand. Sobald die obenerwähnten Reaktionen mit dem Destillate gänzlich ausblieben, habe ich natürlich zu destillieren aufgehört. Grund²⁾ rät, das Destillat zu filtrieren, bevor man

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 256, 1900.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 111, 1902.

das Phloroglucin zugibt, um die Bildung eines Häutchens an der Oberfläche der Flüssigkeit zu vermeiden; diesen Umstand habe auch ich Gelegenheit gehabt, wahrzunehmen; deshalb wurde das Destillat vor Zusatz des Phloroglucins filtriert. Das Phloroglucin war in einigen Kubikzentimetern Salzsäure aufgelöst. Die Flüssigkeit nahm mehr oder weniger rasch eine citronengelbe Färbung an, welche allmählich dunkler wurde, bis sie eine braungrüne Farbe aufwies. Die Intensität der Färbung und die Geschwindigkeit des Überganges von der einen zur anderen, stand immer im Verhältnis zu der im Destillat enthaltenen Quantität von Furfurol und somit zu der im Harn enthaltenen Menge Pentosen.

Wie bereits erwähnt, wurde die Flüssigkeit 24 Stunden stehen gelassen und das ausgefallene Phloroglucid dann gesammelt, getrocknet und gewogen.

Ich habe diese Methode durch einen Versuch mit reiner Arabinose kontrolliert. Ich destillierte 0,10 g Arabinose mit HCl ($D = 1,12$), und als das Destillat 30 ccm erreicht hatte, ließ ich in den Destillationskolben weitere 30 ccm HCl vom selben spez. Gewicht einfließen. Ich erhielt bei einer Probe 0,086 g Phloroglucid, bei einer zweiten Probe 0,096 g Phloroglucid.

Wenn man daraus die Arabinose nach den Tabellen Kröbers berechnet, so findet man

bei der ersten Probe 0,1007 g Arabinose,
 „ „ zweiten „ 0,1051 g „

Dies Resultat beweist nicht nur die Zuverlässigkeit der Methode, sondern zeigt auch, daß man, ohne Verluste zu befürchten, den Phloroglucidniederschlag auf einem schwedischen Filter sammeln kann, ohne zu dem von Tollens vorgeschriebenen Asbestfilter Zuflucht zu nehmen.

Nachdem Schöndorff¹⁾ gezeigt hat, daß im Harn des Menschen stets kleine Quantitäten Zucker vorhanden sind, habe ich geprüft, ob sich bei der Destillation des Harns mit HCl aus den kleinen Quantitäten Glucose, welche im Harn enthalten sein könnte, Furfurol bilden kann. Gleich anderen Autoren habe ich mich überzeugt, daß aus solchen geringen Mengen Traubenzucker keine nachweisbare Menge Furfurol entsteht.

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 121, 572, 1908.

Tabelle I.

Gattung d. Tieres, von welchem der Harn stammte	Quantität des bei der Feststel- lung der Pentosen angewend. Harnes	Im analys. Harn vor- gefundene Phloro- glucid- menge in g	In 1000 ccm Harn gefunden:			
			Phloro- glucid in g	Fur- furof in g	Pen- tosen in g	Pento- sane in g
Pferd 1	500	0,0150	0,0300	0,0182	0,0358	0,0315
" 2	500	0,0155	0,0310	0,0188	0,0368	0,0324
" 3	500	0,0640	0,1080	0,0588	0,1143	0,1006
" 4	500	0,0476	0,0952	0,0520	0,1012	0,0891
" 5	500	0,0298	0,0596	0,0333	0,0650	0,0573
Durchschnitt			0,0648	0,0362	0,0706	0,0622
Rind 1 (Stier)	300	0,153	0,5100	0,2664	0,5141	0,4545 ¹⁾
" 2 (Kuh)	350	0,021	0,0600	0,0338	0,0660	0,0581
" 3 "	500	0,032	0,0640	0,0359	0,0700	0,0617
" 4 "	500	0,040	0,0800	0,0442	0,0861	0,0758
" 5 (Kalb)	500	0,043	0,0860	0,0474	0,0922	0,0812
" 6 "	500	0,028	0,0660	0,0318	0,0620	0,0546
" 7 "	500	0,036	0,0720	0,0401	0,0781	0,0688
" 8 "	500	0,032	0,0620	0,0359	0,0700	0,0617
Durchschnitt ²⁾			0,0688	0,0384	0,0749	0,0666
Schaf 1	135	0,0020	0,0590	0,0333	0,0650	0,0573
" 2	80	0,0038	0,0480	0,0276	0,0539	0,0475
" 3	123	0,0070	0,0570	0,0323	0,0620	0,0564
" 4	160	0,0100	0,0620	0,0349	0,0680	0,0599
Durchschnitt			0,0605	0,0320	0,0622	0,0563
Schwein 1	265	0,0667	0,2520	0,1333	0,2582	0,2272 ³⁾
" 2	370	0,0470	0,1270	0,0686	0,1334	0,1174
" 3	425	0,0430	0,1000	0,0546	0,1063	0,0935
" 4	296	0,0315	0,1060	0,0577	0,1123	0,0988
" 5 ⁴⁾	285	0,0175	0,0610	0,0344	0,0670	0,0590
Durchschnitt ⁵⁾			0,0985	0,0538	0,1047	0,0922

¹⁾ Das nach Fällung mit normalem Bleiacetat und Bleisubacetat erhaltene Harnfiltrat gab eine intensive Farbenreaktionen auf Pentosen. Ich habe die Feststellung der Pentosen im Harn dieses Tieres nicht wiederholen können und kann daher nicht sagen, ob diese starke Ausscheidung von Pentosen mit dem Harn zufällig war, oder ob es sich um eine mit der beim Menschen beschriebenen, analogen wirklichen Pentosurie gehandelt hat. — ²⁾ Bei der Durchschnittsberechnung habe ich die Werte der im Stierharn gefundenen Pentosen nicht berücksichtigt, da sie sehr hoch waren und den Zweifel aufkommen ließen, ob man es mit einer anomalen Elimination von Pentosen durch den Harn zu tun habe. — ³⁾ Intensive Farbenreaktionen auf Pentosen schon im Filtrate nach Fällung mit Bleizucker und Bleisubacetat. — ⁴⁾ Die Schweine waren während der Mästung fast ausschließlich mit vegetabilischen Substanzen und besonders mit Klumpenlein, welcher nach der Analyse von Menozzi und Appiani sehr reich an Pentosanen ist, gefüttert worden. — ⁵⁾ Bei der Durchschnittsberechnung habe ich die beim ersten Schweine erhaltenen Werte aus den früher angegebenen Gründen weggelassen.

Die Quantitäten von Furfurol, Pentosen und Pentosanen sind mit Hilfe der Tabellen Kröbers berechnet worden.

Es sei darauf aufmerksam gemacht, daß mehrere Male in dem nach Salkowski und Neuberg vorbehandelten Filtrat die Farbenreaktionen der Pentosen ganz oder beinahe fehlten, während bei der späteren Destillation mit Salzsäure das Destillat starke Reaktionen zeigte und mit Phloroglucin beim Stehen nicht unbeträchtlich Phloroglucid lieferte, welches gesammelt und gewogen werden konnte.

Dieser Befund ist insofern bemerkenswert, als er die Annahme bestärkt, daß sich im Harn die Pentosen gebunden, und zwar als Ureide vorfinden können, und daß bei der Destillation mit HCl die Verbindung zerfällt und eine Entstehung von Furfurol stattfindet.¹⁾

Dem Filtrat ist ein gleiches Volumen von HCl von der Dichte = 1,12 zugefügt worden, weil bei Zusatz von HCl vom spez. Gewicht 1,06 die Mischung ein bedeutend geringeres spez. Gewicht als 1,06 angenommen hätte, welches von allen Autoren als erforderlich bezeichnet wird.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß der geprüfte Harn Pentosen enthielt. Die Durchschnittsdaten zeigen, daß die Pentosenausscheidung bei den Schweinen am größten war; dann folgen Rind, Pferd und endlich das Schaf.

Bei den Schweinen schwankte die Pentosenmenge zwischen 0,0670 g und 0,1334 g für 1000 ccm Harn, doch fanden sich sogar beim ersten Schweine 0,2582 g in 1000 ccm vor, Schwer zu entscheiden ist, ob es sich um eine eventuelle Zunahme der Pentosen oder gar um eine wirkliche Pentosurie gehandelt hat, Ich konnte den Harn dieses Tieres nur ein einziges Mal prüfen, da es sich um Harn handelte, welcher gleich nach Schlachtung des Tieres aus der Blase entnommen war.

Bei den Rindern schwankte die Pentosenmenge zwischen 0,066 g und 0,0922 g für je 1000 ccm Harn; bei den Pferden zwischen 0,0358 und 0,1143 g ‰; bei den Schafen zwischen 0,0539 und 0,068 im Liter.

Es war noch festzustellen, ob bei diesen Tieren die Aus-

¹⁾ Siehe bei Neuberg, *Ergebn. d. Phys.* 3, I. Abt., 373, 1904 und P. Mayer, *diese Zeitschr.* 17, 145, 1909.

scheidung der Pentosen durch den Harn von der Gattung der an Pentosanen mehr oder weniger reichen Vegetabilien abhing.

Es schien mir daher angebracht, die Untersuchung auf den Harn des Hundes und des Menschen auszudehnen. Von Hundeharn sind drei Proben geprüft worden, und die Tiere, von welchen derselbe stammte, waren seit längerer Zeit mit Brühe und Brot ernährt worden; von menschlichem Urin wurden zehn Proben verwendet, die von mir stammten oder mir vom Leiter und Studenten des Laboratoriums zur Verfügung gestellt waren. P. nahm in jenen Tagen vorwiegend eine Fleischdiät, F. Gemüsekost, ich und die anderen gemischte Nahrung.

Die Resultate sind in nachfolgender Tabelle (II) zusammengestellt.

Tabelle II.

Tier oder Mensch, von welchem der Harn stammte	Art der Nahrung	Quantum des zur Bestimmung der Pentosen verwendeten Harnes in ccm	Quantum des im analysierten Harn enthaltenen Phloroglucids in g	in 1000 ccm Harn gefunden			
				Phloroglucid g	Furfur g	Pentosen g	Pentosane g
Hund 1	Brot und Brühe	385	Unschätzbare Spuren				
" 2	"	700	Unschätzbare Spuren				
" 3	"	500	0,019	0,038	0,0224	0,0439	0,0386
" 3 (2. Vers.)	"	"	0,018	0,036	0,0214	0,0418	0,0368
P.	Fleischdiät	"	Unschätzbare Spuren				
"	"	"	0,004	0,008	0,0068	0,0134	0,0118
B.	Gemischte Diät	"	0,0205	0,041	0,0240	0,0469	0,0413
C.	"	"	0,0090	0,018	0,0120	0,0235	0,0204
"	"	"	0,0110	0,022	0,0140	0,0276	0,0243
G.	"	"	0,0220	0,044	0,0255	0,0499	0,0440
"	"	"	0,0150	0,030	0,0182	0,0358	0,0315
Durchschnittl. Resultate ¹⁾				0,031	0,0187	0,0367	0,0323
F.	Vorwiegend a. gekochten Kräutern bestehende Diät	"	0,030	0,060	0,0338	0,066	0,0581
"	Vorwiegend a. gekochten Kräutern bestehende Diät	"	0,029	0,058	0,0328	0,064	0,0564

¹⁾ Die Durchschnittsziffern sind nur aus den Werten meines Harnes und desjenigen meiner Kollegen gebildet worden, welche gleich mir eine gemischte Diät erhalten hatten.

Aus den angeführten Zahlen geht deutlich hervor, daß im Harn des Menschen und des Hundes die Pentosen fehlen können; jedoch in der Mehrzahl der Fälle findet man Quantitäten, welche zwischen 0,0134 dog ad minimum und 0,066 g ad maximum pro 1000 com Harn schwanken. Erwähnenswert ist der Umstand, daß gerade im Harn P.s, welcher sich vorwiegend mit Fleisch genährt hatte, in drei Versuchen zweimal die Pentosen fast völlig fehlten, während der Harn der Versuchsperson F., welche sich fast ausschließlich von Gemüse genährt hatte, das größte Quantum von 0,066 g pro 1000 com Harn ergab.

Im Harn der Hunde befanden sich ebenfalls manchmal nur unbedeutende Spuren von Pentosen und zwei andere Male 0,0439 g resp. 0,0418 g im Liter.

Wenn man nun berücksichtigt:

1. daß der Harn der Pflanzenfresser stets Pentosen enthielt und gewöhnlich in größerer Menge als der des Hundes und des Menschen,

2. daß im Harn der mit Brot gefütterten Hunde, d. h. mit einem vegetabilischen, aber von pentosenhaltiger Rohfaser freien Nahrungsstoffe, zuweilen die Pentosen fehlten,

3. daß im Harn des Menschen in den Fällen mit überwiegender Fleischkost die Pentosen auf unbedeutende Spuren beschränkt waren, und daß auch bei gemischter Diät das Pentosenquantum beim Menschen gewiß kleiner war als im Harn von ausschließlich oder fast ausschließlich mit vegetabilischen, an Pentosanen reichen Substanzen ernährter Tiere, so kann man schließen, daß

Schwein, Rind, Pferd und Schaf stets Pentosen mit dem Harn eliminieren, und zwar in größerer Quantität als Hunde und Menschen, eben darum, weil sie mit vegetabilischen, an Rohfasern und mithin an Pentosanen reichen Substanzen ernährt werden.

Wenn man aber die Quantität der im Harn vorgefundenen Pentosen mit jener der eingeführten Pentosane vergleicht, so bemerkt man, daß dieselbe (mit Ausnahme vielleicht des Schweines 1 und des Rindes 1) sehr klein ist; man muß somit zugeben, daß ein großer Teil der als Pentosane eingeführten Pentosen vom Organismus verwertet wird.

Weitere Untersuchungen, welche ich auszuführen beabsichtige, werden feststellen können, auf welche Weise die Pentosane ausgenutzt werden und ob sie, wie es wahrscheinlich ist, die Bildung von Glykogen veranlassen.

Wir haben gesehen, daß im Harn des Menschen bei Fleischdiät die Pentosen verschwinden können. Grund¹⁾ fand nun in den Muskeln 0,021 g Pentosen pro 100 g, eine Quantität, welche über den fast gänzlichen Mangel an Pentosen im Harn der Versuchsperson Aufschluß geben kann; diese hatte am Tage, an welchem der Harn gesammelt worden ist, vorwiegend Muskelfleisch gegessen. Aber auch die Drüsenorgane und besonders das Pankreas enthalten nach Grund¹⁾ sowie Bendix und Ebstein²⁾ bedeutend größere Quantitäten Pentosen als die Muskeln.

Diese Drüsenorgane könnten im Stoffwechsel Pentosen abgeben; deshalb könnte ihr Vorhandensein im Harn nicht nur durch die Nahrung bedingt sein, sondern auch einen endogenen Ursprung haben. Dagegen kann aber sofort der Einwurf gemacht werden, daß gerade bei der Ernährung mit Fleisch die Pentosen die Neigung haben, aus dem Harn zu verschwinden, und dieser Umstand wäre genügend, in den beschriebenen Fällen den endogenen Ursprung der im Harn enthaltenen Pentosen auszuschließen. Freilich muß man berücksichtigen, daß bei normalen Ernährungszuständen am Gesamtauswechsel die Nahrung³⁾ den größten Anteil hat und die Organe und Gewebe des Körpers nur einen kleinen. Anders könnten die Verhältnisse beim Hunger liegen, wo der Organismus auf Kosten der eigenen Bestandteile lebt, und zu einem gewissen Zeitabschnitt der Hungerperiode könnten die Pentosen im Harn vorhanden sein. In einem solchen Falle müßte man zugeben, daß dieselben aus den Organen und Geweben stammen.

Um festzustellen, ob diese Annahme richtig sei, habe ich eine Reihe Untersuchungen an einem Pferde angestellt, welches ich 8 Tage fasten ließ; Wasser wurde gewaltsam zugeführt, wenn das Tier es verweigerte. Täglich habe ich den 24stün-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 111, 1902.

²⁾ Erwähnt von Röhmann, Biochemie, 1908, S. 123.

³⁾ Rubner, Die Quelle der tierischen Wärme. Zeitschr. f. Biol. 30, 73, 1894.

digen Harn gesammelt, und vom Gemisch desselben entnahm ich 500 ccm für die Analyse. Zu Beginn des Experimentes wog das Tier 220 kg; der Ernährungszustand war sehr mangelhaft. Die Resultate sind in folgender Tabelle angeführt.

Tabelle III.

Zustand des Tieres	Quantum des zur Bestimmung der Pentosen verwen- deten Harnes in in com	Quantum des im analysier- ten Harn vor- gefundenen Phloroglucids in g	In 1000 ccm Harn gefunden			
			Phloro- glucid g	Fur- fural g	Pen- tosen g	Pen- tosane g
Nahrung ¹⁾	500 alkalische Reaktion	0,0296	0,0592	0,0333	0,0650	0,0573
1. Fasten ²⁾	500 alkalische Reaktion	0,0119	0,0239	0,0150	0,0294	0,0260
2. "	500 neutrale Reaktion	0,0049	0,0098	0,0077	0,0152	0,0134
3. "	500 saure Reaktion	Es fehlt der Niederschlag von Phloroglucid	0,0160	0,0109	0,0215	0,0189
4. "	500 saure Reaktion					
5. "	500 saure Reaktion	0,0090	0,0180	0,0120	0,0235	0,0207
6. "	500 saure Reaktion	0,0120	0,0240	0,0151	0,0296	0,0260
7. "	500 saure Reaktion	0,0056	0,0100	0,0078	0,0154	0,0136
8. "	500 saure Reaktion	0,0040	0,0080	0,0068	0,0134	0,0118
1. Wieder- ernährung	500 neutrale Reaktion	0,0170	0,0340	0,0203	0,0398	0,0350
2. Wieder- ernähr. ³⁾	500 alkalische Reaktion	0,0210	0,0420	0,0245	0,0479	0,0422
3. Wieder- ernährung	500 alkalische Reaktion	0,0290	0,0540	0,0307	0,0599	0,0528

¹⁾ Die bei diesem Pferde gefundenen Werte sind fast identisch mit jenen der ersten Tabelle unter der Rubrik Pferd 5. Es handelt sich um dasselbe, gleichartig ernährte Tier, dessen Harn zweimal analysiert worden ist, und zwar einige Tage vor dem Fasten und den Tag vor der Inanition.

²⁾ Das Fasten dauerte 8 Tage, vom 17. bis zum 24. Februar. Das Pferd wog zu Beginn der Inanition 220 kg, am Ende 190 kg. Es verlor somit in 8 Tagen 30 kg seines Gewichtes, d. h. 13,63%.

³⁾ Am ersten Tage der Wiederernährung bekam das Pferd nur 2 kg Heu, in den darauffolgenden Tagen die gewöhnliche Ration zu fressen.

Aus den Resultaten dieses Experimentes geht hervor, daß wir während des Fastens zwei scharf abgegrenzte Zeitabschnitte gehabt haben: die erste Periode von 3 Tagen, während welcher die Pentosen im Harn bis zum gänzlichen Verschwinden abnahmen, und die zweite von fünf Tagen, während welcher im Harn sich kleine, aber wägbare Quantitäten Pentosen wieder vorfanden.

Auffallend ist der Umstand, daß die am 4. Inanitionstage im Harn wieder aufgetretenen Pentosen am 5. und 6. Tage zunahmen, um am vorletzten und letzten Fasttage wieder abzunehmen. Aus der Tabelle geht überdies hervor, daß die Pentosen im Harn bedeutend zunahmen, sobald das Pferd wieder mit Heu gefüttert worden war.

Es ist einleuchtend, daß die Pentosen nicht gleich mit dem Beginn der Inanition aus dem Harn verschwunden sind, weil die vorangegangene Ernährung ihre Wirkung noch bemerkbar machen mußte, und es nicht wahrscheinlich ist, daß der Darm des Tieres zu Beginn des Fastens von Nahrungsstoffen vollkommen leer gewesen sein soll.

Man kann dann nicht umhin, das Wiederauftreten der Pentosen im Harn zu einem gewissen Zeitabschnitte der Inanition mit dem verschiedenen Verbrauch der Körpergewebe beim Fortschreiten der Inanition in Verbindung zu bringen. Der Ernährungszustand des Pferdes zu Beginn des Hungerns erklärt uns sogar das Wiederauftreten der Pentosen in einem so wenig vorgeschrittenen Zeitabschnitt der Inanition. Es handelte sich um ein mageres Tier mit spärlichem Paniculum Adiposum, welches in einer Woche 30 kg seines Gewichtes verlor. Es hat wohl bald seinen ungenügenden Vorrat an Fett verbraucht und die Organe und Gewebe angreifen müssen, welche, wie wir gesehen haben, große Quantitäten Pentosen enthalten. Man muß somit das Wiederauftreten der Pentosen im Harn während der Inanition hauptsächlich mit dem Verbrauch der Organe in Verbindung bringen.

Salkowski¹⁾ ernährte zwei Hunde mit gekochtem Pankreas, dennoch war der Harn frei von Pentose. Man muß also annehmen, daß entweder bei der Inanition die Drüsengewebe einen gründ-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 507.

licheren Zerfall erleiden, als wenn sie als Futter einverleibt werden, oder daß der Umsatz der Pentose liefernden Nucleoproteide sich beim Pferde und Hunde verschieden vollzieht. Weitere Untersuchungen werden vielleicht die Frage klären können.

Der Befund größerer Quantitäten von Pentosen im Harn des 4., 5. und 6. Tages im Gegensatz zu dem Harne des 7. und 8. Tages kann mit dem Umstand in Verbindung gebracht werden, daß mit der Verlängerung der Inanition das hungernde Tier den Verbrauch der eigenen Gewebe progressiv beschränkte und sämtliche Funktionen (Zirkulation, Atmung usw.) bis zu einem gewissen Stadium immer mehr verlangsamte hat. Deshalb wird die Quantität der die Gewebe bildenden Stoffe, welche abgegeben wurden, in einer vorgerückten Zeitperiode kleiner sein.

Man kann aber mit großer Wahrscheinlichkeit auch zugeben, daß mit der Dauer des Fastens die bei dem Zerfalle der Gewebe frei gewordenen Pentosen, welche sich besonders in den Drüsenelementen finden, vielleicht in größerer Quantität ausgenutzt worden sind, besonders vom Herzen, welches nicht nur sehr wenig von seinem Gewicht, selbst bei vorgerücktester Inanition, verliert, sondern auch, wie Jensen¹⁾ für den Hund gezeigt hat, noch einen normalen Gehalt an Glykogen besitzt zu einer Zeit des Hungerns, wo die Muskeln, z. B. des Beines, nur $\frac{1}{10}$ oder $\frac{1}{30}$ der normalen Quantität von Glykogen haben.

Endlich bestätigt die rasche Zunahme der Pentosen im Harne der wieder mit Heu gefütterten Tiere das früher Gesagte, daß nämlich bei normalen Ernährungszuständen die Quantität der im Harne befindlichen Pentosen in besonderer Beziehung zur Ernährung steht.

Allgemeine Schlußfolgerungen.

Aus den angeführten Experimenten kann man schließen:

1. Die Herbivoren und die Schweine scheiden bei reichlicher Ernährung beständig mit dem Harne Pentosen aus, aber nur in sehr kleiner Quantität im Vergleich zu der mit der Nahrung in Form von Pentosanen eingeführten Menge.

¹⁾ Jensen, Über den Glykogenstoffwechsel des Herzens. Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 514, 1902.

2. Der größte Teil der Nahrungspentosane wird vom Organismus verwertet.

3. Im Harn des mit Brot und Fleischbrühe ernährten Hundes und des Menschen bei vorwiegender Fleischdiät können Pentosen fehlen. Diese fehlen niemals im Harn des Menschen bei gemischter Nahrung, finden sich hier aber gewöhnlich in kleinerer Quantität als im Harn der grasfressenden Tiere.

4. Beim fastenden Pferde verschwinden die Pentosen aus dem Harn während der ersten Inanationsperiode, um dann bei fortdauerndem Hungern wieder in sehr kleiner Quantität aufzutreten.

5. Das Wiedererscheinen der Pentosen im Harn des hungernden Pferdes zu einer gewissen Zeitperiode des Hungerns steht wahrscheinlich mit dem Zerfall Pentose enthaltender Organe in Verbindung.

Über phosphorhaltige Caseinpeptone.

Von

M. Dietrich, Moskau.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 20. September 1909.)

I.

Im Jahre 1901 hat E. Salkowski¹⁾ aus den löslichen Produkten der peptischen Caseinverdauung eine phosphorhaltige Substanz in Form des Eisensalzes dargestellt, die er als den phosphorhaltigen Komplex des Caseinmoleküls ansprach und als Paranucléinsäure des Caseins bezeichnete. Die Substanz spaltete sehr leicht Phosphorsäure ab, gab die Biuret-, aber nicht die Adamkiewiczsche Reaktion und hatte nach Entfernung des Eisens die Zusammensetzung C 42,73%, H 7,03%, N 13,40%, P 4,18%. Ihrem Verhalten Ammonsulfat gegenüber war die Substanz den Albumosen zuzuzählen.

Vor etwa zwei Jahren hat dann A. Reh²⁾ im hiesigen Institut mit Hilfe der Uranfällung aus dem Gemisch der Verdauungsprodukte des Caseins eine noch phosphorreichere Säure isoliert, die zwar Biuret- und Millonsche Reaktion, aber weder Molischs noch Hopkins' Probe gab und bei oftmaliger Darstellung als Uranylverbindung eine nahezu konstante Zusammensetzung aufwies (im Mittel C 24,14%, H 3,91%, N 7,78%, P 4,30%, U 33,25%, was auf uranylfreie Substanz bezogen einen P-Gehalt von 6,9% bedeutet). Diese „Polypeptid-phosphorsäure“ des Caseins, wie sie Reh zunächst bezeichnete, konnte danach als ein noch kleineres Bruchstück des Casein-

¹⁾ Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 245.

²⁾ Reh, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 1. Vgl. hier die ältere Literatur.

moleküls angesehen werden, als Salkowskis Paranuclainssäure. Die Hydrolyse ergab jedoch eine unerwartet große Anzahl von Spaltungsprodukten, so daß Reh zu dem Schlusse kam, entweder sei das Molekül der untersuchten Polypeptidphosphorsäure nicht viel kleiner als jenes des Caseins selbst, oder aber sie sei noch ein Gemenge mehrerer gleichartig gebauter phosphorhaltiger Säuren.

Bei Fortführung seiner Untersuchungen hat Reh die letztere Annahme zutreffend gefunden. Durch Abänderung der Darstellungsbedingungen gelang es ihm, zu noch phosphorreicherer Abbauprodukten des Caseins zu gelangen, die nicht mehr Albumosen-, sondern Peptoncharakter aufwiesen. Reh wird über diese Versuche später selbst berichten, so daß ich auf sie nur insoweit eingehe, als sie zu der vorliegenden Untersuchung direkt in Beziehung stehen. Unter den von Reh dargestellten Produkten erschien nämlich ein Kalksalz dadurch besonders interessant, daß es, wie Hofmeister entdeckte, beim Sieden der sehr verdünnten Lösung eine flimmernde Trübung gab, die durch die Ausscheidung feinstmikroskopischer Nadelchen veranlaßt war.

Da die Substanz im übrigen den Charakter eines Peptons zeigte, erschien deren Untersuchung dringend wünschenswert, und Prof. Hofmeister war im Einverständnis mit Dr. Reh so freundlich mir diese Aufgabe zu übertragen.

Das mir übergebene rohe Kalksalz war ein zartes Pulver von graugelber Farbe, leicht löslich in kaltem Wasser, unlöslich in Alkohol, Äther, Aceton.

Durch konzentrierte Mineralsäuren (nicht aber durch Essigsäure), leichter noch durch verdünnte Alkalien wurde es unter Phosphorsäureabspaltung zersetzt.

Beim Kochen der wässrigen, sehr verdünnten Lösung (1:300 bis 400) fiel ein Kalksalz in Form mikroskopisch kleiner Nadelchen aus. Konzentriertere Lösungen gaben dagegen beim Aufkochen einen gallertigen Niederschlag, in dem mikroskopisch Nadelchen nur ausnahmsweise erkennbar waren.

Meine nächste Aufgabe war es, die in dem Rohpräparat enthaltenen phosphorhaltigen Verbindungen zu trennen und zu charakterisieren. In der mir zur Verfügung stehenden Zeit konnte ich diese Aufgabe nur zum Teile erledigen, zumal da auch die Menge des Ausgangsmaterials nur eine beschränkte war.

Im Interesse der übersichtlichen Darstellung sei gleich von vornherein bemerkt, daß sich das rohe Kalksalz als ein Gemenge von mindestens vier verschiedenen Kalksalzen erwies, aus denen die entsprechenden phosphorhaltigen Säuren dargestellt werden konnten. Da alle diese Säuren die Biuretreaktion gaben, dabei aber nicht durch Ammonsulfat fällbar waren, so sind sie als Verbindungen von peptonartigen Polypeptiden mit Phosphorsäure anzusprechen, die vorläufig auf Grund der älteren Namengebung als Caseonphosphorsäuren bezeichnet werden können.

Da es während der Arbeit mit diesen Säuren von größtem Belang war, festzustellen, ob nicht durch die eingeschlagene chemische Behandlung eine Abspaltung der Phosphorsäure veranlaßt wird, so sei hier von vornherein auf die Schwierigkeiten aufmerksam gemacht, denen die Prüfung auf Phosphorsäure beim Arbeiten mit den so leicht zersetzlichen Caseonphosphorsäuren zumeist unterliegt.

Die Prüfung mit molybdänsaurem Ammon in salpetersaurer Lösung ist natürlich nicht statthaft. Aber auch die Tripelphosphatprobe konnte nur unter Vermeidung eines irgend erheblichen Ammoniakzusatzes Verwendung finden, da Ammoniak bei Anwesenheit von Magnesia schon in der Kälte Phosphorsäure abspaltete. Ich habe, wenn ich diese Probe benutzte, stets das Ammoniak nur bis zum Eintritt einer sehr schwach alkalischen Reaktion zugefügt, wodurch allerdings die Probe merklich an Empfindlichkeit einbüßt. Am zuverlässigsten erwies sich die Prüfung mit Chlorcalcium in neutraler oder schwach ammoniakalischer Lösung. Unter diesen Bedingungen erfolgte die Abspaltung der Phosphorsäure in der Kälte nicht, wenigstens nicht in der ersten Zeit, während, wie Kontrollversuche zeigten, zu der Lösung des Präparats zugesetztes Natriumphosphat auch in kleinsten Mengen zur Ausscheidung von Calciumphosphat führte.

II. Versuche zur Trennung der Caseonphosphorsäuren.

Die oben hervorgehobene Eigenschaft des gelösten rohen Kalksalzes, sich in verdünnter Lösung zum Teil krystallinisch abzuscheiden, schien eine wertvolle Handhabe zur Isolierung

eines gut charakterisierten Produkts zu bieten. Leider erwies sich dieser Weg nicht als gangbar, da infolge der notwendigen großen Verdünnung die Ausbeute an dem beim Kochen ausfallenden Salz sehr spärlich war.

Ebenso gelang es mir nicht, durch Behandlung des Rohpräparats mit Oxalsäure und nachträgliche Fällung mit Alkohol oder Aceton zu besser charakterisierten Produkten zu kommen, die entkalkte Lösung gab mit viel Alkohol oder Aceton nur eine geringe flockige Fällung. Auch der Versuch, die alkoholische Lösung als solche oder nach Überführung in das Kalksalz durch Eindunsten im Exsiccator zur Krystallisation zu bringen, schlug fehl.

Hingegen erwies sich das nachstehende Verfahren als brauchbar. Zunächst wurde die konzentrierte Lösung des rohen Kalksalzes zum Kochen erhitzt, wobei sich ein großer Teil der vorhandenen Kalksalze als in der Hitze unlöslicher Niederschlag (A) abschied, dann wurden einerseits aus dem Niederschlag, andererseits aus dem Filtrat (B) die phosphorhaltigen Komponenten als Metallsalze isoliert.

A. Die beim Kochen ausfallenden Kalksalze.

Das Ausgangsmaterial wurde in einer möglichst geringen Menge destillierten Wassers bei Zimmertemperatur unter Verreiben in einer Reibschale gelöst, die erhaltene klare aber dunkelbraune Lösung mit dem fünf- bis sechsfachen Volum destillierten Wassers verdünnt, und nun in Kolben aus Jenaer Glas zum Sieden gebracht. Sobald die Flüssigkeit zu kochen begann, erfolgte die einer Eiweißkoagulation vergleichbare Ausscheidung der Kalksalze. Der breiartige Niederschlag wurde nach 10 Minuten langem Sieden auf einem heizbaren Trichter abfiltriert, in einer Reibschale mit viel destilliertem Wasser verrieben — wobei nur sehr wenig in Lösung ging — wiederum 10 bis 20 Minuten lang gekocht, filtriert und diese Prozedur dreimal wiederholt.

Sämtliche Filtrate wurden vereinigt und in weiter unten angegebener Weise behandelt (B).

Der gereinigte Niederschlag der ausgefallenen Kalksalze stellte eine kleisterartige, dicke Masse von gelbbrauner Farbe dar. Er wurde in einer möglichst geringen Menge Essigsäure

aufgelöst, wobei ein kleiner Anteil ungelöst zurückblieb, und die klar filtrierte dunkelbraune Lösung mit Ammoniak vorsichtig bis zu amphoterer Reaktion neutralisiert. Dabei wurde die Flüssigkeit opalescent wie eine kolloidale Lösung und ging auch in dieser Form durchs Filter. Die Biuretreaktion war sehr intensiv, anorganische Phosphorsäure nicht nachzuweisen. Lösungen von Eisenammoniakalaun, Manganchlorid, Aluminiumsulfat, Chromalaun, Zinksulfat, Silbernitrat, Mercurinitrat, Sublimat, Kupfersulfat, Kupferacetat und Bleiacetat fällten mehr oder weniger reichliche amorphe Niederschläge. Mit Nickelsulfat wurde nur eine leichte Trübung erhalten, Kobaltnitrat fällte überhaupt nicht.

Von den mit Schwermetallen erhaltenen Niederschlägen war der mit Zinksalzen erhaltene merklich geringer als der Kupferniederschlag und dieser wieder geringer als der Bleiniederschlag. Ich benutzte dieses Verhalten zur weiteren Fraktionierung in folgender Weise:

Die mit Essigsäure hergestellte und dann wieder neutralisierte Lösung der Kalksalze wurde mit einer gesättigten Lösung von Kupferacetat unter Vermeidung eines größeren Überschusses ausgefällt, der amorphe blaue Niederschlag (a) auf der Zentrifuge mit Wasser bis zum Verschwinden der Kalkreaktion gewaschen, dann in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Da die so erhaltene Substanz die durch Zinksalze fällbare Säure enthielt, wurde die von Schwefelkupfer und Schwefelwasserstoff befreite Lösung mit Ammoniak neutralisiert und mit Zinkacetat in geringem Überschuß ausgefällt. Aus dem mit Hilfe der Zentrifuge gewaschenen, dann mit Schwefelwasserstoff zerlegten Niederschlag wurde nach Entfernen des Schwefelzinks und Schwefelwasserstoffs eine hellgelbe, klare, intensiv saure Lösung erhalten, die starke Biuretreaktion und eine sehr schwache Millonsche Probe gab und frei von anorganischer Phosphorsäure war.

Diese Fraktion (I) gab nach Überführen in das Calciumsalz die oben erwähnte krystallinische Ausscheidung beim Kochen.

Das Filtrat vom Zinkniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff von Zink befreit und die klare, leicht gelb gefärbte, sauer reagierende Lösung nach Neutralisation mit Ammoniak durch Zusatz von Kupferacetat ausgefällt. Der spärliche

flockige Niederschlag von blauer Farbe wurde in oben beschriebener Weise gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und lieferte so eine klare, leicht gelbliche, sauer reagierende Lösung (Fraktion II), die deutliche Biurettreaktion, aber keine Millonsche Probe und keine Reaktion auf anorganische Phosphorsäure aufwies.

Das Filtrat vom Kupferniederschlag gab keine Biurettreaktion mehr, gab auch nach Entfernung des Kupfers und Neutralisation mit Ferril-, Uranyl- und Bleisalzen keinen Niederschlag.

Das Filtrat vom ersten Kupferniederschlag (a) wurde von Kupfer mit Schwefelwasserstoff befreit und nach Vertreiben des Schwefelwasserstoffs und Neutralisation mit einer 10%igen Lösung von Bleiacetat ausgefällt. Der flockige, weiße Niederschlag lieferte nach dem Auswaschen und Zerlegen eine kaum gefärbte klare saure Flüssigkeit, die keine freie Phosphorsäure enthielt und keine Millonsche Probe, wohl aber deutliche Biurettreaktion gab (Fraktion III).

Um mich über das Verhalten der gebundenen Phosphorsäure in den Fraktionen I bis III zu unterrichten, stellte ich mit ihnen die Tripelphosphatprobe, aber diesmal unter reichlichem Zusatz von Ammoniak an. Dabei ergab nur Fraktion I nach längerem Schütteln leichte Trübung, während II und III klar blieben.

Auch nach dem Kochen mit Ammoniak gab nur I einen geringen Tripelphosphatniederschlag. Ebenso lieferte nur I nach längerem Kochen mit Salpetersäure einen typischen Niederschlag mit Ammoniummolybdat, während II und III bei gleicher Behandlung nur eine leichte Trübung von gelber Farbe gaben. Es hatte danach den Anschein, als ob nur Fraktion I (die zinkfällbare Fraktion) Phosphorsäure enthielte. Nach Zerstörung mit Neumannschem Säuregemisch lieferten jedoch alle drei Fraktionen einen typischen Niederschlag vom Ammoniumphosphormolybdat, die erste Fraktion allerdings am reichlichsten. Es enthielten somit alle drei Fraktionen organisch gebundenen Phosphor, nur war er in der II. und III. Fraktion bedeutend fester gebunden.

Es war des besseren Vergleichs halber beabsichtigt, aus allen Fraktionen die Uranylverbindung herzustellen und der Analyse zuzuführen. Bei Untersuchung der gereinigten Frak-

tionen ergab sich überraschenderweise, daß bloß Fraktion I durch Uranylacetat aus essigsaurer Lösung gefällt wurde, während Fraktion III einen kaum wahrnehmbaren, Fraktion II selbst bei stundenlangem Stehen gar keinen Niederschlag gab.

Es wurden daher Fraktion I und II neuerdings durch Fällung mit Kupferacetat in das Kupfersalz, die III. Fraktion mit Bleiacetat in das Bleisalz übergeführt. Über die mit den gut ausgewaschenen und getrockneten Substanzen ausgeführten Analysen wird weiter unten im Zusammenhange berichtet werden.

B. Das durch Kochen nicht fällbare Kalksalz.

Das oben beschriebene Filtrat B, welches intensive Biuretreaktion aufwies, aber auch etwas freie Phosphorsäure enthielt, wurde eingedampft und die dunkelgelbe Flüssigkeit mit einem geringen Überschuß von Uranylacetat gefällt. Der reichlich ausfallende, flockige, gelbe Niederschlag wurde auf der Zentrifuge bis zum Verschwinden der Kalkreaktion gewaschen, dann mit Ferrocyanwasserstoff von Uran befreit.

Behufs Darstellung des Ferrocyanwasserstoffs wurde eine bei Zimmer-temperatur gesättigte Lösung von gelbem Blutlaugensalz mit dem gleichen Volum rauchender Salzsäure versetzt, der ausgefallene weiße krystallinische Niederschlag abfiltriert, an der Luft getrocknet, wobei etwas Blaufärbung eintrat, dann in absolutem Alkohol gelöst und mittels Äther gefällt. Der ausgefallene schneeweiße Niederschlag wurde mehrere Male mit Äther gewaschen, dann rasch im Exsiccator zur Trockene gebracht. Das so erhaltene Präparat enthält keine Spur von Berlinerblau und ist, an trockener Stelle aufbewahrt, gut haltbar. Bei Zutritt von Feuchtigkeit und in wässriger Lösung zersetzt es sich rasch unter Blaufärbung. Die trockene Säure ist daher erst unmittelbar vor dem Gebrauch aufzulösen.

Bei der Zerlegung des Uranylniederschlages verfuhr ich wie folgt: Der Niederschlag wurde in Wasser verteilt und nun tropfenweise die Lösung von Ferrocyanwasserstoff hinzugefügt. Nach jedem Zusatz wurde kräftig gerührt, dann einerseits ein Tropfen der Flüssigkeit, andererseits ein Tropfen Eisenchloridlösung nebeneinander auf ein Stück Filterpapier gebracht. Das Auftreten einer blauen Färbung an der Berührungsstelle der beiden sich ausbreitenden Tropfen ließ den geringsten Überschuß an Ferrocyanwasserstoff erkennen. War diese Endreaktion eingetreten, so filtrierte ich den dunkelbraunen Niederschlag der Uranylferrocyan-Verbindung ab. Dabei erwies sich zur

Erlangung klarer Filtrate ein Zusatz von Kieselgur höchst förderlich.

Das vollkommen klare und farblose Filtrat wurde von einem geringfügigen Überschuß an Ferrocyankwasserstoff durch vorsichtigen Zusatz von Kupferacetat befreit. Auch hier diente die eben erwähnte Tüpfelmethode zur Bestimmung des Endpunktes. Dann wurde von dem ausgefallenen Ferrocyankupfer abfiltriert und die vorhandene Orthophosphorsäure, deren Anwesenheit in oben angegebener Weise mit Calciumchlorid und Magnesiumsalz leicht zu erkennen war, nach Neutralisieren mit Ammoniak durch vorsichtigen Zusatz von Kalkwasser ausgefällt.

Die so erhaltene Lösung (Fraktion IV) zeigte keine Millonsche wohl aber Biuretreaktion, spaltete bei kurzem Kochen mit Ammoniak keine Phosphorsäure ab, enthielt aber, wie die Behandlung mit Neumanns Säuregemisch lehrte, reichlich Phosphor. Die Bindung der Phosphorsäure ist somit auch in dieser Fraktion sehr fest.

Von Metallsalzen wurde Fraktion IV am besten durch Bleiacetat und in zweiter Reihe durch Kupfersalze gefällt. Chrom- und Tonerdesalze gaben geringe Trübung, ebenso Ferrisalz, das bei längerem Stehen zur Abscheidung eines geringen flockigen Niederschlags führte. Zink-, Mangan-, Kobalt-, Nickelsalze fällten nicht.

Behufs Analyse wurde die IV. Fraktion durch Kupferacetat aus neutraler Lösung gefällt, der Niederschlag gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Säure im Filtrat nochmals ins Kupfersalz übergeführt, dieses dann sorgfältig ausgewaschen und getrocknet.

Das Filtrat vom Kupfersalz der IV. Fraktion enthielt keinen Phosphor mehr und gab nur noch geringe Biuretreaktion.

Es war somit möglich, in den Fraktionen I bis IV sämtliche phosphorhaltige Verbindungen der Rohrpräparate zu gewinnen.

III. Stickstoff- und Phosphorgehalt der Fraktionen I bis IV.

Für die Beurteilung der Frage, ob die isolierten Fraktionen in der Tat verschiedenen chemischen Individuen entsprechen, empfahl sich die Bestimmung des Verhältnisses von N zu P mehr als eine Bestimmung des Kohlenstoffs oder des Metalls.

Ich habe mich daher in Anbetracht der mir zur Verfügung stehenden geringen Substanzmengen auf Stickstoff- und Phosphorbestimmungen beschränkt.

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl, die Phosphorbestimmungen nach Neumann ausgeführt. Letzteres Verfahren habe ich in der von Reh benutzten Modifikation angewendet. Da sich jedoch herausgestellt hatte, daß Asbest beim Kochen mit Lauge geringe Mengen Alkali neutralisieren kann, habe ich es vermieden, die Asbestlage zum Phosphormolybdätniederschlag in den Kolben zu bringen, sondern sie nur im Goochschen Tiegel mit $\frac{1}{2}$ -Lauge übergossen und dann mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion ausgewaschen. Dabei war die Einrichtung so getroffen, daß Lauge und Waschwasser direkt in den Kolben mit dem Rest des Molybdätniederschlages flossen. Die Bestimmung wurde dann unter Verwendung von $\frac{1}{2}$ -Lauge in üblicher Weise zu Ende geführt.

Nachstehend seien die Ergebnisse der Bestimmungen (Mittel von Doppelanalysen) mitgeteilt. Zur besseren Übersicht sind in der Tabelle die wichtigsten Merkmale der einzelnen Fraktionen mit angeführt.

Fraktion	Kalksalz beim Sieden	Durch			Spaltet H_3PO_4 ab	N %	P %	N:P
		Uranylsalz	Kupfersalz	Zinksalz				
I	fällt aus	fällbar	fällbar	fällbar	leicht	4,5	10,0	1,00:1
II	„ „	nicht fällb.	„	nicht fällb.	schwierig	5,7	4,1	3,07:1
III	„ „	kaum fällb.	nicht fällb.	„ „	„	4,5	3,84	2,59:1
IV	fällt nicht aus	fällbar	fällbar	—	„	6,8	3,88	3,87:1

IV.

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich, sind die isolierten Fraktionen nicht bloß in ihren Eigenschaften, sondern auch in ihrer Zusammensetzung verschieden. Von größtem Interesse ist die besonders phosphorreiche Fraktion I, die überdies auch quantitativ am stärksten vertreten war. Bemerkenswert ist ferner, daß die Fraktion IV in ihrem N:P-Verhältnis der Polypeptidphosphorsäure von Reh (4:1) sehr nahe steht.

Es wäre verfrüht, über die Beziehungen dieser Verbindungen zueinander Vermutungen auszusprechen. Dies wird erst nach genauerer Feststellung ihrer Individualität und ihres Baues möglich sein. Immerhin wird in betreff der als Fraktion I erhaltenen Säure, die in ihrem Kupfersalz nicht weniger als 10% Phosphor enthält, die Vermutung gestattet sein, daß es sich hier um eine relativ einfache Verbindung handelt. Das Verhältnis von N zu P wie 1:1 ließ sogar daran denken, daß hier die Verbindung einer Monaminosäure mit Phosphorsäure vorliege. Diese Vorstellung wurde jedoch bald durch einen orientierenden Spaltungsversuch widerlegt.

Eine relativ geringe Menge (einige Gramm) der aus dem Zinksalz dargestellten Caseinphosphorsäure wurde mit 20%iger Schwefelsäure 6 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Die leicht gelbliche Flüssigkeit wurde dann auf einen Schwefelsäuregehalt von 5% verdünnt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der erhaltene, in kochendem Wasser größtenteils lösliche Niederschlag wurde ausgewaschen, dann in üblicher Weise mit Baryt zerlegt und lieferte bei entsprechender Behandlung schließlich eine alkalisch reagierende Lösung, die mit Pikrinsäure einen in Wasser schwer, in Alkohol gar nicht löslichen Niederschlag gab, der in Tröpfchen ausfiel, sich aber später in Sphaerite umwandelte.

Aus dem Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde die Phosphorwolframsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure mit Barythydrat entfernt, dann der Barytüberschuß mit Kohlensäure beseitigt und die eingedampfte barythaltige Lösung mit Alkohol gefällt. Aus dem ausgefallenen Barytsalz ließ sich nach Entfernen des Baryts durch Übersättigen mit trockenem Chlorwasserstoff eine Krystallisation von dem Aussehen des Glutaminsäurechlorhydrats erhalten. Der in Alkohol lösliche Teil wurde zur Trockene gebracht und mit absolutem Alkohol erschöpft. Der in Lösung gegangene Anteil konnte in ein dunkelblaues Kupfersalz übergeführt werden, das den eigentümlichen Geruch des Prolin-Kupfers darbot und bei Erwärmung mit Natron fichtenspanrötende Dämpfe entwickelte. Da die spärlichen Reste der Verarbeitung immer noch beim Kochen mit Kupfercarbonat eine dunkelblaue Lösung gaben, so besteht die Möglichkeit, daß noch weitere Aminosäuren vorhanden waren.

Bei der geringen Menge der zur Hydrolyse verwendeten Substanz konnten nur diese qualitativen Versuche ausgeführt werden. Sie weisen auf Lysin, Prolin und Glutaminsäure hin. Wichtiger als dieser Fingerzeig ist aber die unzweifelhafte Tatsache, daß die untersuchte Substanz immer noch mehrere Aminosäuren, und zwar Diamino- und Monaminosäuren abspaltet, somit immer noch einen ziemlich komplizierten Bau aufweist. Danach ist die Paranucleinsäure des Caseins so wenig wie die echten Nucleinsäuren ein einfaches Derivat der Orthophosphorsäure.

Die Jodsäurereaktion des Adrenalins.

Von

Ludwig Krauß.

(Aus dem Katharinenhospital in Stuttgart.)

(Eingegangen am 3. September 1909.)

In Band 18, S. 40 dieser Zeitschr. beschreiben S. Fränkel und R. Allers eine Reaktion des Adrenalins mit Jodsäure, über die von mir schon im vorigen Jahre in der Apotheker-Zeitung 1908, 701 berichtet wurde.

Ich prüfte das Verhalten des reinen synthetischen Suprarenins gegenüber einer Anzahl von Reagentien, unter anderem auch gegen Jodsäure. Bezüglich der letzteren konnte ich folgendes konstatieren: „Löst man eine geringe Menge Jodsäure in wenig Wasser, setzt etwas Chloroform und eine Spur Suprarenin (oder einige Tropfen der Lösung 1:1000) zu, so wird momentan Jod freigemacht und das Chloroform färbt sich rosa. Läßt man die Probe nun einige Zeit stehen, so verschwindet die Rosafärbung der Chloroformlösung allmählich, und die überstehende wässrige Flüssigkeit nimmt eine dauernde, schön rosarote Färbung an.“

Durch diese Versuchsanordnung ist zugleich auch nachgewiesen, daß bei der Einwirkung von Adrenalin auf Jodsäure tatsächlich primär Jod freigemacht wird. Die Tatsache der Jodabscheidung wird jedoch von Fränkel und Allers bestritten, sie konnten in keinem Stadium der Reaktion Jod nachweisen. Der Nachweis von Jod gelingt jedoch, abgesehen von obiger Versuchsanordnung, auch auf folgende Weise sehr leicht: Mischt man einige Tropfen Jodsäurelösung 1:20 mit einigen Tropfen Adrenalinlösung 1:1000 und setzt einige Tropfen Stärkelösung zu, so tritt die charakteristische Blaufärbung ein, welche die Anwesenheit freien Jods beweist.

Es muß jedoch zugegeben werden, daß die Ausführung der Reaktion in der Hitze, wie sie Fränkel und Allers vorschlagen, eine bedeutend intensivere Färbung liefert, wodurch gleichzeitig auch eine höhere Empfindlichkeit erreicht wird.

Ein Versuch zur Stöchiometrie der Hämolyse.

Von

Mentz L. v. Krogh.

(Aus dem Laboratorium des städtischen Krankenhauses in Christiania.)

Mit 3 Figuren im Text.

(Eingegangen am 30. September 1909.)

Die physikalisch-chemische Forschung hat während der letzten Jahre angefangen, eine immer größere Rolle in der Biologie und der Immunitätsforschung zu spielen.

Es sind speziell die Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin, die behandelt worden sind. Die Hämolyse ist in dieser Beziehung weniger herangezogen worden. Außer einigen Arbeiten von Arrhenius habe ich darüber nur die Arbeiten von Manwaring und Henri auffinden können. Von diesen Forschern hat nur Arrhenius die einfache Hämolyse mittels Natronlauge bearbeitet, die beiden anderen haben sich mit komplexer Immnhämolsine und deren Derivaten beschäftigt.

Soweit ich es beurteilen kann, hat keiner von diesen Forschern sichere Schlüsse über die Natur der Hämolyse machen können. (Henris Abhandlung ist mir nur im Referat zugänglich gewesen.)

Durch Abänderungen der Untersuchungstechnik und speziell durch Untersuchungen über die Inkubationszeit ist es mir gelungen, einigermaßen tiefer in das Problem der Hämolyse eindringen zu können.

Methodik.

Zunächst mußte eine einigermaßen sichere Methodik für die Ermittlung der Reaktionsgeschwindigkeit ausgearbeitet werden.

Zuerst wurde versucht, durch Abkühlung auf 0° die Geschwindigkeit so langsam zu gestalten, daß man ohne weiteres die Blutkörperchen

der freiwilligen Sedimentierung überlassen könnte. Dies ist nicht gelungen. Zwar ist bei den komplexen Hämolytinen die Reaktionsgeschwindigkeit eine sehr langsame geworden, aber die Reaktion ist doch so weit fortgeschritten, daß die Resultate ganz verwischt worden sind. Ich habe dann die Blutkörperchen schleunigst abzentrifugieren müssen. Die Technik ist im speziellen die folgende.

Herstellung der angewandten Lösungen.

Die Blutkörperchen (immer vom Pferde genommen) werden in 0,8%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Sodann werden sie 2mal mit einer solchen Lösung gewaschen und aus dem der Zentrifuge entnommenen recht dickflüssigen Brei wird eine 5%ige Aufschwemmung dargestellt.

Dieser Aufschwemmung habe ich in sämtlichen Versuchen ein gleich großes Volumen von dem hämolytischen Agens zugesetzt. Dessen Menge wurde mittels größerer oder geringerer Verdünnung abgestuft. Das hämolytische Agens ist immer in 0,8%iger Kochsalzlösung aufgelöst gewesen.

Es ist auf diese Weise leicht, osmotische Änderungen auszuschließen, und es ist auch möglich gewesen, die Ergebnisse colorimetrisch miteinander zu vergleichen.

Temperatur.

Die meisten Versuche sind bei Zimmertemperatur (17 bis 20°) gemacht; da sie nicht allzu lange dauern ($\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ Stunden), sind etwaige Temperaturschwankungen des Raumes außer acht gelassen worden.

Die Reversibilitätsversuche mittels Natronlauge sind teils bei Zimmertemperatur, teils bei 8° (die Temperatur mittels flüssigen Leitungswassers konstant gehalten), teils bei 0° (in Eiswasser gekühlt) angestellt worden. Bei den niedrigeren Temperaturen sind immer die Reaktionsflüssigkeiten vor Anfang des Versuches auf die gewünschten Temperaturen gebracht worden.

Zentrifugieren.

Zur Sedimentierung der Blutkörperchen ist eine Zentrifuge mit etwa 3000 bis 4000 Umdrehungen pro Minute angewandt worden. Die Zentrifuge wird von einem elektrischen Motor getrieben; Um die oben genannte Geschwindigkeit zu erreichen, ist nur eine Zeit von $\frac{1}{2}$ Minute nötig; während 15 Sekunden wird diese Geschwindigkeit beibehalten; dann wird der Strom ausgeschaltet und die Zentrifuge schnell gebremst, das Glas mit der nun klaren, mehr oder weniger rotgefärbten Flüssigkeit herausgenommen und die Flüssigkeit abgossen; dieser letzte Vorgang nimmt etwa 15 Sekunden in Anspruch, so daß die ganze Zeit, die zum Zentrifugieren nötig ist, etwa 1 Minute beträgt. Als Reaktionszeit wird der Zeitpunkt angegeben, bei dem die Flüssigkeit von dem Blutkörperchensediment abgossen wird. Dieser Zeitpunkt ist allerdings nicht absolut korrekt; da er aber bei allen Versuchen derselbe ist, trägt die Abweichung nur eine Parallelverschiebung sämtlicher Werte.

In die Zentrifuge werden immer 2 ccm der Mischung gebracht.

Titrieren der gewonnenen Werte.

Die auf diese Weise gewonnenen Flüssigkeiten werden jetzt colorimetrisch titriert. Zu diesem Zwecke wird zunächst eine Testlösung hergestellt, und zwar in der Weise, daß von der ursprünglichen Blutkörperchenaufschwemmung 1 ccm abgemessen und mit 1 ccm Wasser versetzt wird. Durch den verminderten osmotischen Druck platzen die Blutkörperchen und geben ihr Hämoglobin an die Flüssigkeit ab, und zwar enthält die so gewonnene Flüssigkeit genau ebensoviel Hämoglobin wie die zu prüfende Blutkörperchenaufschwemmung mit hämolytischem Agens, wenn alles Hämoglobin in die Flüssigkeit übergetreten ist. Diese Testlösung wird nun mit der 9fachen Menge Kochsalzlösung verdünnt, so daß die Lösung jetzt dieselbe Farbe hat wie eine Lösung, in der $\frac{1}{10}$ der Blutkörperchen gelöst sind. Ist nun die zu prüfende Lösung im Vergleich mit Wasser (oder um kleinste Lichtbrechungs-differenzen zu vermeiden, mit Kochsalzlösung) noch farblos, so wird die Hämolyse gleich 0 gesetzt. Ist sie zwar gefärbt aber heller als die Testlösung, so wird einfach der Titer gleich „Spur“ gesetzt und der Grad jugiert. Ist sie gleich der Testlösung, so hat sie den Titer 0,1. Ist sie endlich dunkler als diese, so wird zu 1 ccm der gehärteten Lösung so viel Wasser (oder Kochsalzlösung) durch eine Bürette zugesetzt, bis sie genau dieselbe Farbe wie die Testlösung hat. Die Menge Kochsalzlösung in Kubikzentimeter, die man zusetzen muß, um diese Nuance zu erreichen, um 1 vermehrt, gibt dann den gesuchten Titer in Zehntel an, wenn die vollständige Hämolyse gleich 1 gesetzt wird.

Vergleich der Resultate.

Der Vergleich der gewonnenen Resultate ist durchweg in der Form von Kurven gemacht worden. Solche lassen sich besser als Tabellen miteinander vergleichen, und die unvermeidlichen Ungenauigkeiten lassen sich weit besser überblicken und in vielen Fällen ausschalten. Man kann auf diese Weise auch eine mißlungene Versuchsreihe als solche erkennen und ausschalten.

Es hat sich gezeigt, daß meistens die Resultate miteinander recht genau übereinstimmen. Zuweilen sind jedoch mehr oder weniger große Unregelmäßigkeiten aufgetreten, deren Ursache noch nicht aufzuklären war.

a) Die Hämolyse durch Natronlauge.

Die Natronlauge wurde in verschiedenen Konzentrationen angewandt, und zwar von 0,05 n bis 0,005 n. Die Konzentration von 0,05 n läßt bei 20° einen sehr schnellen Fortschritt der Hämolyse erkennen und nicht nur die Stromata der Blutkörperchen, sondern auch das Hämoglobin werden schnell angegriffen, indem sich bald nach Vollendung der Hämolyse dunkles Hämatin bildet; schon bei 0,03 dauert dies viel länger, und bei 0,02 behält die hämolytische Flüssigkeit noch nach

mehreren Stunden ihre rote Farbe; bei 0,01 n läuft die Hämolyse sehr langsam ab. Deswegen ist diese Konzentration die schwächste, die zur Herstellung der Geschwindigkeitskurven angewandt wird.

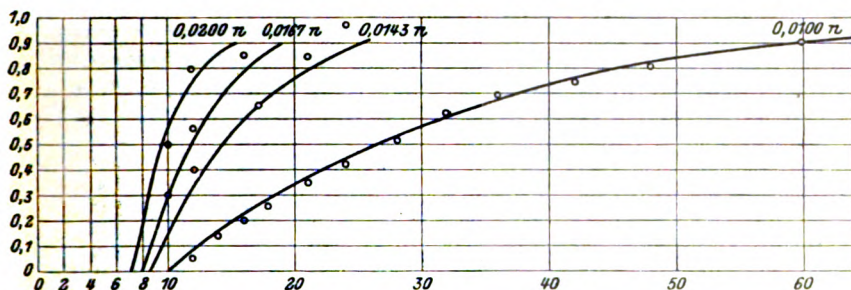


Fig. 1.

Die Kurve 1 gibt eine Reihe von Versuchen über den Verlauf der Reaktion wider. Jede einzelne Kurve gibt eine bestimmte Konzentration der Natronlauge an.

Es ergibt sich zunächst, daß bei jeder Konzentration eine gewisse Zeit verstreicht, in der keine Hämolyse wahrzunehmen ist; dann erst setzt sie mehr oder weniger plötzlich ein. Die Kurve ist jedoch im Anfang schematisiert; es ist natürlich nicht gelungen, einen so scharfen Knick jemals zu beobachten. Vielmehr wickelt sich die Kurve konvex gegen die Abszisse ab. Diese Abwicklung scheint jedoch meistens sehr schnell zu verlaufen und kann oft nicht wahrgenommen werden.

Die Länge der Inkubationszeit wächst mit absteigender Konzentration der Natronlauge, jedoch in keinem einfachen Verhältnis. Man muß, um die Kurve mathematisch berechnen zu können, die Inkubationszeit ausschalten, indem man den gegen die Abszisse konkaven Kurventeil in der Richtung der Abszisse verlängert und als Nullpunkt der Zeit den Kreuzungspunkt dieser extrapolierten Länge mit der Abszisse betrachtet.

Es wird zwar durch diesen Vorgang ein nicht unbedeutender, willkürlicher Faktor hineinkommen, aber wie ersichtlich werden wird, sind doch die Resultate dermaßen eindeutig, daß man gezwungen ist, anzunehmen, daß diese willkürliche Extrapolation keine wesentliche Rolle spielt. Die Kurve wird so eingezeichnet,

daß sie sämtliche gefundenen Punkte kreuzt, und von dem durch die Extrapolation gefundenen Nullpunkt der Zeit zu dieser Kurve werden die Zeiten für jedes Zehntel der Hämolyse interpoliert.

Die in dieser Weise gefundenen Werte¹⁾ sind.

Hämolyse Grad	Zeit in Minuten bei Konzentration der Natronlauge von			
	0,0100 n	0,0143 n	0,0167 n	0,0200 n
0,1	2,7	0,8	0,5	0,4
0,2	5,6	1,6	1,3	0,9
0,3	9,0	2,7	2,0	1,4
0,4	12,8	3,7	2,8	2,0
0,5	16,8	5,4	3,6	3,0
0,6	21,6	7,4	4,6	3,5
0,7	26,0	9,4	5,7	4,2
0,8	37,0	10,4	7,3	5,0
0,9	50,0	11,4	9,9	—

Zunächst muß man nun versuchen, die Ordnung der Reaktion, d. h. die Zahl der beteiligten Moleküle ausfindig zu machen.

Man untersucht dazu das Verhältnis der Konzentration zu der Zeit, in der ein bestimmter gemeinsamer Bruchteil der Hämolyse erreicht wird. Aus den gefundenen großen Unterschied zwischen den Zeiten kann man schließen, daß die Reaktionen erster und zweiter Ordnung ausgeschlossen sind.

Wenn ich nun die Reaktion dritter Ordnung versuche, so ergibt sich:

$$0,0100^2 = 0,01 \text{ n} = 1 \cdot 10^{-4}$$

$$0,0143^2 = \frac{1}{70} \text{ n} = 2 \cdot 10^{-4}$$

$$0,0167^2 = \frac{1}{60} \text{ n} = 3 \cdot 10^{-4}$$

$$0,0200^2 = \frac{1}{50} \text{ n} = 4 \cdot 10^{-4}$$

Die Quadrate der verschiedenen Konzentrationen verhalten sich somit ungefähr wie 1:2:3:4.

$$1 \text{ mal } 16,8 = 16,8$$

$$2 \text{ mal } 5,4 = 10,8$$

$$3 \text{ mal } 3,6 = 10,8$$

$$4 \text{ mal } 3,0 = 12,0$$

Die Übereinstimmung ist zwar keine ausgezeichnete, aber doch eine hinreichend gute, um für weitere Berechnungen zugrunde gelegt zu werden. Die Differentialformel für die Reaktion dritter Ordnung lautet:

$$\frac{dx}{dT} = k(a-x)(b-x)^2.$$

x ist hier der Grad der Hämolyse, und da dieser immer in Bruch-

¹⁾ Der Nullpunkt ist gleich dem bei der endlichen Berechnung gefundenen.

teilen der anwesenden Menge Hämoglobin ausgedrückt ist, ist a der in der Formel der Menge der Blutkörperchen und bedeutet gleich 1.

b ist die in Äquivalenteinheiten ausgedrückte Menge der Natronlauge, und da die Natronlauge nur eine Valens besitzt, müssen 2 Moleküle NaOH an der Reaktion beteiligt sein, wenn diese dritter Ordnung sein soll. Deswegen ist $b-x$ in die zweite Potenz erhoben. T ist die Zeit, k die Reaktionskonstante. Man kann nun versuchen, aus der Differentialgleichung eine Annäherung des Wertes b ausfindig zu machen, indem man den Differentialquotienten ohne weiteres gleich dem Quotienten irgend eines korrespondierenden Wertes für x und T setzt,

$$\text{also } \frac{x}{T} = k(1-x)(b-x)^2 \text{ oder}$$

$$\frac{1}{k} = \frac{T}{x} (1-x)(b-x)^2$$

und da k für alle Werte für x und T konstant ist,

$$\frac{1}{k} = \frac{T_1}{x_1} (1-x_1)(b-x_1)^2 = \frac{T_2}{x_2} (1-x_2)(b-x_2)^2$$

Hieraus ergibt sich

$$\frac{b-x_1}{b-x_2} = \sqrt{\frac{x_1(1-x_2)T_2}{x_2(1-x_1)T_1}}$$

woraus sich b berechnen läßt.

Diese Formel wird nur auf der Kurve von 0,01 n NaOH in Kurve 1 angewandt.

Nun ergibt sich, daß man auf diese Weise sehr wechselnde Werte von b findet, die von 0,1 bis 1 q¹ variieren; alle diese Werte sind aber negativ, indem der Wert unter dem Wurzelzeichen kleiner als 1 wird, wenn x_1 kleiner als x_2 genommen wird.

Wenn aber statt

$$\frac{b-x_1}{b-x_2} \quad \frac{b+x_1}{b+x_2}$$

geschrieben wird, bekommt man positive Werte von b .

Dies würde in der Differentialformel entsprechen:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)(b+x)^2.$$

Die chemische Bedeutung einer solchen Differentialformel ist, daß durch die Bindung von b an das Blutkörperchen ein Stoff erzeugt wird, der eine katalytische Beschleunigung der Reaktion bewirkt. Solche Reaktionen sind in der organischen Chemie nicht allzu selten.

Wenn diese Differentialformel integriert und die Integrationskonstante weggeschafft wird, bekommt man die Integralformel

$$(a+b)^2 k T = \ln \frac{a(b+x)}{b(a-x)} \cdot \frac{x(a-b)}{b(x+b)}$$

oder indem man den Tatsachen entsprechend $a=1$ setzt

$$(1+b)^2 k T = \ln \frac{b+x}{b(1-x)} \cdot \frac{x(1-b)}{b(b-x)}$$

Wenn ich nun mittels dieser Formel die Kurve von 0,01 n NaOH berechne, ergibt sich, wenn ich $b = 6$ setze und mittels der Konstante dieser einzelnen Formel [also $(a+b)^2k$ der ganzen Formel] gleich 0,0520 setze

$x =$	T gefunden	T berechnet
0,1	2,7	2,61
0,2	5,6	4,8
0,3	9	8,7
0,4	12,8	12,8
0,5	16,8	16,3
0,6	21	22,6
0,7	26	27,5
0,8	37	35,7
0,9	50	49,9

Die Übereinstimmung ist also eine sehr gute und fällt durchaus innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler; $(a+b)^2k$ ist also gleich 0,0520.

a ist gleich 1 und die Berechnung hat $b = 6$ ergeben, die Konstante muß also einen Wert haben, der 49mal kleiner ist, also 0,001063. Versuche ich nun aber mittels dieser Konstanten auch die Kurven von 0,0143, 0,0167 und 0,0200 zu berechnen, so ergibt sich, daß die entsprechenden Konstanten Werte von T geben, die überhaupt keinen Vergleich mit den gefundenen Werten gestatten, indem die Werte der Zeit viel zu klein werden, weil die Konstante zu klein wird.

Die Sache liegt so, daß das Verhältnis zwischen den Zeiten der Kurve für 0,01 n NaOH und den anderen Kurven in der Wirklichkeit ein viel größeres ist, als den Werten von NaOH entsprechen würde.

Wenn man von jedem Betrag der Natronlänge 0,0040 n subtrahiert, erhält man folgende Zahlen:

Ursprüngliche Menge der Natronlänge		0,0143	0,0167	0,0200				
$\div 0$	0,0100 n	0,0040	0,0040	0,0040				
	0,0040 n	<u>0,0040</u>	<u>0,0040</u>	<u>0,0040</u>				
	0,0060 n	0,0103	0,0127	0,0160				
Aquivalent- zahl } $b = 6$		16,3	12,7	16				
$(a+b)^2 k = 0,0520$		0,1360	0,2000	0,3280				
x	T gef.	T ber.	T gef.	T ber.	T gef.	T ber.	T gef.	T ber.
0,1	2,7	2,61	0,8	0,9	0,5	0,5	0,4	0,4
0,2	5,6	4,8	1,6	1,9	1,3	1,3	0,9	0,8
0,3	9,0	8,7	2,7	3,0	2	2,0	1,4	1,2
0,4	12,8	12,2	3,7	4,3	2,8	2,9	2,0	1,7
0,5	16,8	16,3	5,4	5,7	3,6	3,8	3	2,4
0,6	21,6	22,3	7,4	7,6	4,6	5,0	3,5	3,0
0,7	26,0	27,5	9,4	9,8	5,7	6,5	4,2	4,2
0,8	37,0	35,6	10,4	13,0	7,3	8,1	5	5,6
0,9	50,0	49,9	11,4	17,5	9,9	12,2		7,9

In der Kurve 1 sind die berechneten Werte als Kurven ausgezogen, die tatsächlich gefundenen sind als kleine Kreise eingezeichnet.

Die Übereinstimmung ist eine recht gute, wenn man die Unsicherheit in der Zeitbestimmung und die nicht sehr genaue colorimetrische Bestimmung des Hämolysegrades bedenkt.

Doch zeigt es sich, daß vom Hämolysegrad 0,8 an bei den stärkeren Konzentrationen von NaOH die Hämolyse erheblich schneller abläuft, als die Formel es zuläßt, und nicht den asymptotischen Verlauf zeigt, den man eigentlich hätte erwarten müssen.

Um das Zulässige der Subtraktion von 0,40 von der Natronlauge zu erklären, möchte ich noch folgendes bemerken.

Die Subtraktion kann augenscheinlich nur dann berechtigt sein, wenn das bestimmte Quantum von 0,0040 n NaOH zunächst an irgend einem Bestandteil der gleichen Menge der 5%igen Blutkörperchenemulsion gebunden wird. Theoretisch läßt sich vieles zugunsten dieser Annahme anführen, obwohl der praktische Versuch, der dies beweisen müßte, sich ziemlich schwierig gestalten würde. Es möge deshalb zunächst ausgeführt werden, daß schon Arrhenius eine solche Bindung von NaOH, die keinen Teil an der Hämolyse nimmt, konstatiert hat.

Man konnte sich zunächst denken, daß irgend ein Bestandteil des Blutkörperchenstromata eine große Affinität zu der Natronlauge besitze, daß aber diese Verbindung ohne Bedeutung für die Hämolyse sei. Diese Annahme ist wohl nicht auszuschließen, scheint mir aber nicht sehr wahrscheinlich zu sein. Ich möchte vielmehr annehmen, daß es Reste des Serumeiweißes sind, die für diese Erscheinung verantwortlich sind. Entweder liegt die Sache ganz einfach so, daß das zweimalige Waschen nicht hinreichend gewesen ist, um das Serumeiweiß zu entfernen, oder man kann sich denken, daß die Blutkörperchen, die als feste Phasen in dem eiweißhaltigen Serum zu betrachten sind, die umgebenden Eiweißteilchen absorbieren und sich so mit einer Haut von Eiweiß umhüllen, die zunächst von der Natronlauge durchbrochen werden muß, damit diese in das Blutkörperchen dringen und daselbst Hämolyse bewirken kann. Wäre dies der Fall, so würden sehr viele Waschungen nötig sein, um diese Eiweißmembran zu beseitigen.

Es liegen auch Beobachtungen in diesem Sinne vor, da Atkins fand, daß in gut gewaschenen Blutkörperchen öfters

spontane Agglutination stattfindet, die durch heftiges Schütteln zwar zu lösen ist, aber dann Hämolyse hervorruft. Wahrscheinlich ist diese Beobachtung so aufzufassen, daß das Eiweiß des Serums als Schutzkolloid den Blutkörperchen gegenüber auftritt, und daß, wenn dieses mechanisch entfernt wird, sich die Blutkörperchen nicht mehr in Suspension halten können, sondern in größeren Klumpen ausfallen. Das gebildete Alkalbuminat kann dagegen die Rolle als Schutzkolloid übernehmen, denn eine Agglutination tritt bei der Hämolyse mittels Natronlauge in den von mir angewandten Konzentrationen nicht auf; Acidalbuminat dagegen, das durch Salzsäure gebildet wird, kann nicht als Schutzkolloid wirken, denn Salzsäure agglutiniert die Blutkörperchen rasch und vollständig.

Wenn man dagegen einen großen Überschuß von Alkali anwendet, so werden die Blutkörperchen für eine kurze Zeit agglutiniert, bevor sie vollständig aufgelöst werden. Alkalbuminat, das mit einem großen Überschuß von Alkali gebildet wird, ist ja auch ein viel leichter lösliches und viel weiter zersetztes Gebilde als ein mit wenig Alkali gebildetes.

Man kann nun auch die Bindung der Natronlauge an die Blutkörperchen untersuchen, wenn man das Blutkörperchensediment nach dem in dem technischen Abschnitt beschriebenen Verfahren behandelt.

Es hat sich nun herausgestellt, daß die Kurve, die man auf diese Weise erhält, mit der Hämolysekurve durchaus analog ist. Sie folgt der hämolysischen Kurve genau parallel in einem größeren oder kleineren Abstand, der mit der Konzentration der Natronlauge und Temperatur schwankt.

Man ist also nach dem oben Gesagten berechtigt anzunehmen, daß die Hämolyse durch Natronlauge eine chemische Bindung zwischen den Hydroxylionen der Natronlauge einerseits und irgend einem Bestandteil des Blutkörperchens andererseits ist, die der Formel entspricht: $\text{Bl} \begin{array}{c} \text{—OH} \\ \text{—OH} \end{array}$.

Das Resultat dieser Bindung ist die Bildung eines löslichen Stoffes, der das Hämoglobin ohne weiteres in die Flüssigkeit heraustreten läßt.

b) Hämolyse durch hämolytisches Serum.

Das Serum wurde gewonnen durch Einspritzung von gewaschenen Pferdeblutkörperchen in die Bauchhöhle eines Kaninchens. Es wurde bei $56^{\circ} \frac{1}{2}$ bis 1 Stunde erhitzt, um das in demselben befindliche Komplement zu beseitigen; als Komplement wurde frisches Meerschweinchenserum benutzt, und zwar in verschiedenen abgestuften Mengen.

Die Versuche ergaben zunächst die Tatsache, daß es ohne Bedeutung für die Reaktionsgeschwindigkeit ist, ob Amboceptor und Komplement nacheinander oder zur selben Zeit mit den Blutkörperchen gemischt werden. Deswegen ist immer eine Mischung von Amboceptor und Komplement den Blutkörperchen zugesetzt worden.

Im übrigen ist die Technik dieselbe wie früher.

Versuche, die Geschwindigkeit der Bindung von Blutkörperchen und Amboceptor zu erforschen, sind sämtlich gescheitert. Die Bindung erfolgt so schnell, daß in den 1 bis 2 Minuten, die zum Zentrifugieren nötig sind, der Amboceptor mehr oder weniger vollständig an das Blutkörperchen gebunden ist, und es ist niemals gelungen, eine charakteristische Kurve zu erhalten.

Ganz anders liegt die Sache, wenn die Bindung des Komplements und die Hämolyse untersucht werden. Die Bindung geht hier bedeutend langsamer vor sich und kann sehr gut verfolgt werden. Die Kurve verändert sich, wie gesagt, nicht merklich, wenn Amboceptor, Komplement und Blutkörperchen in verschiedener Reihenfolge gemischt werden.

Geradeso wie bei der Hämolyse mit Natronlauge ist auch bei der durch hämolytisches Serum eine Incubationszeit vorhanden, die mit der Konzentration des Komplements schwankt. (Die Mengen des Amboceptors und der Blutkörperchen sind konstant gehalten.) Auch hier ist es nicht möglich gewesen, einfache Relationen zwischen der Länge der Inkubationszeit und dem Komplementgehalt der Flüssigkeit zu ermitteln.

Deshalb ist auch hier die Kurve von dem Wendepunkt ab gegen die Abszisse extrapoliert worden und der Kreuzungspunkt ist als Nullpunkt der Zeit betrachtet. (Kurve 2.)

Es hat sich auch hier gezeigt, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit dem Gehalt der Flüssigkeit an Blutkörperchen schwankt, und daß somit eine Reaktion erster Ordnung auszuschließen ist.

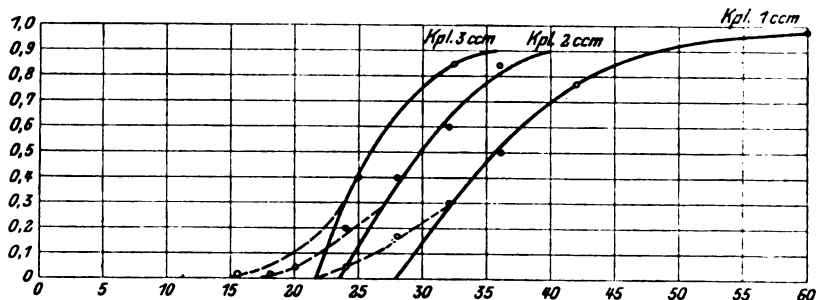


Fig. 2.

Nun hat aber Henri gefunden, daß die Gleichung erster Ordnung, auf die Kurve angewandt, recht gute Konstanten gibt. Dies ist auch der Fall. Aber dennoch kann die Gleichung nicht erster Ordnung sein, denn die Konstanten wollen sich in kein einfaches Verhältnis zu der Konzentration des Komplements bringen lassen, und die Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit zugleich mit der Blutkörperchenkonzentration ist auch ein deutliches Zeichen in derselben Richtung.

Um die Molekülzahl zu bestimmen, werden zunächst die korrespondierenden Zeiten eines bestimmten Hämolysegrades untersucht.

Hämolysegrad	Komplementgehalt.		
	3.	2.	1,5.
0,3	2,4 Min. (4,8)	3,6 Min. (4,8)	5 Min.
0,4	3,6 " (7,2)	5,0 " (6,4)	6,8 "
0,5	4,8 " (9,6)	7,2 " (9,6)	8,1 "
0,6	6,4 " (12,8)	9,6 " (12,8)	11,1 "
0,7	8,0 " (16,0)	11,0 " (14,6)	13,9 "
0,8	9,8 " (19,6)	13,0 " (17,3)	17,3 "
0,9	12,4 " (24,8)	15,8 " (21)	23,4 "

Ich habe in Parenthese die Zahlen gesetzt, die das Produkt von Komplementgehalt und Zeit darstellen. Es zeigt sich, daß für jeden Grad der Hämolyse diese Zahlen annähernd konstant sind!

Die Zeit ist also umgekehrt proportional der ersten Potenz der Konzentration. Die Reaktion ist von der zweiten Ordnung.

Um nun die Sache genauer zu berechnen, wird zunächst die Differentialformel untersucht:

$$\frac{dx}{dT} = k(a-x)(b-x) \text{ oder}$$

$$\frac{x}{T} = h(a-x)(b-x), \text{ woraus sich ergibt}$$

$$\frac{b-x_1}{b-x_2} = \frac{x_1 T_2 (a-x_2)}{x_2 T_1 (a-x_1)}.$$

Gerade wie die bimolekulare Formel für NaOH gibt auch diese Formel negative Werte für B. Man muß also auch hier eine Beschleunigung der Reaktion durch die gebrachten Reaktionsprodukte annehmen und die Formel aufstellen:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)(b+x),$$

was integriert und nach Fortschaffung der Integrationskonstante gibt:

$$(a+b)kT = \ln \frac{a(b+x)}{b(a-x)} \text{ oder da } a=1$$

$$(1+b)kT = \ln \frac{b+x}{b(1-x)}.$$

Wenn ich nun diese Formel auf die Kurven in Kurve 2 anwende, ist die Übereinstimmung, wie gezeigt, eine sehr gute. Der gestreckte Verlauf der bimolekularen Kurven tritt auch in der Reaktion deutlich hervor. Auch das Verhältnis der Reaktionskonstante entspricht der Gleichung.

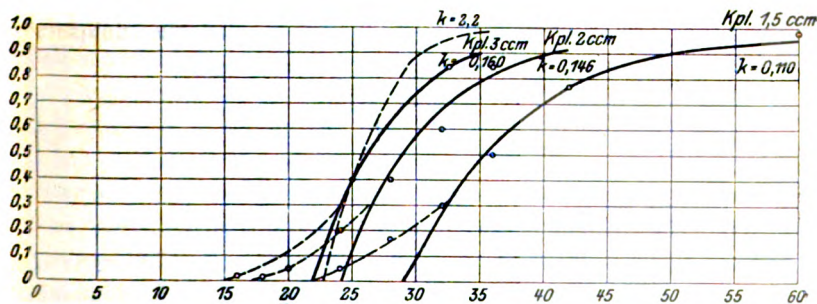


Fig. 3.

Zum Vergleich gebe ich in Kurve 3 denselben Versuch nach der monomolekularen Formel berechnet. Für den Versuch mit der kleinsten Komplementmenge ist die Übereinstimmung keine schlechte, und man muß gestehen, daß die Übereinstimmungen sich innerhalb der möglichen Versuchsfehler bewegen.

Für die Kurve mit 2ccm Kpl. ist die Übereinstimmung schon eine viel schlechtere und läßt sich schwerlich durch die Versuchsfehler erklären. Die Konstante ist auch hier die theoretisch richtige, nämlich der Konzentration proportional.

Der dritte Versuch läßt sich dagegen nicht in Übereinstimmung mit der Theorie unter den monomolekularen Reaktionsverlauf bringen; entweder muß man der Konstanten oder dem Reaktionsverlaufe so stark Gewalt antun, daß die ganze Sache ohne jeden Sinn wird.

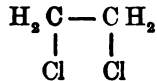
Auch läßt sich schwer die Annahme einer monomolekularen Bindung durch die biologischen Tatsachen erklären.

Sehr eigentümlich ist es nun, daß die Hämolyse durch Natronlauge 2 Moleküle NaOH beansprucht, während die Hämolyse durch hämolytisches Serum nur 1 Molekül nötig hat. Nun könnte man es sich zwar so vorstellen, daß das Komplement zwei Valenzen besitzt, die gesättigt werden sollen; dann bleibt für den Amboceptor keine Stelle mehr frei, und es ist auch nicht sehr wahrscheinlich, daß das Komplement geradeso wie Natronlauge auf die Blutkörperchen wirken soll.

Man muß nun die Tatsache ins Auge fassen, daß das Blutkörperchen zunächst durch den Amboceptor präpariert werden muß, wenn es das Komplement binden soll, um nachher aufgelöst zu werden.

Ich möchte mir diese Tatsache so vorstellen, daß es in dem Blutkörperchenstroma ein Molekül gibt, das etwa wie Äthylen $H_2C=CH_2$ eine doppelte Bindung besitzt.

Wenn nun Äthylen mit einem Stoffe mit starker Affinität versetzt wird, zum Beispiel mit Chlor, so wird die doppelte Bindung gesprengt, und es wird Äthylendichlorid



gebildet. Die Natronlauge wirkt meiner Anschauungsweise nach ungefähr in ähnlicher Weise auf die Blutkörperchen. Sie zersprengt die doppelte Bindung, so daß zwei Affinitäten frei werden, die dann beide mit NaOH gesättigt werden. Diese Verbindung ($Bl + 2NaOH$), oder vielmehr $Bl + (OH)_2$ — denn in den angewandten Verdünnungen ist die Natronlauge praktisch vollständig dissoziiert — ist löslich, und das Blutkörperchen wird in der Natronlauge gerade wie ein Eiweißpartikelchen oder ein Fibrincoagulum gelöst.

Das Komplement besitzt aber keine hinreichende Affinität, um mit dem Blutkörperchen in Verbindung zu treten. Es kann nämlich die Doppelbindung nicht zersprengen, sondern der Weg muß ihm erst gebahnt werden und die Affinität in Freiheit

gesetzt werden. Damit es eine Verbindung mit dem Blutkörperchen eingehen kann.

Der Amboceptor dagegen bildet keine lösliche Verbindung mit dem Blutkörperchen, kann somit allein keine Hämolyse zustande bringen. Seine Affinität zu dem Blutkörperchen ist aber eine sehr große (er wird auch äußerst schnell gebunden), und zwar groß genug zur Zerspaltung der Doppelbindung in dem Blutkörperchen. Das Blutkörperchen, das von den Amboceptoren besetzt ist, hat also die Schutzwirkung gegen das Komplement verloren, so daß es jetzt freie Affinitäten genug besitzt, um an das Komplement gebunden und nachher davon befreit zu werden.

Ich könnte dies auch durch eine Formel ausdrücken:



Diese Anschauungsweise erklärt es auch, weshalb die Amboceptoren und die Blutkörperchen in keinem stöchiometrischen Verhältnis gebunden werden. Die Amboceptoren lösen eben nur die Doppelbindungen, wo sie sie finden. Diese Doppelbindungen können ja in viel größerer Menge vorhanden sein, als zur Bildung der kompletten Hämolyse der Komplement-Blutkörperchenverbindung nötig ist. Je mehr solche gelösten Doppelbindungen nun vorhanden sind, desto schneller geht die Reaktion vor sich; je mehr von dem Amboceptor zugesetzt wird, desto schneller verläuft auch die Reaktion.

Der Amboceptor ist somit kein eigentlicher Amboceptor, da er nach dieser Anschauungsweise überhaupt nicht in direkte Verbindung mit dem Komplement tritt. Seine Spezifität wird aber durch diese Theorie wenn nicht erklärt, so doch in ihrer Notwendigkeit angedeutet. Denn eine sehr genaue Anpassung muß ja nötig sein, um in die komplizierten Moleküle des Blutkörperchens einzudringen. Dagegen wird eine solche Anpassung nicht nötig sein, um die freie Affinität zu sättigen, weswegen auch eine Spezifität des Komplementes nicht nötig ist.

Die Bildung des Amboceptors durch die Immunisierung wird auch nach Ehrlichs Seitenkettentheorie stattfinden. Der Receptor wird von dem Molekularkomplex, der die Doppelbindung enthält, gebildet, muß aber zunächst durch den Ambo-

ceptor fertig gemacht werden, um in Funktion treten zu können.

Ein Phänomen, das sich durch die hier skizzierte Theorie besser als durch die früheren erklären läßt, ist das Neisser-Wechsbergsche, das darin besteht, daß sehr große Mengen von Amboceptor die Hämolyse hemmen, statt sie zu beschleunigen. Bei der Hämolyse ist das Phänomen nur sehr selten beobachtet worden. Ich habe es einmal beobachtet, als frisch gewonnenes Immenserum in $\frac{1}{40}$ -Verdünnung nur geringe Hämolyse verursachte, dagegen in $\frac{1}{30}$ - bis $\frac{1}{200}$ -Verdünnung die Blutkörperchen komplett in Lösung brachte. Auch Arrhenius gibt einen derartigen Fall an.

Ich stelle mir die Sache so vor, daß der Amboceptor, wenn er in gewissem Überschuß vorhanden ist, die beiden Affinitäten des Blutkörperchenreceptoren besetzen kann. Dann behindert er das Komplement, so daß dieses nicht an den Receptor herankommen kann; folglich kann keine Hämolyse stattfinden.

Ich glaube voraussagen zu können, daß die komplizierten Phänomene der Hämolyse durch diese Auffassungsweise etwas geklärt werden können.

Somit ist die physikalische Chemie der Hämolyse kein so hoffnungsloses Durcheinander, wie es Manwaring am Schlusse seiner Abhandlungen ausspricht. Sie liefert vielmehr recht beachtenswerte Ergebnisse und kann, wenn gewisse Kautelen gegeben sind, recht eindeutige Resultate liefern. Ich glaube, daß die unsicheren Ergebnisse, die auf diesem Wege gewonnen sind, wenigstens teilweise daher rühren, daß man Endresultate statt Geschwindigkeiten berücksichtigt hat. Die hämolytischen Prozesse klingen in den schwächeren Konzentrationen des hämolytischen Agens allmählich asymptotisch ab und es können vielfach Stunden, ja Tage verlaufen, ohne daß die Reaktion abgeschlossen wird. Allmählich geht sie dann in die spontane Zersetzung der Blutkörperchen über und entzieht sich so der näheren Beobachtung.

Dies ist ja auch sehr natürlich, wenn man bedenkt, daß nach der Differentialformel der Reaktionsgeschwindigkeit

$$\frac{dx}{d\tau} = k(a - x)(b + x)^2 \text{ oder } = k(a - x)(b + x)$$

die Reaktion durch die Bildung der Reaktionsprodukte beschleunigt wird. Die Kurven zeigen, daß in der ersten Zeit der Reaktion die Kurve einen fast geradlinigen Verlauf nimmt, um nachher umzubiegen und asymptotisch weiter zu gehen. Wenn nun die Reaktion so langsam sich abwickelt, daß die Kurve sehr schräg gegen die Abszisse ihren Weg nimmt, wird sie fast geradlinig verlaufen, und wenn erst die Inkubationszeit zu Ende ist, wird sie beinahe proportional mit der Zeit zunehmen. Dies kann man auch beobachten, wenn man eine solche Reaktion, die z. B. durch schwache Natronlauge hervorgerufen ist, durch Erwärmen beschleunigt. Man bekommt dann, selbst wenn die Hämolyse nach Stunden scheinbar stillgestanden hat, eine erhebliche Beschleunigung derselben, ein sicherer Beweis dafür, daß das Gleichgewicht noch nicht erreicht ist.

Schließlich möchte ich noch einer etwaigen Einwendung begegnen, der nämlich, daß die hier beobachteten Kurven gar nicht Kurven der chemischen Reaktionen seien, sondern nur ein Maß für die Geschwindigkeit sind, mit welcher die Natronlauge bzw. das Komplement in die Blutkörperchen hineindiffundiert.

Gegen eine solche Einwendung läßt sich folgendes erwidern:

Erstens die Gesetzmäßigkeit der Kurven. Die Diffusionskurven verlaufen nach einer einfachen monomolekularen Formel:

$$\frac{dx}{d\tau} = k(a - x),$$

während die hier gegebenen Kurven der Formel der tri- oder bimolekularen Reaktion folgen.

Zweitens hat Arrhenius gefunden, daß die Temperaturschwankungen der Geschwindigkeit dem Gesetz für chemische Reaktionen folgen und nicht dem Diffusionsgesetze.

Drittens sind die Blutkörperchen so klein und haben im Verhältnis zu ihrer Masse eine so kolossale Oberfläche, daß die Diffusion bis in die Mitte des ca. 1 μ dicken Blutkörperchens kaum eine meßbare Zeit beanspruchen würde, besonders da es sich außerdem teilweise um Hydroxylionen handelt, deren Diffusionsgeschwindigkeit überall eine besonders große ist.

Noch mehr spricht aber gegen diese Auffassung das Ergebnis meiner Versuche über die Reversibilität der hämolytischen Prozesse, die später mitgeteilt werden sollen.

Ob aber die von mir gefundenen Gesetzmäßigkeiten nur bei der Kombination Pferdeblutkörperchen-Kaninchenserum Geltung haben oder ob ihnen vielleicht eine allgemeinere Geltung zukommt, muß vorläufig dahingestellt werden.

Literatur.

- Arrhenius, *Immunochemie*. Leipzig 1907.
Asher-Spiro, *Ergebnisse der Physiologie* 8, 1908.
Henri, *Compt. rend. de la Société biologique* 1908.
Manwaring, *Centralbl. f. Bakt.* 40, 42 und 43.
Atkins, *Zeitschr. f. Immunitätsforschung* 1.
-

Zur Theorie der Desinfektion.

I. Abhandlung.

Die Desinfektionswirkung des Phenols. I.

Von

Heinrich Reichel.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität in Wien.)

Mit 1 Kurvenfigur im Text.

Einleitung.

Trotz der ausgedehnten praktischen Anwendung der Desinfektion in Chirurgie und Seuchenbekämpfung, ist das wesentliche Verständnis der zugrunde liegenden Vorgänge noch wenig vorgeschritten. Die wichtigsten diesbezüglichen Arbeiten — von Scheurlen (1, 2), Spiro (2, 3, 4), Paul und Krönig (5) — liegen heute um mehr als ein Jahrzehnt zurück, ohne daß es ihnen gelungen wäre, das so erfolgreich aufgenommene Thema in Diskussion zu erhalten. Und doch ist die Frage nach den zureichenden Bedingungen des Zelltodes unstreitig eines der Grundprobleme aller Biologie und Medizin. Auf die künstliche Herstellung der Bedingungen des Lebens haben wir bis auf weiteres verzichtet, und diese Beschränkung hat sich heuristisch ebenso bewährt, wie in anderen Wissenschaften der Satz von der Konstanz der Elemente und von der Unmöglichkeit eines Perpetuum mobile. Die künstliche Aufhebung der Lebensbedingung im wissenschaftlichen Versuch bildet aber ein wichtiges Mittel zu ihrer Erkennung und Beschreibung, welche immer die wertvollste Grundlage für die Möglichkeit ihrer Beeinflussung bleiben wird.

Es gibt nun kaum ein besseres Objekt, die Naturgeschichte des Todes direkt zu studieren, als jene einzelligen Lebewesen,

die Bakterien, deren Tötung wir im Interesse unserer eigenen Lebenserhaltung anstreben. Denn, während eine beobachtete Bewegungshemmung noch keineswegs den Tod einer Zelle beweist, während eine tiefergehende Strukturstörung für denselben nicht erforderlich ist, und die wirksamen Prinzipien der chemischen Lebenstätigkeit, die Fermente, immer mehr als vom Leben trennbar erkannt werden, bleibt das bei den Einzellern feststellbare Fehlen der Fähigkeit, sich unter dazu geeigneten Bedingungen fortzupflanzen, ein entscheidendes Kriterium des eingetretenen Todes. Schon die praktische Bedeutung der Versuche über Desinfektionswirkung verlangt aber, daß der Beweis hierfür mit aller erreichbaren Genauigkeit erbracht werde: eine ausreichende Anzahl von Rassen oder Stämmen der untersuchten Bakterienart, eine enorme Anzahl von Individuen derselben, und eine Häufung gleichartiger Versuche sollen die Wahrscheinlichkeit der tödenden Wirkung zu praktischer Sicherheit erheben; die Vermeidung oder Beseitigung wachstumhemmender Substanzen, die Einhaltung der als am günstigsten bekannten Fortpflanzungsbedingungen und die weitestgehende Sicherung durch Kontrollversuche müssen Täuschungen vermeiden helfen. Umgekehrt könnte aber auch die genauere Kenntnis der Vorgänge und Bedingungen nicht ohne entscheidende Wirkung für Richtung und Maß der praktischen Desinfektionsbestrebungen bleiben, wie ja schon in vielen Fragen erst die wissenschaftliche Durchdringung die Befreiung von roher Empirie der Methodik gebracht hat.

Manche der bekanntesten tödlichen Einflüsse bieten dem Verständnis allerdings keine besondere Schwierigkeit: mechanische Zertrümmerung, thermische Lebensvernichtung durch die irreversible Zustandsänderung der Eiweißkoagulation, dann auch einschneidende chemische Wirkungen wie Spaltung oder Bindung der Eiweißkörper und anderer lebenswichtiger Stoffe. Weniger klar sind die tödlichen Wirkungen, die an Quellungs- und Entquellungs Vorgänge geknüpft sind, wie sie unter dem Einfluß von Änderungen des osmotischen Druckes, durch Zusammenwirken von Druck-, Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnissen, aber auch durch die sogenannten mechanischen Affinitäten chemischer Stoffe zustande kommen können. Die Giftwirkung zahlreicher körperfremder Substanzen beruht auf einer Störung unentbehr-

licher chemischer Lebenstätigkeiten, wie Atmung und Ernährung, auf welchem Gebiete wichtige Erkenntnisfortschritte, z. B. Jacques Loeb's Ergebnisse, in unserer Zeit gemacht wurden und noch zu hoffen sind. Auch können chemische und physikalische Momente einander wesentlich in ihrer tötenden Wirkung beeinflussen, was nur zum Teil auf bekannte Gesetzmäßigkeiten, z. B. den Einfluß der Temperatur auf den Ablauf chemischer Reaktionen zurückgeführt werden kann.

Die Bedingungen des Zelltodes können demnach auch bloß für chemische Agenzien betrachtet noch sehr verschiedenartig sein, so daß der Versuch einer einheitlichen Erklärung — wie ein solcher für andere physiologische Wirkungen chemischer Stoffe möglich ist und beispielsweise in der bekannten Narkosetheorie von Overton und Meyer tatsächlich bereits vorliegt — für unsere Verhältnisse aussichtslos erscheint. Immerhin ist eine Einteilung in zwei große Gruppen möglich: auf der einen Seite müssen irreversible Zustandsänderungen verschiedenster Art bei einer bestimmten Grenze ihres Ablaufes die Lebensmöglichkeit aufheben, auf der anderen Seite können reversible Gleichgewichtszustände bei einer bestimmten Grenze ihrer Werte auf verschiedene — direkte oder indirekte Weise — das Aufhören des Lebens bedingen.

Es tut also not, im einzelnen Falle den wesentlichen Vorgang zu kennen, um seine treibende Kraft eben für diesen Fall als Desinfektionskraft zu definieren. Es ist klar, daß es unter diesen Umständen mehr einem vagen Vergleiche als einer mathematischen Beziehung entspricht, die Desinfektionskraft verschiedener Agenzien zueinander in ein Verhältnis zu setzen, wobei meist gleiche Kraft bei Abtötung in gleicher Zeit angenommen wird.

Im einzelnen betrachtet erscheint nun die Wirkungsweise der Mehrzahl unserer gebräuchlichsten chemischen Desinfektionsmittel als recht ungeklärt. Die Wirkung giftiger Salze — wie HgCl_2 — konnte von den eingangs genannten Autoren (2, 5) mit großer Wahrscheinlichkeit auf deren elektrolytische Dissoziation, und somit auf echte chemische Reaktionen zurückgeführt werden. Dieser Fall wäre demnach zu der ersten der genannten Gruppen zu zählen, denn die starke Affinität zwischen Hg-Ion und den Eiweißkörpern muß zu einer — praktisch —

irreversiblen Reaktion führen, deren Produkte eine weitere Lebensfähigkeit offenbar nicht besitzen. Später hat Clark (6) gefunden, daß sehr geringe NaCl-Konzentrationen die Wirksamkeit von HgCl_2 nicht — wie größere durch Ionisationsrückdrängung — abschwächen, sondern verstärken, was er auf ein hypothetisches Ion HgCl_4^- bezieht.

Jedenfalls könnte aber als Maß der Desinfektionskraft hier nur die aktive Masse der wirksamen Ionen gelten, und nicht der neuerdings von Madsen und Nejmann (7) aus den Versuchen Pauls und Krönigs (5) hierfür errechnete Begriff der „Desinfektionsgeschwindigkeit“, als welche dort die Zahl der in der Zeiteinheit getöteten Keime erscheint. Die Tatsache dieses nur allmählichen Abnehmens der Anzahl lebensfähiger Keime kann nur auf individuellen Resistenzunterschieden oder auf ungleichmäßiger Verteilung der Keime in der Flüssigkeit beruhen. In beiden Fällen erscheinen aber die zeitlich aufeinanderfolgenden Abtötungsvorgänge nicht gleichartig, wodurch die Anwendbarkeit einer Betrachtung des Gesamtvorganges als stetige Zeitfunktion ausgeschlossen ist.

Als Desinfektionsvorgang darf für theoretische Erörterungen nur die Abtötung aller gleichmäßig verteilten,¹⁾ maximal resistenten Individuen gelten, so daß weder eine zeitliche Gliederung des Prozesses — wie sie die genannten Autoren versuchen — noch eine quantitative Abstufung seiner Endwirkung möglich erscheint. Eine zeitliche Gliederung des Prozesses wäre nur denkbar, wenn die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens eines lebenden Keimes mit der wirksamen Masse des Desinfiziens nicht für alle Keime gleichgroß wäre, was in einer homogenen Flüssigkeit nur für Teilchen von kommensurabler Zahl und Größe, wie zwei Molekülarten, nicht aber für Keime und Moleküle zutreffen kann.

Auch in der Richtung quantitativ abgestufter Wirkung liegen Versuche vor, die zwar interessante Analogien darbieten, aber keinesfalls eine Identifizierung mit der echten — tötenden — Desinfektionswirkung gestatten. So hat Bial (8) bei Unter-

¹⁾ Für die praktische Anwendung der Desinfektion muß auch noch die ungleichmäßige Verteilung berücksichtigt werden, da diese auch in der Natur zweifellos vorkommt (Schüder, Zeitschr. f. Hygiene 39, 379, 1901).

suchung über die Hefegärhemmung der Säuren tatsächlich einen Parallelismus der Wirkung mit den H-Ionen festgestellt. Auch hier wirken Neutralsalze entsprechend ihrem Einfluß auf die H-Ionendissoziation, wobei jedoch wieder NaCl die bemerkenswerte Ausnahme macht, die Wirkung von HCl zu verstärken, was als katalytische Wirkung der Cl- auf die H-Ionen aufgefaßt wird.

Maillard (9), der den Einfluß von Cu-Ionen auf die Wachstumsfähigkeit von Schimmelkulturen untersuchte, trachtet den sonst möglicherweise störenden Einfluß der Geschwindigkeit der Diffusion des Giftes in die Zelle durch Beobachtung nach langer Zeit (5 Wochen) zu vermeiden und findet so einen ausgesprochenen Parallelismus zwischen steigendem Cu-Gehalt und fallendem Gewicht der Kultur.

Der Wirkungsweise des Phenols, des chemisch einfachsten und historisch ältesten Vertreters einer großen Gruppe desinfizierender Stoffe, wurde zuerst von Rob. Koch Interesse entgegengebracht. Nachdem derselbe (10) die überraschend geringe Wirksamkeit öligiger und alkoholischer Phenollösungen festgestellt hatte, untersuchten auf seine Anregung Wolffhügel und v. Knorre (11) das Verhalten öligiger und wässriger Carbolösungen gegenüber reinem Wasser bzw. Öl. Es ergab sich, daß der Gehalt des Wassers an Phenol nach 24 Stunden immer weit geringer war als der des Öles, und es läßt sich aus den Versuchen folgern, daß der Phenolaustausch vom Wasser zum Öl rascher erfolgte als vom Öl zum Wasser, da in jenem Falle ein übereinstimmender Gleichgewichtszustand bei verschiedenen Phenolgehalten zu erreichen war, in diesem — binnen 24 Stunden — nicht. Die Autoren erblicken in diesen Feststellungen keine befriedigende Aufklärung der Unwirksamkeit des Phenols, solange das Verhalten der Mikroorganismen selbst unbekannt ist. Sie glauben aber auch schließen zu sollen, daß „die Berechnung der Teilungskoeffizienten keine klare Vorstellung hinsichtlich des Einflusses der Flüssigkeitsmengen auf die Verteilung geben kann“.

Von den späteren Untersuchern wurde in der Tatsache der starken Beeinflussbarkeit der Phenolwirkung durch Zusätze der Angelpunkt ihrer Erklärung erkannt. Als erster hat Scheurlen (1) auf die Steigerung der Phenolwirkung durch

NaCl hingewiesen und gleichzeitig die wichtige quantitative Feststellung beigebracht, daß eine 1% ige Phenollösung, die so viel NaCl enthält, als ohne Trübung möglich ist, „fast ebenso“ wirksam sei als konzentrierte Phenollösung. Den ersten Erklärungsversuch durch die Annahme einer Änderung der Hydratwasserbindung ließ der Autor in seiner Arbeit mit Spiro (2) fallen, der vielmehr die Analogie zu den Aussalzungserscheinungen hervorhob und den nicht chemisch-ionalen, sondern „mechanisch“-molekularen Charakter dieser Desinfektionswirkung betonte. Inzwischen waren durch Beckmann (12), dann auch durch Paul und Krönig (5) die wesentlichen Tatsachen bestätigt worden, ohne daß eine Erklärung versucht worden wäre. Weyland (13) kam zu gleichem Ergebnis, erblickte aber eine Erklärung in der angeblich mit diesen und fast allen Desinfektionswirkungen parallel gehenden Eiweißfällung; nur sollen manche Fällungsmittel nicht wirken können, weil sie nicht einzudringen vermögen. Römer (14) schloß sich dieser Auffassung an und bringt als Stütze einen Versuch, in dem Vorbehandlung der Keime mit NaCl den Effekt noch zu erhöhen scheint, woraus auf Schädigung der Hüllen durch das NaCl geschlossen wird. Spiro und Bruns (3) können eine solche Nachwirkung von NaCl nicht finden; sie weisen jene Erklärung zurück und bringen wesentliche Stützen für die früher von Spiro (4) im Rahmen verwandter Erscheinungen ausführlich begründete Auffassung bei, daß es die Lösungsverhältnisse, insbesondere die Verschiebung der Verteilungsgleichgewichte der Phenolkörper seien, welche die Veränderung der Desinfektionskraft durch Zusätze beherrschen. So wird Brenzkatechin durch NaCl nicht, wohl aber durch Na_2SO_4 und $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sowohl ausgesalzen als auch in seiner desinfektorischen Wirkung verstärkt. Harnstoff und Glycerin sind auf Phenol in beiden Richtungen wirkungslos, die Salze NaCl, KCl, NaBr, NaJ, NaNO_3 ordnen sich nach beiden Wirkungen in dieselbe Reihenfolge (Lyotropie, Einfluß auf den Binnendruck des Lösungsmittels¹⁾). Alkohol, der selbst ein besseres Lösungsmittel als Wasser für Phenol vorstellt, vermindert die Desinfektionskraft.

In der dargelegten Auffassung Spiros von der Art der Wirksamkeit der Phenole ist zunächst die Annahme von all-

¹⁾ S. a. H. Freundlich, Capillarchemie. Leipzig 1909.

gemein biologischem Interesse, daß überhaupt Verteilungsgleichgewichte — die ja andere Lebenszustände wie die Narkose vorwiegend zu beherrschen scheinen — auch als maßgebende Bedingungen des Zelltodes auftreten können. Freilich könnte nach den bisherigen Feststellungen auch angenommen werden, daß jene Bedingung hier eine mehr indirekte sei, daß z. B. die Verschiebung der Löslichkeitsverhältnisse die Permeabilität der etwa fettartigen Plasmahülle, und nicht die endliche Wirkung im Plasma beeinflusse, wo dann wohl wieder chemische oder koagulierende Wirkungen als maßgebend gedacht werden dürfen. Für die Narkosewirkung lassen sich solche Einwände durch die Reversibilität des Vorganges widerlegen, wobei höchstens noch die Mitwirksamkeit schwacher chemischer Affinitäten nicht auszuschließen wäre, die aber — wie Spiro gezeigt hat — von den Lösungsaffinitäten überhaupt kaum scharf zu trennen sein dürften. Bei dem Prozeß des Zelltodes kann aber eine Umkehrung des Prozesses der Natur der Sache nach nicht zur Beobachtung gelangen, so daß die Vorstellung indirekterer Wirkung von Verteilungsgleichgewichten hier wohl noch zu Recht besteht.

Immerhin ist aber auch die gegenteilige Annahme einer direkteren Wirksamkeit durchaus möglich. Die tötenden Stoffe können auch im Plasma als gelöst gedacht werden, und wenn auch dann dieser Zustand selbst reversibel sein müßte, so kann doch seine Persistenz durch eine gewisse Zeit den Zelltod durch Auslösung anderer, irreversibler Vorgänge wie bei der Eiweißkoagulation oder durch Hemmung lebenswichtiger Funktionen, in letzter Linie wohl durch Fermentlähmung, bedingen.

Eine Entscheidung dieser Alternative erscheint durch genaues Studium der in Betracht kommenden Wechselwirkungen zwischen dem Desinfiziens und den Körpersubstanzen möglich. Auch ergibt sich die Konsequenz, daß im Falle irreversibler Verankerung des desinfizierenden Stoffes am Plasma derselbe seine Wirkung in jeder Konzentration, nur in verschiedener Zeit entfalten, daß er sich im Falle eines reversiblen Lösungsgleichgewichtes unterhalb einer bestimmten Konzentration als unwirksam erweisen müßte. Danach kann also auch der Ausfall entsprechender Desinfektionsversuche die eine oder die andere Annahme stützen, und so zur wesentlichen Charakterisierung der einzelnen desinfizierenden Stoffe beitragen.

In praktischer Hinsicht müßte die Möglichkeit einer Verstärkung und die Gefahr einer Schwächung der Desinfektionswirkung durch leicht übersehbare Veränderungen des Lösungsgefüges von großer Bedeutung sein. Doch wäre für eine Verwertung solcher Feststellungen gerade deren quantitativer Charakter von Bedeutung; in dieser Richtung sind bisher nur wenige und aufeinander nicht bezogene Tatsachen bekannt, während sich die wichtigsten Angaben auf qualitative Veränderung der Wirkung, mit einigen Anhaltspunkten zu deren schätzungsweise Vergleiche, sowie auf stufenweise Ordnung der Wirkungsintensität verschiedener Stoffe — worauf sich ja auch die genannte Narkosetheorie aufbaut — beschränken.

Die vorliegenden Untersuchungen hatten zur Aufgabe, zunächst einen umschriebenen Komplex solcher Erscheinungen: die Beeinflussung der Phenolwirkung durch Kochsalz, einem eingehenderen Studium zu unterwerfen. Es sollten die Gleichgewichtsbeziehungen und wenn nötig die Reaktionen aller dabei in Betracht kommenden chemischen Stoffe: Eiweiß, Fett, Phenol, Wasser und Kochsalz, verfolgt und deren Gesetzmäßigkeiten mit denjenigen verglichen werden, welche in davon unabhängigen Versuchsreihen aus der Desinfektionswirkung verschiedener Phenol-Kochsalzlösungen abzuleiten waren.

Es erschien dabei zweckmäßig, in den Bereich der chemischen Untersuchungen hauptsächlich — nach dem Vorgange Hofmeisters in der Untersuchung der Salze und Eiweißgele, sowie Meyers in den Narkosearbeiten — einfache Vertreter der Körperstoffe heranzuziehen, daneben aber zur Sicherung der Schlußfolgerungen auch die genuinen Leibessubstanzen selbst sowie fettähnliche Stoffe des Körpers vergleichsweise zu berücksichtigen.

Die Phenolverteilung zwischen Öl und Wasser und ihre Beeinflussung durch NaCl.

1.

Die ersten Versuche galten der Frage, ob sich Phenol zwischen Wasser und Öl nach konstantem Faktor verteile, beziehungsweise wie groß dieser Faktor sei.

Als Arbeitsmaterial wurden zunächst 2 l besten Olivenöls beschafft, das auf seine wesentlichen Merkmale geprüft, und fortan in einer dicht

schließenden Flasche lichtgeschützt aufbewahrt wurde. Als Phenol diente das Kahlbaumsche Präparat. Bestimmte Mengen des Oles wurden mit ebensolcher wässriger Phenollösung in trockenen Glasstöpselflaschen zusammengebracht und während 24 stündigen Stehens wiederholt heftig geschüttelt. Der größte Teil der wässrigen Phase war sodann durch einstündiges Zentrifugieren, Herauspipettieren und Filtrieren von Öl zu befreien, ein aliquoter Teil auf seinen Phenolgehalt zu untersuchen. Die sämtlichen Phenolanalysen geschahen nach der Methode Koppeschars, bei der aus einer genauen Bromatlösung auf Zusatz von überschüssigem Bromid und HCl eine Br-Lösung bestimmten Gehaltes entsteht, von der nun 6 Äquivalente mit einem Mol Phenol zu Tribromphenol und HBr reagieren. Der Br-Überschuß wurde mittels JK in eine äquivalente J-Menge übergeführt und mit Thiosulfat titriert.

Ich bediente mich $\frac{1}{10}$ -Lösungen, die für Br durch Abwägen von 2,5162 g ($=\frac{1}{6}$ Mol. Gew.) NaBrO_3 für einen Liter herzustellen sind, wozu dann rund $\frac{1}{10}$ des Volumens an 10% iger NaBr-Lösung kommen muß. Ein Kubikzentimeter verbrauchter $\frac{1}{10}$ -Br-Lösung entspricht sodann 1,5675 mg ($=\frac{1}{6}$ Mol. Gew.) wasserfreien Phenols oder 1,7177 mg des einfachen Hydrats ($2(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}) + \text{H}_2\text{O}$). Die Reaktion zwischen Br und Phenol erfordert einige Zeit (etwa 15 Min.) und ein luftdicht geschlossenes Gefäß (Glasstöpselflasche mit Paraffin abgeschlossen), wobei noch zu beachten ist, daß der über der Flüssigkeit befindliche Luftraum nicht zu groß, die Br-Konzentration der Lösung nicht zu hoch sein darf, wenn in Betracht fallende Br- und J-Verluste vermieden werden sollen.

Zunächst wurde festgestellt, daß bei der geschilderten Manipulation mit Öl aus diesem keine meßbaren Mengen mit Brom reagierender Stoffe in das Wasser in Lösung übergehen, bzw. mechanisch darin zurückbleiben. Es war also auf diese Weise möglich, durch Titration der wässrigen Lösung vor und nach dem Schütteln — unter der Voraussetzung gleichgebliebenen Volums — die an das Öl abgegebene Phenolmenge zu erfahren und unter Berücksichtigung des Ölvolums den Teilungsfaktor für die ins Gleichgewicht gebrachten Phasen als Verhältnis der Volumkonzentrationen zu berechnen. Diese letzteren (g/cm) müssen aus theoretischen Gründen für die Betrachtung von Verteilungsvorgängen ausschließlich Anwendung finden, wenn die Gesetzmäßigkeiten dieser Erscheinungen durch Analogie, ja Identifizierung der Lösungszustände mit dem Gaszustande verstanden werden sollen, was in immer weiter gehendem Maße der Fall ist.

Die dargelegte Berechnung der Teilungsfaktoren gestaltet sich jedoch nur dann einfach, wenn die Volumina beider Phasen

als während des Verteilungsvorganges konstant betrachtet werden, was nur in gewisser Annäherung zutrifft. Sobald es sich um höher konzentrierte Lösungen handelt, gehen die hierdurch bedingten Fehler weit über die sonst erreichbare Genauigkeit hinaus, so daß eine allgemeine Berücksichtigung dieser Verhältnisse geboten erschien.

Am einfachsten würde sich die Vermeidung dieser Schwierigkeit gestalten, wenn eine direkte volumetrische Bestimmung des Phenols auch in der öligen Phase durchgeführt werden könnte, da dann das Verhältnis der gefundenen Konzentrationen auch schon den gesuchten Volumteilungsfaktor vorstellen würde. Nun ist eine Titration des Phenols im Öl zwar tatsächlich möglich, doch ist auch hier nur mittels Wägung eine hinreichend genaue Abmessung des Oles durchführbar, so daß zunächst wieder nur die Gewichtskonzentration des Phenols im Ole erhalten wird und die Kenntnis des spezifischen Gewichts der Ölphase, das seinerseits offenbar von dem Phenolgehalte stark beeinflusst wird, erforderlich bleibt. Die Methode, die im folgenden für die Entscheidung mancher Fragen angewendet und dort näher beschrieben wird, gestaltet sich zudem einigermaßen kompliziert und zeitraubend, letzteres schon durch die nur bei langem Stehen der Proben erreichbare Klärung des mit wässrigen Lösungen geschüttelten Oles. Die Genauigkeit ihrer Resultate bleibt endlich eben infolge der Kompliziertheit hinter der der Titration in wässriger Lösung zurück. Zu alledem war diese unmittelbare Bestimmung des Teilungsfaktors zwar hier bei Öl, nicht aber bei den anderen später in Betracht zu ziehenden Substanzen durchführbar. Aus allen diesen Gründen empfahl sich die Methode nicht zur allgemeinen Durchführung auch in diesen Versuchen.

Sollten aber bei der Berechnung des Phenols im Öl aus der Differenz der beiden Bestimmungen in der wässrigen Lösung die feinen Volumverteilungen berücksichtigt werden, so war vor allem der Einfluß des Phenolgehaltes auf das spezifische Gewicht wässriger und öligere Lösungen zu bestimmen.

Wässrige Lösungen erfahren bekanntlich im allgemeinen eine sog. Kontraktion, d. h. ihr Volum ist kleiner als die Summe der Volumina der Komponenten. Das geht so weit, daß sehr geringe Mengen gelöster Stoffe das Volumen der Lösung sogar absolut geringer gestalten als das des leeren Lösungsmittels war, was beweist, daß sich auch dieses — nicht nur der gelöste Stoff — an dem Volumverlust beteiligt. Eine einfache Gesetzmäßigkeit ist für solche Vorgänge meines Wissens nicht festgestellt, weshalb es hier nötig ist, sich mit geordneten Einzelerfahrungen zu behelfen. Über die Beziehungen zwischen spez. Gewicht und Gehalt von wässrigen Phenollösungen konnte ich

in der Literatur Angaben nicht finden. Meine diesbezüglichen Feststellungen sind in der folgenden Tabelle (I) wiedergegeben.

Tabelle I.

1	2	3	4	5
Nr.	Phenol g/100 ccm	Spezifisches Gewicht bei 17,5° C		
		gemessen	empirisch	berechnet ohne Kontraktion
1	0,9656	0,9995	0,9995	0,9994
2	1,762	1,0002	1,0002	0,9998
3	3,988	1,0023	1,0022	1,0013
4	7,969	1,0057	1,0057	1,0038

Die gesuchten spez. Gewichtswerte ergeben sich, wie ein Vergleich der Stäbe 3 und 4 lehrt, in guter Annäherung nach der empirischen Formel

Spez. Gew._{Ph.-Lsg.} = Spez. Gew._{Wasser} + 0,087 × Phenol g/ccm, während die unter der Annahme der Addition der Volumina berechneten Werte des Stabes 5 die starke Kontraktion der Lösungen hervortreten lassen.

Als spez. Gewicht des Phenols bei Zimmertemperatur ist Landolts Wert, jedoch bezogen auf Wasser von 4° C, also 1,070 (anstatt 1,072) angenommen. Die spez. Gewichtsbestimmungen wurden hier mit der Mohr-Westphalschen Wage vorgenommen.

Um den Einfluß des Phenolgehaltes auf das spez. Gewicht von Öl festzustellen, wurden zunächst beide Stoffe in trockenem Zustand zusammengebracht und die Lösungen auf ihr spez. Gewicht geprüft. Es ergab sich in einem solchen Versuche für 17,5° C 0,9391. Aus dem Gewichtsverhältnis der Stoffe Phenol:Öl = 21,011% und dem spez. Gewicht des Öles, das mit 0,9143 für die gleiche Temperatur zu bestimmen war, läßt sich unter der Annahme einfacher Addition der Volumina ein spez. Gewicht von 0,9380 berechnen. In einem anderen solchen Versuche war für ein Verhältnis Phenol:Öl = 6,18% das gefundene spez. Gewicht 0,9222, das berechnete 0,9217. Die Übereinstimmung ist zwar keine sehr weitgehende, doch läßt sich aus dem Vergleich mit gleich hohen Phenolkonzentrationen in Wasser auf eine sicher weit geringere Kontraktionswirkung schließen, so daß in erster Annäherung für die Folge das Volum von Öl-Phenolmischungen als Summe der Volumina der Bestandteile angenommen werden durfte.

Die eben angeführten Versuche wurden gleichzeitig dazu benutzt, um die Brauchbarkeit von Phenoltitrationen mittels Br-Lösung in Öl festzustellen. Aus dem Gesamt-Br-Verbrauch b einer gewissen öligen Phenollösung a läßt sich bei festgelegtem Br-Bindungsvermögen des Oles (in unserem Falle 65,73 ccm $^{2}/_{10}$) die für das Phenol verbrauchte Br-Menge bzw. mit Berücksichtigung des Äquivalentgewichtes des Phenols (15,675) die Phenolmenge x selbst und die Ölmenge y leicht berechnen:

$$1. y = a - x; \quad 2. \frac{1000}{1,5675} x + 65,73 y = b; \quad x = \frac{b - 65,73 a}{572,23}.$$

In den genannten zwei Versuchen ergab sich auf diese Weise das Verhältnis Phenol:Öl als 21,07 und 6,22%, was mit den obigen, durch Wägung gewonnen Zahlen ausreichend übereinstimmt, so daß die Methode im folgenden als verwendbar betrachtet werden darf. Bei ihrer Ausführung empfiehlt es sich, das in die Flasche gewogene Öl — ebenso wie das bei der auch sonst völlig analogen Jodzählbestimmung der Fette üblich ist — vor Zufügung wässriger Flüssigkeiten in etwas Chloroform zu lösen. Die langsamere Reaktion zwischen Öl und Br erfordert mindestens zweistündiges Stehen der Probe und wiederholtes Schütteln vor der Titration. Natürlich muß hier die Abdichtung der Flasche besonders sorgfältig geschehen.

Mit Hilfe dieser Methode war es, wie erwähnt auch möglich, eine direktere Bestimmung der Teilungsfaktoren zu unternehmen, doch erschien das aus den genannten Gründen im allgemeinen unzuweckmäßig, und wurde nur in einigen wenigen Versuchen zur Kontrolle der indirekten Bestimmung aus der Differenz der Phenolgehalte im Wasser vor und nach Schütteln mit Öl durchgeführt.

Wichtiger erschien die weitere Möglichkeit, auf diese Weise die Löslichkeit des Phenols in Öl direkt zu bestimmen, um sein Verhältnis zur Wasserlöslichkeit des Phenols mit dem Teilungsfaktor vergleichen zu können. Die beiden Verhältniszahlen sollten ja auf Grund theoretischer Erwägungen übereinstimmen, und daß sie es nicht immer tun, hat schon zu mannigfachen Erörterungen Anlaß gegeben und zur Feststellung scheinbarer Ausnahmen des Teilungsprinzipes geführt.

Eine gesättigte Lösung von Phenolkrystallen in Öl ergab nun nach jener Methode titriert einen Phenolgehalt von 31,1%, Phenol g/ccm für 17,5° C. Die Löslichkeit des Phenols in Wasser wurde durch eine Reihe von Titrationen bei verschiedenen Temperaturen gesättigter Lösungen festgelegt:¹⁾

¹⁾ Die Zahlen stimmen mit sonst häufig angegebenen nicht überein. Landolt-Börnstein sowie Dammer geben für Zimmertemperatur

Temperatur °C:	— 1,5	+ 11,8	+ 16,0	+ 20,8	+ 32,6
Phenolgehalt gesättigter Lösungen % g/ccm	6,92	7,53	7,75	8,00	8,66

Daraus ergibt sich durch Interpolation für 17,5° C eine Löslichkeit von 7,83%, somit ein Verhältnis der Löslichkeiten in Öl und Wasser von 3,97.

Demgegenüber zeigte nun schon die erste Näherungsberechnung der beschriebenen Verteilungsversuche einen wesentlich größeren Wert — zwischen 5 und 6 — als Teilungsfaktor zugunsten des Öles. Es war naheliegend, die Ursache der Abweichung in der Anwesenheit des Wassers bei der Verteilung zu suchen.

Versuche ergaben zunächst, daß mit Wasser geschütteltes reines Öl und ebenso dieses selbst im Exsiccator offenstehend an Gewicht nichts verliert. Phenolhaltiges Öl, das schon früher bei Wägungen als hygroskopisch aufgefallen war, nimmt aus feuchter Luft nicht unbeträchtliche Mengen Wassers auf, die im Exsiccator wieder rasch und anscheinend vollständig abgegeben werden. Diese Verhältnisse sind jedoch wegen der gleichzeitigen Phenolverdunstung nicht ganz einfach zu überblicken. Jedenfalls ist aber diese in Dampfform aufnehmbare Wassermenge bei gleicher Phenolkonzentration eine weit geringere als eine andere, die aus wässrigen Lösungen beim Schütteln gleichzeitig mit dem Phenol in das Öl übergeht. Diese letztere beträgt, wie Trocknung im Exsiccator lehrt, bei verschiedenen Phenolkonzentrationen regelmäßig etwa 10% des Phenols. Für genauere Messung sind auch hier noch die störenden Einflüsse der Phenolverdunstung zu groß bzw. zu wenig genau in Rechnung zu stellen. Es unterliegt aber schon nach den genannten Feststellungen keinem Zweifel, daß der aus dem Wasser in das Öl übergehende Körper nicht das wasserfreie Phenol, sondern das einfache Phenolhydrat ($2C_6H_5OH + H_2O$) ist, welches 9,574% g/g Wasser:Phenol enthält.

6,87% g/g Phenol:Wasser, was der Vorschrift der deutschen Pharmakopöe für die Löslichkeit des Phenols 1:15 entspricht. Alexejew (D. B. Ch. G. 10, 18, 1876) hat noch niedrigere Werte angegeben. Der Wert der englischen Pharmakopöe, die strengere Anforderungen an die Reinheit der Präparate stellt (1:12 bei 15,5° C), stimmt mit den obigen Daten sehr gut, die Angabe Rothmunds (Zeitschr. f. physik. Chem. 26, 433, 1898) gut überein.

Die Löslichkeit dieses Stoffes kann aber natürlich eine ganz andere als die des wasserfreien Körpers sein.¹⁾ In der Tat zeigte ein Öl, das bei Wassergegenwart mit Phenol gesättigt wurde, einen Gehalt von 44,34^o/_o g/ccm Phenol, also eine wesentlich höhere Löslichkeit als im trockenen Zustande.

Die besprochene Titrationsmethode ist natürlich auch auf die Bestimmung des Hydrates ohne weiteres anwendbar, wenn dessen Äquivalentgewicht (17,177) an Stelle desjenigen des Phenols in die Formeln eingeführt wird.

Auch auf anderem Wege ist die größere Löslichkeit des Hydrats wenigstens qualitativ zu zeigen: in Wassergegenwart mit Phenol gesättigtes Öl, das mehrere Tage hindurch im Exsiccator gehalten wurde, erweist sich als übersättigte Lösung, da ein in die klare Flüssigkeit geworfener Phenolkrystall sofort weitere Krystallisation und in weniger als einer Minute Erstarren der Lösung zur Folge hat. Mit trocken gesättigtem Öl fällt der Versuch völlig negativ aus.

Die Verhältniszahl der Löslichkeiten des Phenols in Öl und Wasser bei gleichzeitiger Gegenwart der drei Stoffe müßte also für Zimmertemperatur 44,34:7,83 = 5,66 betragen, was mit der aus den Verteilungsversuchen zunächst gewonnenen Näherungszahl gut übereinstimmt. Es wird im folgenden noch zu erörtern sein, inwiefern diese beiden Quotienten tatsächlich zusammenfallen und zusammenfallen können.

Für die genaue Berechnung der Teilungsversuche war nun vor allem festzustellen, ob die für Lösung von Phenol in Öl angenommene einfache Addition der Volumina auch für Phenolhydrat Geltung besitze. Nimmt man das spez. Gewicht dieses Stoffes nach der österreichischen Pharmakopöe mit 1,0685 an, so ergibt sich für die gesättigte Lösung aus den Titrationswerten ein spez. Gewicht von 0,9851 bei 17,5° C, während die direkte Bestimmung den Wert 0,9855 lieferte. Die Übereinstimmung ist also hier sogar eine bessere als in den für trockenes Phenol früher angeführten Versuchen, und wir dürfen danach in Anbetracht der hohen Phenolkonzentration dieses Versuches die Annahme einfacher Addition als eine völlig ausreichend genaue Darstellung der Volumbeziehungen betrachten.

¹⁾ Spiro (Physik, Chemie der Zelle. Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 32, 1909) erörtert die einschlägigen Verhältnisse und gibt als Beispiel Beobachtungen über den Einfluß der Wassergegenwart auf die Löslichkeit von Acetanilid in ätherischen Phasen.

Ferner war aber die Tatsache, daß das Hydrat des Phenols in das Öl übergehe, selbst nicht ohne Belang für die in Rechnung zu setzenden Volumina. Derjenige Anteil des Wassers, welcher mit dem Phenol die wässerige Phase verläßt, mußte für die Volumberechnung dieser Phase von dem Gesamtwasser als Korrekturwert in Abzug gebracht werden. Diese Korrektur erwies sich allerdings für die Mehrzahl der im folgenden dargestellten Versuche als belanglos. Doch erschien es um so wichtiger, sie überall dort anzubringen, wo sie das nicht war.

Die Berechnung gestaltete sich also wie folgt:

Gegeben erscheinen: Die Ausgangsvolumina der Phasen vor ihrer Berührung: A_v und O_v , ersteres durch Pipettenmessung, letzteres durch Wägung und spez. Gewichtsbestimmung des Öles, ferner Ausgangs- und End- oder Gleichgewichtskonzentration der wässerigen Phase an Phenol g/cm , A_p/ccm und E_p/ccm durch Titration. Mit Hilfe der genannten Feststellungen war ferner das spez. Gewicht der beiden wässerigen Flüssigkeiten (nach Tabelle I bzw. der daraus abgeleiteten empirischen Formel) A_s und E_s aus A_p/ccm und E_p/ccm , endlich das Volum von Ölphenolgemischen als Summe des Öl- und des Phenolhydratvolumens zu berechnen. Gesucht war zunächst die Volumkonzentration des Phenols in der öligen End-(Gleichgewichts-)Phase, deren Verhältnis zu E_p/ccm eben dann den Teilungsfaktor vorstellen sollte. Dazu war bei den bekannten Volumbeziehungen nur die ins Öl gehende Phenolmenge, diese wieder als Differenz der Ausgangs- und Endphenolmenge in der wässerigen Phase zu bestimmen. Erstere war als $A_v \cdot A_p/ccm$ gegeben, letztere auf Grund folgender Überlegungen zu berechnen: Das Gesamtwasser des Systems beträgt $A_v (A_s - A_p/ccm)$, das Endwasser der wässerigen Phase um $0,0957 A_v (A_p/ccm - E_p/ccm)$, d. h. das Hydratwasser des ans Öl verlorenen Phenols weniger. In dieser Korrekturgröße darf natürlich die betreffende Phenolmenge ohne weiteres als der erste Näherungsausdruck dafür, also unter Vernachlässigung aller Volumverschiebungen auftreten. Das Verhältnis Phenol:Wasser in der wässerigen Endphase ergibt eine einfache Überlegung als $E_p/ccm : (E_s - E_p/ccm)$, und das Produkt dieses Verhältnisses und jener Differenz $A_v (A_s - A_p/ccm) - 0,0957 A_v (A_p/ccm - E_p/ccm)$ muß die gesuchte Phenolmenge der wässerigen Endphase vorstellen.

Aus alledem folgt die Phenolmenge im Öl als:

$$Ph_o = A_v \frac{(A_p/ccm E_s - E_p/ccm A_s) + 0,0957 E_p/ccm (A_p/ccm - E_p/ccm)}{E_s - E_p/ccm}$$

Diese Menge als Hydrat beträgt dann $1,0957 Ph_o$ und das Ölphasenvolum

$$O_p_v = O_v + \frac{1,0957 Ph_o}{1,0685} = O_v + 1,0256 Ph_o$$

Sonach ist die Volumkonzentration in Öl

$$\text{Ph}_o/\text{ccm} = 1 : \left(\frac{\text{O}_v}{\text{Ph}_o} + 1,0256 \right)$$

und der Teilungsfaktor selbst:

$$F \cdot \left(\frac{\text{O}}{\text{W}} \right) = 1 : \left[\text{Ep}/\text{ccm} \left(\frac{\text{O}_v}{\text{Ph}_o} + 1,0256 \right) \right]$$

oder

$$F \cdot \left(\frac{\text{O}}{\text{W}} \right) = 1 : \left[\text{Ep}/\text{ccm} \left(\frac{\text{O}_v}{\Delta v} \right) \right]$$

$$\left[\frac{\text{Es} - \text{Ep}/\text{ccm}}{(\text{Ap}/\text{ccm} \text{ Es} - \text{Ep}/\text{ccm} \text{ As}) + 0,0957 \text{ Ep}/\text{ccm} (\text{Ap}/\text{ccm} - \text{Ep}/\text{ccm})} + 1,0256 \right]$$

Die folgende Tabelle II gibt nun fünf auf diese Weise angestellte und berechnete Verteilungsversuche wieder:

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6
Versuchsreihe Nr.	Volumina der Ausgangsphasen in ccm		Phenolgehalte ‰ g/ccm der wässrigen Ausgangs- Endphase		Volumverteilungsfaktor zugunsten des Oles
	ölig	wässrig			
1	24,48	25,00	1,984	0,312	5,39
2	"	"	0,992	0,147	5,82
	"	"	1,984	0,297	5,72
5	"	"	1,364	1,092	5,56
7	4,773	20,00	7,422	2,982	5,39

Die Nummern des Stabes 1 beziehen sich auf die zeitlich aufeinander folgenden, im Zusammenhang angestellten Reihen solcher und verwandter Versuche, in Übereinstimmung mit der Numerierung der nächsten Tabelle. In den Reihen 1 bis 5 war die Ölmenge nicht jedesmal gewogen, sondern durch Eichung einer Pipette festgelegt worden. Das aus der in vertikaler Stellung fixierten Pipette binnen 3 Minuten ausfließende und austropfende Öl betrug 23,38 g, also 24,48 ccm. In den späteren Versuchsreihen wurde die Ölmenge durchwegs wesentlich kleiner gewählt und jedesmal durch Wägung bestimmt.

Die Versuche ergaben einen ausreichend konstanten Wert des Verteilungsfaktors von Phenol zwischen Öl und Wasser, im Mittel 5,58. Diese Tatsache beweist, daß das Phenol sich auch im Öl, ebenso wie im Wasser in einfacher, echter Lösung befindet, und ferner, daß diesem Stoffe in beiden Phasen derselbe molekulare Aggregationszustand zukommt. Wäre das nicht der Fall, d. h. wäre die Anzahl der zu einem Molekül vereinigten Phenolgruppen in beiden Lösungsmitteln nicht dieselbe,

so müßte der Teilungsfaktor einen ausgesprochenen Gang zeigen, der dann durch Anbringung konstanter, dem Aggregationsverhältnis entsprechenden Exponenten zu kompensieren wäre ($\frac{c^n}{c} = \text{Konstanz}$, wenn im ersten Lösungsmittel n -fache Komplexe von Molekülen im Vergleiche mit dem zweiten vorliegen). Es ist also anzunehmen, daß auch im Wasser wie im Öle mindestens 2 Phenolmoleküle durch ein Hydratwassermolekül, jedenfalls aber in beiden Stoffen gleich viel solche zu einem Aggregate vereinigt sind.

Die festgestellte Zahl stimmt auch mit derjenigen gut überein, welche Wolffhügel und v. Knorre (11) beim Zusammenbringen von öliger Phenollösung mit Wasser erhielten und die im Mittel 5,48 betrug. Daß unsere Zahlen mit dem umgekehrten Vorgange erzielt wurden, beweist wieder, daß es sich um ein echtes Gleichgewicht handelt, und daß das abweichende Ergebnis jener Autoren bei solcher Arbeitsweise — wie sie ja selbst vermuten — auf Unvollständigkeit des Prozesses beruht hat.

Zur Kontrolle des Ergebnisses wurden nunmehr auch direkte Bestimmungen des Teilungsfaktors in der angegebenen Weise vorgenommen. Irgendwelche Mengen von Öl, Wasser und Phenol, in dicht schließenden Flaschen gemengt, wurden bis zur Erreichung des Gleichgewichtes und völligen Trennung der Phasen dort belassen. In beiden Phasen war sodann unabhängig voneinander der Phenolgehalt festzustellen. In einem solchen Versuche ergab sich z. B. im Öl 30,073% Phenol g/ccm, im Wasser 5,224%. Das Teilungsverhältnis 5,76 zugunsten des Öles entspricht leidlich den indirekt ermittelten Werten der Tabelle II. In einem anderen Versuche wurde so viel Phenol zugefügt, daß ein Überschuß davon bleiben und eine dritte Phase bilden mußte. Nun war, wie bereits oben angeführt, die Volumkonzentration im Öl 44,34%, die im Wasser jedoch 7,44% anstatt der Sättigungskonzentration von 7,83%, die erwartet wurde. Der Teilungsfaktor wird danach für den Sättigungspunkt nicht ganz unwesentlich größer, er beträgt 5,96. Der scheinbare Widerspruch zur Gleichgewichtslehre, die für 2 mit einem dritten Stoffe gesättigte, also mit diesen im Gleichgewicht befindliche Phasen ebenfalls das Bestehen von Gleichgewicht

verlangt, erklärt sich auf einfache Weise. Die Phenolphase ist nicht dieselbe, ob sie mit Wasser allein oder auch mit Öl in Beziehung steht, sie löst zweifellos selbst Öl in sich auf und erniedrigt damit nach allgemein gültigen Grundsätzen ihren Lösungsdruck für das Wasser. Die gefundene Abweichung hätte sich danach erwarten lassen. Es darf angenommen werden, daß auch die Löslichkeit des Hydrates im Öl größer als 44,34% ausfallen würde, wenn nur dieses, nicht auch das Wasser, im Überschuß zugegen wäre, denn die Phenolhydratphase löst, wenigstens solange Öl nicht dabei ist, beträchtliche Mengen Wassers.

Für unsere Zwecke genügt jedoch hier die Tatsache eines in weiten Grenzen ausreichend konstanten Teilungsfaktors, den auch die indirekte — rechnerisch zwar kompliziertere, experimentell jedoch vorteilhaftere — Bestimmungsmethode zu ermitteln gestattet.

2.

Die nächsten Versuche sollten den Einfluß zahlenmäßig festlegen, welchen die Gegenwart von Kochsalz im zweiphasigen System: Wasser — Öl — Phenol ausübt.

Die Ausführung der Versuche war der eben beschriebenen völlig analog, nur kamen wässrige Phenol-Kochsalzlösungen anstatt der reinen Phenollösungen zur Anwendung.

Die Feststellung der NaCl-Konzentration geschah durchweg mittels der Mohrschen Titrationsmethode, neben der nur einige wenige Gewichtsanalysen des Chlors zur Kontrolle durchgeführt wurden. Als maßgebend für die Beeinflussung des Verteilungsverhältnisses des Phenols war naturgemäß die Kochsalzkonzentration der Endphase zu betrachten.

Durch einfache Versuche konnte erwiesen werden, daß eine Kochsalzlösung ihren Gehalt durch Schütteln mit Öl nicht verändert, daß also NaCl als in Öl praktisch unlöslich aufgefaßt werden darf, demnach im folgenden nur die NaCl-Konzentrationen der wässrigen Phasen zu berücksichtigen sind. Gleichwohl durfte der Gehalt an NaCl für die Ausgangs- und Endphase eines Verteilungsversuches nicht als identisch angenommen werden, da die Volumverschiebungen durch die stattfindende Phenolentziehung dafür in Betracht kommen. Für die Ausgangslösungen war aber die Feststellung dieses Gehaltes (A_k/ccm) für die Berechnung der Wassermengen erforderlich, und nachdem die — eigentlich gesuchte — NaCl-Konzentration der Endphase (E_k/ccm) durch die der Ausgangsphase und die beiden Phenolkonzentrationen eindeutig bestimmt sein mußte, wurde dieselbe durch Rechnung ermittelt und nicht durch Messung (Titration) festgestellt, um nicht zwei einander notwendig um die Versuchsfehler widersprechende Daten in die Berechnungen einzuführen.

Für diese war nun zunächst der Einfluß kombinierter Phenol-NaCl-Gehalte auf das spezifische Gewicht wässriger Lösungen zu studieren. Die Abhängigkeit des spezifischen Gewichts reiner NaCl-Lösungen von ihrem Gehalte erscheint durch die bekannte Tabelle v. Gerlachs ausreichend festgelegt; nur war es nötig, die Werte derselben aus g/g Kochsalz/Gesamtgewicht in g/ccm umzurechnen.

Stellt man Lösungen gleichen Kochsalz-Volumgehaltes, aber verschiedenen Phenolgehaltes her, so findet man — und zwar auch bei sehr verschiedenen Werten für beiderlei Konzentrationen — die frühere für wässrige Lösungen empirisch abgeleitete Regel durchaus bestätigt, sobald nur anstatt des spezifischen Wassergewichtes dasjenige der phenolfreien Salzlösung eingesetzt wird, welches aber seinerseits aus der umgerechneten v. Gerlachschen Tabelle (bequemer aus deren graphischer Darstellung) durch Interpolation entnommen werden kann. Ein Beispiel eines solchen Versuches möge genügen: 2 Meßkolben zu je 100 ccm werden mit je 25 ccm konzentrierter Kochsalzlösung, der eine auch mit 25 ccm konzentrierter Phenollösung beschickt und bis zur Marke mit Wasser gefüllt. Es ergeben sich 7,84%ige NaCl-Lösungen, deren eine auch 1,96% Phenol enthält. Die spezifischen Gewichte sind 1,0541 und 1,0558. Die Differenz 0,0017, dividiert durch den Phenolgehalt, beträgt — wie in Tab. I — 0,087.

Nach diesem Schema läßt sich ohne weiteres bei bekanntem Kochsalz- und Phenolgehalt, also für die wässrige Ausgangslösung, das spezifische Gewicht finden: $As = Sp. G. Sp. G. Ak/ccm + Ak/ccm + 0,087 Ap/ccm$.

Anders liegt die Frage nach diesem Werte für die Endlösung, weil hier die Kochsalzkonzentration von vornherein nicht gegeben erscheint. Bekannt, bzw. berechenbar ist hier das Verhältnis NaCl: (NaCl + Endwasser), und zwar ist das Gesamtkochsalz für Ausgangs- und Endlösung gleichmäßig mit $Av \times Ak/ccm$, das Endwasser + Kochsalz als Gesamtwasser + Kochsalz, also $Av (As - Ap/ccm)$, vermindert um das Hydratwasser des an das Öl verlorenen Phenols, also $0,0957 Av (Ap/ccm - Ep/ccm)$ anzunehmen, so daß jenes Verhältnis $NaCl: NaCl + Ew = Ak/ccm: [(As - Ap/ccm) - 0,0957 (Ap/ccm - Ep/ccm)]$ wird.

Eine einfache Berechnung lehrt nun, wie sich für jeden beliebigen Fall kombinierter Phenol- und Kochsalzkonzentrationen das spezifische Gewicht zu demjenigen einer reinen Kochsalzlösung von gleichem Verhältnis NaCl: (NaCl + Wasser) verhält. Z. B.: Das spezifische Gewicht einer 1% g/ccm Kochsalz und 1% g/ccm Phenol enthaltenden Lösung beträgt: $Sp. G. Sp. G. 1\%, 1\% = 1\%$. $1\% = 1,00724 + 0,087 \cdot 0,01 = 1,00811$, wobei der Wert für die 1%ige Kochsalzlösung aus der umgerechneten v. Gerlachschen Tabelle stammt. Das Verhältnis NaCl: (NaCl + Wasser) ist hier mit 1,00194% g/g zu berechnen, was nach der nicht umgerechneten Tabelle einem spez. Gewicht von 1,00732 entspricht.

Die Differenz beträgt 0,00079, also 0,079 für die Einheit des Phenolgehaltes. Der letztere Wert erweist sich bei fortgesetzten analogen Berechnungen als völlig konstant, solange nicht der NaCl-, sondern nur

der Phenolgehalt wechselt. Es ergibt sich auf diese Weise die folgende Reihe von Konstanten für verschiedene NaCl-Gehalte:

NaCl %/g/ccm	Zuwachs des spezifischen Gewichtes pro g Phenolgehalt = k
0	+ 0,087
1	+ 0,079
5	+ 0,063
10	+ 0,025
20	- 0,028
30	- 0,083

Für den Wert 0 des NaCl-Gehaltes muß natürlich die Konstante mit derjenigen der empirischen Gleichung zusammenfallen, oberhalb einer gewissen Grenze desselben wird sie negativ, weil hier die Salzlösung wesentlich dichter als das reine Phenolhydrat ist.

Das spezifische Gewicht der Endlösung ist demnach in folgender Weise zu berechnen: NaCl : (NaCl + Endwasser) wird aus den gegebenen Maßzahlen nach der gegebenen Formel berechnet, der entsprechende spez. Gewichtswert in v. Gerlachs Tabelle gesucht und durch Addition des Produktes $k \times Ep/ccm$ auf den Phenolgehalt korrigiert. Zur Aufsuchung des jeweiligen k-Wertes in vorstehender Tabelle bzw. in ihrer graphischen Darstellung kann, nachdem Ek/ccm vorläufig noch unbekannt ist, unbedenklich der Ausgangskochsalzgehalt Ak/ccm verwendet werden, da beide Zahlen für die Ermittlung dieses Korrekturwertes ausreichend ähnlich sein müssen. In eine Formel gebracht lautet dann diese Anweisung:

$$Es = Sp. G. = Sp. G. \frac{NaCl}{(NaCl + Ew)} + \frac{K_{Ak/ccm} \cdot Ep/ccm}{NaCl/(NaCl + Ew) + k \cdot Ak/ccm \cdot Ep/ccm}$$

Daraus ergibt sich dann ohne Schwierigkeit der NaCl-Gehalt der Endlösung Ek/ccm , welcher als die unabhängige Variable der ganzen Versuchsreihe zu betrachten ist:

$$Es - Ep/ccm = (NaCl + Ew)/ccm$$

und $[NaCl : (NaCl + Ew)] \times (NaCl + Ew)/ccm = Ek/ccm$
 $= Ak/ccm (Es - Ep/ccm) : [(As - Ap/ccm) - 0,0957 (Ap/ccm - Ep/ccm)].$

Für die eigentliche Verteilungsberechnung wäre es nun, abgesehen von der Einführung entsprechender spez. Gewichtswerte, noch nötig bei der Größe der pro Kubikzentimeter anzunehmenden Wassermengen in Ausgangs- und Endlösung auch das Kochsalz in Rechnung zu bringen, d. h. anstatt $(As - Ap/ccm)$ und $(Es - Ep/ccm)$ hier durchwegs $(As - Ap/ccm - Ak/ccm)$ und $(Es - Ep/ccm - Ek/ccm)$ einzusetzen. Führt man jedoch diese Operation unter entsprechender Verwertung des obigen Ek/ccm -Wertes durch, so ergibt sich als Resultat einiger algebraischer Operationen derselbe Ausdruck, wie er oben für den Teilungsfaktor NaCl-freier Phasen entwickelt wurde, der also die Kochsalzwerte überhaupt nicht enthält. Es ist dies als ein umständlicher Beweis der einfachen, ja fast selbstverständlichen Tatsache aufzufassen, daß sich der Einfluß des Kochsalzes auf die Volumverhältnisse der Phasen in den spez. Gewichtsverhältnissen erschöpfend, d. h. vollständig und eindeutig ausdrückt. Wir sind demnach in der Lage, hier nach demselben Rechen-

schema wie bei den Versuchen der Tabelle III vorzugehen, sobald nur die spezifischen Gewichtswerte und die maßgebende Kochsalzkonzentration (Ek/ccm) — nach den genannten Prinzipien — festgelegt sind.

Die Tabelle III umfaßt alle Versuche, welche über die Phenolverteilung zwischen Wasser und Öl bei Kochsalzgegenwart gemacht wurden.

Tabelle III.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Nr.	Volumina der Ausgangsphasen in ccm		Phenolgehalte % g/ccm		NaCl-Gehalte % g/ccm		Volum- teilungs- faktor = NaCl	Kon- stante k
	ölig	wässe- rig	100 Ap/ccm	100 Ep/ccm	100 Ak/ccm	100 Ek/ccm		
2	24,48	25,00	0,9965	0,1069	4,914	4,960	8,42	8,30
3	"	"	1,986	0,2490	2,428	2,471	7,01	9,24
	"	25,58	1,986	0,2207	4,856	4,943	8,22	7,85
	"	25,00	1,986	0,1469	9,712	9,906	12,54	8,18
4	"	"	1,986	0,1925	7,284	7,416	9,35	6,97
	"	"	0,993	0,0580	14,568	14,561	14,70	6,66
	"	"	1,706	0,0743	19,31	19,63	20,88	6,73
	"	"	0,758	0,0148	30,89	31,14	50,78	7,09
5	"	"	4,933	0,5284	4,651	4,870	8,02	7,45
	"	"	3,278	0,2696	9,448	9,747	11,05	6,92
	"	"	2,270	0,1333	14,51	14,85	16,02	7,10
	"	"	1,629	0,0728	19,65	19,96	21,45	6,75
	"	"	0,7333	0,0144	30,89	31,13	50,75	7,19
6	0,8835	20,7215	0,8164	0,2298	29,61	29,79	52,57	7,53
7	3,145	20,00	4,764	1,997	5,028	5,174	7,37	5,39
	2,863	"	3,398	1,215	9,484	9,696	10,98	6,99
	2,381	"	2,194	0,6620	15,50	15,75	16,92	7,05
	1,487	"	1,469	0,4745	21,06	21,27	24,89	7,03
	1,658	"	1,041	0,2430	26,98	27,20	36,18	6,88
	1,259	"	0,7367	0,1649	30,60	30,78	50,46	7,16

Die Nummern der Versuchsreihen bezeichnen wieder die zeitliche Aufeinanderfolge, bzw. gleichzeitige Anstellung der hier und in Tabelle II wiedergegebenen Einzelversuche. In den Reihen 1 bis 5 waren die Temperaturen nicht genau beachtet worden, was dann in den Reihen 6 und 7 durchgeführt wurde. In der Berechnung der ersteren ist, wo erforderlich, die mittlere Zimmertemperatur von 17,5° C eingesetzt. Die hierdurch entstehenden Fehler können zwar keine sehr bedeutenden sein, doch möchte in Anbetracht derselben die Genauigkeit der Berechnung überflüssig erscheinen. Diese wurde trotzdem auch hier in der angegebenen Weise durchgeführt, einmal weil es eher mehr Mühe gekostet hätte nach verschiedenen Schemen als nach ein und demselben zu

rechnen, dann aber auch um die Vergleichbarkeit ihrer Resultate mit den übrigen tunlichst groß zu gestalten, was durch Ausschaltung wenigstens aller bekannten Fehlerquellen der Rechnung immerhin gefördert werden konnte. In den genaueren Versuchsreihen 6 und 7 wurden außerdem auch wesentlich kleinere und wechselnde Ölmenge gewählt, um trotz der mit dem NaCl-Gehalt fortschreitend schlechteren Löslichkeit des Phenols in Öl, unter Beibehaltung der geschilderten Methodik, möglichst differente Endzustände innerhalb der Versuchsreihe und noch genau titrierbare Phenolgehalte in der wässrigen Endphase zu erreichen.

Die Tabellenwerte der Kolonnen 2 bis 6 stellen voneinander unabhängig gewonnene Maßzahlen, die der Kolonnen 7 bis 9 daraus nach den dargelegten Grundsätzen und mit den angeführten Hilfsuntersuchungen abgeleitete Rechenresultate vor. Die Abhängigkeit des Volumteilungsfaktors (Stab 8) von dem Kochsalzgehalte (Stab 7) festzustellen, war die Aufgabe dieser Versuche. Die erwartete Steigerung des Faktors mit der NaCl-Konzentration fällt in allen Versuchsreihen ohne weiteres in die Augen. Während nach dem früher dargelegten (Tabelle II) reines Wasser immerhin imstande ist, einer gleich großen Ölphase gegenüber mehr als $\frac{1}{7}$ einer gegebenen Phenolquantität für sich zu behalten, vermag eine 10%ige NaCl-Lösung in gleicher Lage nur rund $\frac{1}{18}$, gesättigte NaCl-Lösung sogar nur $\frac{1}{30}$ an sich zu reißen.

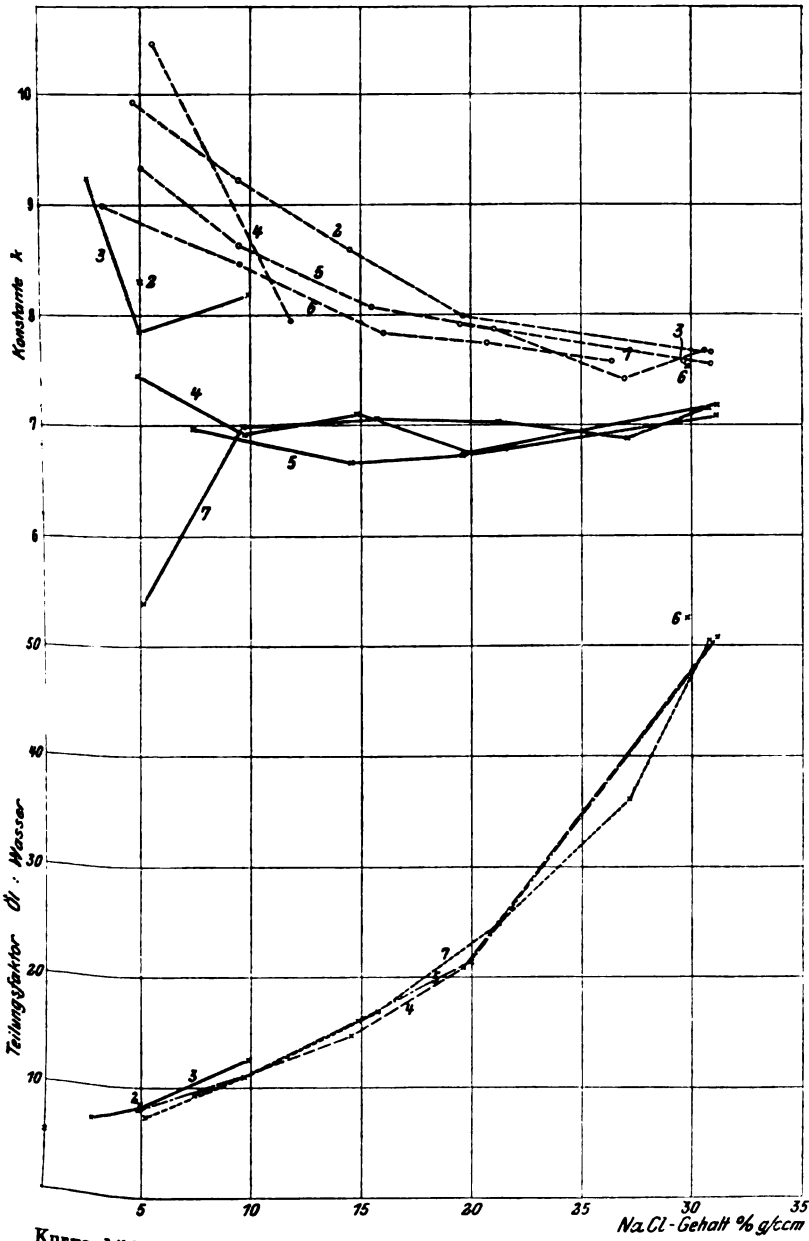
Aus einer kurvenmäßigen Betrachtung der zusammengehörigen Werte beider Variablen ergibt sich als vermutlich zutreffende Beschreibung der Abhängigkeit eine Gleichung der Form:

$$F_{\text{NaCl}} = F_0 \times e^{k \times E_{\text{k/ccm}}},$$

d. h. gleiche — in arithmetischer Progression wachsende — NaCl-Konzentrationssteigerungen scheinen verhältnismäßig gleiche, geometrisch wachsende Erhöhungen des Teilungsfaktors zu bedingen. Setzt man in dieser Formel als F_0 , den Teilungsfaktor des Öles gegenüber reinem Wasser, die Mittelzahl aus den obigen Versuchen 5,58, als F_{NaCl} und $E_{\text{p/ccm}}$ die jeweilig korrespondierenden Werte der Tabelle III, so erhält man die Werte des Stabes 9 als

$$k = \frac{2,303 (\log F_{\text{NaCl}} - \log F_0)}{E_{\text{p/ccm}}}.$$

Die Werte zeigen untereinander eine ausreichende Übereinstimmung. Die Zahlen für die ersten 2 Versuchsreihen liegen



Kurvenbild 1. Die im Zusammenhange gewonnenen Werte sind durch Linien verbunden.

zwar nicht unwesentlich höher als die später gewonnenen, sie zeigen auch stärkere Schwankungen. Es prägt sich hierin wohl hauptsächlich die noch mangelnde Übung in der Versuchsanstellung aus. Schon die Reihen 4 und 5 ergeben — trotz fehlender Temperaturkontrolle — durchweg Werte, die sowohl einander als auch der Mittelzahl aller Reihen recht nahe liegen. Die Reihe 7 weist neben einem ersichtlich — aber aus unbekannter Ursache — falschen Wert durchweg sehr nahe übereinstimmende Zahlen auf. Das arithmetische Mittel aller Werte beträgt 7,32; die Hälfte derselben (10) variiert nur in einem Spielraum von 0,28, und deren Mittel beträgt 7,03, welche Zahl als wahrscheinlichst richtiger Wert angenommen werden soll. Ein „Gang“ der Konstante kann mit weitgehender Annäherung ausgeschlossen werden, wie die Betrachtung der Kurven, besonders aber extrem gelegener Wertpaare — wie des ersten und vierten Versuches der 4., des zweiten und sechsten Versuches der 7. Reihe — ergibt.

Wir haben demnach in der obigen Gleichung eine hinreichend genaue Beschreibung aller Gleichgewichtszustände in 2-phasigen — die gasförmige Phase darf hier vernachlässigt werden — Öl-Wasser-Phenol-Kochsalz-Systemen gewonnen, die wir in der Folge einerseits zum Vergleich der Verhältnisse anderer Substanzen heranziehen, andererseits zu den Gesetzmäßigkeiten physiologischer, besonders desinfizierender Wirkungen in Beziehung setzen dürfen.

3.

Zur theoretischen Erklärung der hiermit festgestellten Abhängigkeitsform können wieder vor allem die Löslichkeitsverhältnisse herangezogen werden. Die Löslichkeitsbeeinflussung durch Lösungsgenossen war wiederholt der Gegenstand eingehender physikalisch-chemischer Untersuchungen.¹⁾ Als erster hat Setschenow (15) für die Abhängigkeit der CO_2 -Absorption durch Salzlösungen von deren Konzentration die Beziehung

$$L = L_0 \times e^{-k \cdot n}$$

aufgestellt, in der L und L_0 die beeinflusste und unbeeinflusste Löslichkeit, n die Konzentration des störenden Lösungsgenossen

¹⁾ Siehe V. Rothmund, Löslichkeit und Löslichkeitsbeeinflussung. Bredigs Handb. d. angew. phys. Chem. 7.

bedeutet. Rothmund und Wilsmore (16) haben aus thermodynamischen Erwägungen die Notwendigkeit gegenseitiger Beeinflussung in der allgemeinen Form

$$L \ln \frac{L_0}{L} = l \ln \frac{l_0}{l}$$

abgeleitet, die auch Nernst (17) aus theoretischen Gründen hierfür aufgestellt hat. Hier bezeichnen L und l die Löslichkeiten der beiden einander beeinflussenden, L_0 und l_0 die derselben, aber unbeeinflussten Stoffe.

Wie ersichtlich, decken sich diese Gleichungen mit unserer festgestellten Beziehung der Teilungsfaktoren, wenn die einfache Annahme zutrifft, daß sich beeinflusste und nicht beeinflusste Faktoren umgekehrt wie die bezüglichen Löslichkeiten verhalten:

$$F_0 : F_{\text{NaCl}} = L_{\text{NaCl}} : L_0.$$

Diese Annahme hat aber wieder zur Voraussetzung, daß sich die Faktoren auch als Verhältniszahl der Löslichkeiten des Phenols in beiden Phasen berechnen lassen, was nach dem früher dargelegten wenigstens für die NaCl-freien Phasen, zwar nicht genau, doch in erster Näherung der Fall ist. Die Löslichkeit des Phenols in der Ölphase dürfte sich durch NaCl-Gegenwart wenig ändern, da dieser Stoff weder wie erwähnt in das Öl, noch auch, wie besondere qualitative Versuche lehrten, in die flüssige Phenolhydratphase eindringt.

In mehreren Versuchsreihen über die Löslichkeit des Phenols in verschiedenen NaCl-Lösungen sollte das Bestehen der vermuteten Gesetzmäßigkeit geprüft werden. Die Tabelle IV gibt dieselbe wider, entsprechend ihrer zeitlichen Aufeinanderfolge. Es handelt sich hier teils um Ausgangslösungen der in Tabelle III wiedergegebenen Versuche, teils um eigens zu diesem Zwecke angestellte Beobachtungen. In den Reihen 1 und 2 fehlte noch die in den späteren durchgeführte Temperaturkontrolle; jene wurde wieder bei der Berechnung auf 17,5°, diese entsprechend den obigen Feststellungen auf die jeweilig bestimmten Zimmertemperaturen bezogen. Die Werte der Kolonne 4 ergeben sich hier als

$$k = \frac{2,302 (\log L_0 - \log L_{\text{NaCl}})}{\text{NaCl/com}}.$$

Tabelle IV.

1	2	3	4
Nr.	NaCl-Gehalt % g/cm	Phenolgehalt % g/cm	Konstante k
1	19,51	1,706	7,92
	30,89	0,758	7,56
2	4,651	4,933	9,93
	9,448	3,278	9,22
	14,51	2,270	8,59
	19,65	1,629	7,99
	30,89	0,733	7,66
3	29,61	0,816	7,58
4	5,530	4,318	10,46
	11,85	3,002	7,94
5	5,028	4,764	9,33
	9,484	3,398	8,63
	15,50	2,194	8,07
	21,06	1,469	7,87
	26,98	1,041	7,42
6	30,60	0,737	7,68
	3,229	5,789	8,99
	9,506	3,480	8,46
	16,03	2,213	7,84
	20,71	1,568	7,75
	26,44	1,054	7,58

Wie ersichtlich sind die k-Werte hier im allgemeinen von sehr ähnlicher Größe wie in Tabelle III, was bedeutet, daß die vermutete Beziehung auf die Löslichkeitsverhältnisse in erster Annäherung tatsächlich zutrifft. Genauere Betrachtung (s. Kurvenbild 1, gestrichelte Linien) lehrt jedoch, daß die Werte der Tabelle IV durchweg etwas, zum Teil wesentlich höher als die der Tabelle III (ausgezogene Linien) sind, sowie daß ein ausgesprochener Gang der ersteren mit dem Kochsalzgehalte besteht, in dem Sinne, daß den niedrigen solchen die höheren k-Werte entsprechen. Dies bedeutet, daß erstens die Löslichkeitserniedrigung des Phenols durch Kochsalz im allgemeinen eine etwas größere ist, als man nach den Verteilungsverhältnissen erwarten dürfte, daß zweitens niedrige Kochsalzgehalte im Vergleich mit höheren eine noch stärkere Löslichkeitserniedrigung bedingen, als dies in der angeführten Gesetzmäßigkeit ausgesprochen erscheint, die für solche Beziehungen von den genannten Autoren aufgestellt wurde. Wollte man — was übrigens Nernst sowie Roth-

mund und Wilsmore tatsächlich tun — das Teilungsverhältnis selbst als maßgebend für die Berechnung der Löslichkeiten betrachten, so wäre das eben dargelegte allerdings als eine volle Bestätigung der Regel Setschenows für die Löslichkeitsbeeinflussung durch Lösungsgenossen zu betrachten.

Eine zureichende Erklärung des abweichenden Verhaltens von Verteilung und Löslichkeit kann hier nicht versucht werden und würde über den Zweck dieser Arbeit hinausgehen. Es sei nur daran erinnert, daß auch für NaCl-freie Lösungen das Löslichkeitsverhältnis dem Teilungsverhältnis nicht genau entspricht, da sich die Wasserlöslichkeit des Phenols im Verteilungsversuche anders, und zwar niedriger als im Versuche ohne Ölgegenwart ergab. Diese Verschiebung des genannten Faktors zugunsten des Öls für den Phenolsättigungszustand, die dort durch den mutmaßlichen Ölgehalt der Phenolphase erklärt wurde, findet sich nun hier bei den Kochsalzversuchen in noch ausgesprochenem Maße und verhältnismäßig um so ausgesprochenener, je weniger NaCl vorhanden ist. Auch hierfür dürfte die Qualität der dritten Phase — des Phenolhydrates — maßgebend sein, die zwar, wie erwähnt, kein NaCl, wohl aber sehr wahrscheinlich je nach dem NaCl-Gehalt der wässrigen Phase sehr verschiedene Wassermengen aufnimmt und damit ihren Lösungsdruck für beide andern Phasen verschiebt. So könnte die beobachtete Abweichung z. B. dahin gedeutet werden, daß bei abnehmendem Wassergehalte der Phenolhydratphase die Löslichkeit dieses Stoffes — wie schon oben vermutet — zunimmt, und daß schon geringe NaCl-Gehalte der wässrigen Phase einen nennenswerten Wassergehalt der Phenolphase nicht dulden, welche Wirkung dann durch Erhöhung des NaCl-Gehaltes nicht mehr stark, wahrscheinlich bis zur völligen Wasserfreiheit in der Nachbarschaft konzentrierter NaCl-Lösung gesteigert werden kann.

Jedenfalls sind aber diese komplizierteren Verhältnisse phenolgesättigter Phasen für den Gegenstand der vorliegenden Untersuchung ohne tieferen Belang, da es sich sowohl in den zu betrachtenden chemischen als auch in den späteren bakteriologischen Versuchen nach der Natur der Anordnung immer nur um nicht gesättigte Phenollösungen handeln kann, deren Gleichgewichtsbeziehungen sich nach den vorstehenden Feststellungen als einfach überblickbar erwiesen haben.

4.

Anhangsweise wurden einige orientierende Versuche über die Frage unternommen, ob das hier festgestellte Verhalten des Olivenöles mit demjenigen solcher fettartiger Stoffe im allgemeinen übereinstimmt, die in der lebenden Zelle als integrierende Bestandteile vorkommen. Als deren Repräsentant wurde das Cholesterin gewählt. Eine einfache Überlegung lehrt, daß im Falle eines wesentlich abweichenden Verhaltens dieses Stoffes jeder nennenswerte Zusatz desselben zum Öl den konstanten Teilungsfaktor verändern, bzw. einen solchen — bei chemischer Bindung des Phenols — überhaupt nicht auftreten lassen würde. Allerdings löst sich Cholesterin bei Zimmertemperatur in Öl nicht leicht. Eine 3,69% g/ccm Cholesterin enthaltende Phase zeigte mit gesättigter Phenollösung geschüttelt einen Teilungsfaktor von 5,72, bei Gegenwart von 10% g/ccm NaCl einen solchen von 10,73, also völlig übereinstimmende Werte mit den an reinem Öl gewonnenen. Um auch bei höherer Cholesterinkonzentration einen Versuch anstellen zu können, mußte bei hoher Temperatur, als die 100° C gewählt wurde, gearbeitet werden. Hier war aber sodann auch eine neuerliche Kontrolle des Faktors für reines Öl erforderlich. Es ergab sich für dieses ein Teilungsverhältnis von 3,81, für 18% g/ccm Cholesterin führendes Öl ein solches von 4,00, also wieder eine sehr nahe Übereinstimmung, welche im Vereine mit der oben genannten die Verwendung des Olivenöles als Stellvertreter der Fettstoffe des Zelleibes gerechtfertigt erscheinen läßt.

Zur Theorie der Desinfektion.

I. Abhandlung.

Die Desinfektionswirkung des Phenols. II.

Von

Heinrich Reichel.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität in Wien.)

Mit 3 Kurvenfiguren im Text.

1. Fortsetzung.

Über das gegenseitige Verhalten von Phenol und Eiweiß und seine Beeinflussung durch die Gegenwart von NaCl.

1.

Nach allgemeinen Gleichgewichtsgrundsätzen muß eine für das Verhalten zweier Phasen gültige Beziehung auch für jede andere Phase gelten, die überhaupt mit diesen betreffenden Stoffen in ein analoges Lösungsgleichgewicht gebracht werden kann, d. h. für jede, die nicht einer der beteiligten Komponenten gegenüber ein sehr abweichendes Verhalten — z. B. unbegrenzte Mischbarkeit, Polymerisation, chemische Bindung — aufweist.

Der lebende Zelleib darf aber heute gewiß¹⁾ als ein mehrphasiges System betrachtet werden, in dem gelöste und gequollene Kolloidsubstanzen, feste Stoffe und ölige Bestandteile eine äußerst innige, aber wohl nach strengen Notwendigkeiten geordnete Vermengung eingehen. So nehmen viele Autoren an, daß eine ölige Phase als Grenzschicht sowohl nach außen als auch zwischen eiweißreicheren und -ärmeren wässrigen Phasen besteht und zur Beherrschung der selektiven Eigentümlichkeiten

¹⁾ Spiro, Physikalische Chemie der Zelle. Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 1, 1909.

der einzelnen Bestandteile dient. Jedenfalls spielen aber ölige Phasen auch in Form von Emulsionen eine wichtige Rolle. Bei der bekannten großen Wasserlöslichkeit wichtiger fettartiger Körperstoffe darf vielleicht die Unterscheidung ölicher und wässriger Phasen im Protoplasma als nicht scharf durchführbar gelten. Immerhin müssen wir aber als den Schauplatz oder Träger der eigentlichen Lebensprozesse eine eiweißreiche, wasserhaltige Phase annehmen.

Soll nun die Verteilung eines Stoffes zwischen mehreren Phasen zur Erklärung im weiteren Sinne physiologischer Erscheinungen — wie Narkose und Tod — herangezogen werden, so darf zwar die alleinige Betrachtung der öligen Zellbestandteile nach dem Vorausgeschickten als eine erlaubte Vereinfachung gelten, weil wenigstens aus übereinstimmenden Abhängigkeiten für Verteilungszustände und Wirkungen ohne weiteres auf die Anwendbarkeit der ersteren auch auf alle anderen Phasen des Zelleibes geschlossen werden kann. Freilich darf bei fehlender Übereinstimmung der Bedingungen aus einem solchen Versuchsmateriale nicht ein Fehlen der Wirksamkeit abgeleitet werden, weil eben die Möglichkeit andersartiger Wirkung in den verschiedenen Phasen vorliegt. Z. B. könnte die Geschwindigkeit der Permeabilität eines Stoffes durch die Verteilung beherrscht sein, während seine Wirkung auf die Lebensprozesse davon nicht abhängt.

Es erschien also für diesen Fall, und als kontrollierende Bestätigung auch für jeden Fall erwünscht, die eiweißreiche Phase analogen physikalisch-chemischen Untersuchungen zu unterziehen wie die ölige. Es war aber nach dem Gesagten damit nicht etwa die Frage zu entscheiden, ob die ölige oder die Eiweißphase die für die physiologische Wirkung maßgebende Speicherung des Phenols bedinge, sondern bloß die, ob beide Arten von Phasen — also alle, die im Zelleib wohl in Betracht kommen — das überhaupt, bzw. ob sie es nach demselben Gesetze tun. Für solche Versuche konnte natives Eiweiß wegen der Schwierigkeit der Herstellung zweier trennbarer Phasen zunächst nicht gewählt werden. Der Verwendung kagulierter Eiweißstoffe stand kein Bedenken entgegen, sobald eine wesentliche Veränderung des chemischen Verhaltens gegenüber Phenol bei dem Vorgang der Gelbildung ausgeschlossen

werden konnte. Der Vergleich mit der lebenden Zelle bezieht sich ja eben auf die zweiphasige Anordnung, nicht auf den besonderen Quellungs- oder Lösungszustand der Eiweißstoffe, der übrigens im lebenden Plasma weder genau bekannt ist, noch einfach und einheitlich sein dürfte. Auch Leimgele, wie sie von Hofmeister (18, 19) und Spiro (20) für verwandte Zwecke benutzt wurden, wären ein brauchbares Material für solche Versuche gewesen. Ich benutzte ausschließlich hitze-koagulierte Eiweißgele, und zwar — der Bequemlichkeit wegen und in Anbetracht des mehr orientierenden als genauen Charakters dieser Versuche — Eiklar und Pferdeserum. Das frisch koagulierte Gel wurde rasch in leidlich regelmäßige Stücke, meist dünne Scheiben geschnitten und vor Austrocknung geschützt. Die Abmessung für die einzelnen Versuche erfolgte durch Wägung.

Was nun zunächst das allgemeine gegenseitige Verhalten von Phenol und gelöstem, bzw. in Solzustand befindlichem Eiweiß anlangt, so findet sich nicht selten (12, 13) die Behauptung einer koagulierenden Wirkung vertreten. Insofern dieses Wort im Sinne einer irreversiblen Umwandlung eines Sols in ein Gel gebraucht wird, erscheint aber diese Auffassung nicht gerechtfertigt. Zwar bewirkt — wie Spiro (20) feststellt — 0,6% Phenol in Eiweißlösungen eine Trübung, die bei 1,8% zu dicken weißen Niederschlägen anwächst. Ein bestehender Niederschlag kann aber durch neuen Zusatz von Eiweißlösung wieder in Lösung gebracht werden; der Fällungsvorgang ist also reversibel, so wie die Alkohol- und Salzfällung der Eiweißkörper. Andererseits besitzt verflüssigtes Phenol ein beträchtliches Eiweißlösungsvermögen; bringt man Eiweißlösung (Serum) mit genug wasserfreiem Phenol zusammen, so entsteht nach anfänglicher Trübung der Flüssigkeit bald eine klare Lösung, die nun auch, ohne äußerliche Veränderungen zu erfahren, gekocht werden kann. Aber auch im Zustand milchweißer Trübung sehr phenolreicher, eiweißhaltiger Gemenge kann durch mäßiges Erwärmen klare Lösung erzielt werden, die sich dann beim Abkühlen wieder trübt. Diese Tatsachen sind wohl am einfachsten dahin aufzufassen, daß sich Phenol und Eiweiß mit großer Intensität lösen und daß die scheinbare Fällung auf der Abscheidung einer zweiten flüssigen, an Phenol und Eiweiß

reichen Phase beruht. Ganz ähnliche Erscheinungen, auf die Spiro am genannten Orte aufmerksam macht, ergeben sich auch zwischen anderen aromatischen Alkoholen und Eiweiß, nur geht bei deren im Vergleich zum Phenol höherer Wasserlöslichkeit die Zone der Fällung kontinuierlich in die der Lösung des Eiweißes über. Spiro schließt aus der schweren Auswaschbarkeit desselben aus Niederschlägen, die in Resorcin-Eiweißlösungen mittels Äthylalkohols gefällt werden, auf das Bestehen von Molekularverbindungen, die allerdings durch Kochen mit Wasser wieder leicht zu trennen sind. Doch erscheint auch die Annahme echter Lösung, die zwischen Eiweiß und Resorcin (ebenso Brenzkatechin, Pyrogallol) um vielmal intensiver als zwischen Eiweiß und Wasser sein müßte, nach diesen Tatsachen nicht ausschließbar. Vielleicht sind beide Fälle in Wirklichkeit nicht streng zu scheiden.

Jedenfalls bleibt das ganze Phenol einer Lösung auch bei Gegenwart von Eiweißstoffen mit der Br-Titrationsmethode bestimmbar, wie wiederholte Versuche lehrten. Es ist dabei nur erforderlich, das Br-Bindungsvermögen der zugefügten Eiweißlösung zu kennen bzw. zu bestimmen. 1 ccm Pferdeserum bindet in mehreren Versuchen recht nahe 4,82 ccm $\frac{2}{10}$ -Bromlösung; der Br-Verbrauch von Serum-Phenol-Gemischen setzt sich additiv aus diesem und dem Verbrauch des Phenols zusammen. Fällt man das Eiweiß eines solchen Gemisches mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, so findet sich die Phenolkomponente der Br-Bindung in Filtrat + Waschlösung, die Serumkomponente im wiedergelösten Niederschlag. Die Eiweißstoffe halten also das Phenol nicht fest, und die Brombindung des Serums scheint am Eiweiß zu haften. Auch hitzecoaguliertes Serum gibt an wässrige Lösungen Br-bindende Substanzen nicht ab. Dagegen lehrten schon ungefähre Vorversuche, daß Eiklarcoagula die Konzentration von Phenollösungen mehr herabsetzen, als ihrem Volumen entsprach, und daß sie herausgenommen, an Wasser relativ viel Phenol abgaben. Der scharfe Gleichgewichtscharakter dieser Eiweißgel-Phenol-Bindung war aber auch durch exakte Reversibilitätsversuche zu erbringen. In einigen der quantitativen Versuche, die zur Feststellung der Teilungsverhältnisse dienten, wurde das durch wiederholte Wässerung der Serum-Coagulum-Scheiben aus diesen ausziehbare Phenol bestimmt und

durch eine Bilanzrechnung festgestellt, daß alles zum Versuch verwendete Phenol auf diese Weise mit ausreichender Genauigkeit wiedergefunden werden konnte. So ergaben die zwei Versuche der Reihe 4 in Tabelle VII folgende Werte: g Phenol:

	1.	2.
angewendet . . .	0,3756	1,5134
wiedergefunden . .	0,3754	1,5091

Die sechs Versuche der Reihe 12 ergaben ähnlich gute Übereinstimmung.

Schon jene Vorversuche ergaben aber, daß diese Gleichgewichte nicht durch einen Adsorptionsvorgang wesentlich bedingt sein können, da die pro Gramm Coagulum gebundenen Mengen mit steigendem Phenolgehalte nicht ab, sondern zunahmen. Es muß also zur Erklärung der Erscheinung ein Lösungsgleichgewicht angenommen werden.

2.

Erscheint es auch nach dem Vorausgehenden berechtigt, von einer Lösung des Phenols in koaguliertem Eiweiß, von einer Verteilung des Phenols zwischen Eiweiß und Wasser zu sprechen, so ist es trotzdem nicht möglich, eine entsprechende Verteilungsrechnung auszuführen, solange nicht entschieden ist, welches Volum als das der Eiweißphase zu gelten hat. Das Volumen der Eiweißscheiben selbst verändert sich während des Verteilungsvorganges nicht unbeträchtlich, je nach der Konzentration der wässerigen Lösung. Ihr Volumen im Gleichgewichtszustande ist zwar durch Wägung und Bestimmung des spezifischen Gewichtes oder durch tunlichst exakte Abmessung der wässerigen Endphase mit ziemlicher Genauigkeit bestimmbar, doch wäre von vornherein eine Übereinstimmung von Teilungsfaktoren nicht zu erwarten, wenn die Volumkonzentration des Geles an Eiweiß in jedem Versuche eine verschiedene ist. Eine Beziehung der gebundenen Phenolmenge auf das Gewicht des Ausgangscoagulums erscheint untunlich, weil Gewichtsteilungsfaktoren im allgemeinen ein richtiges Bild der Verhältnisse nicht geben können und weil in unserem Falle die angestrebte Vergleichung mit den Ergebnissen der Ölteilungsversuche dadurch unmöglich geworden wäre.

Eine ähnliche Schwierigkeit war in der Beurteilung der maßgebenden NaCl-Konzentration gelegen: das Salz dringt ja — im Gegensatz zu seinem Verhalten zum Öl — in das Eiweißcoagulum ein, so daß an eine Beeinflussung der Lösungsaffinitäten beider Lösungsmittel zum Phenol zu denken war, wobei wieder das Volumen zweifelhaft sein mußte, auf welches die eingedrungene Salzmenge etwa zu beziehen war. Hier konnte nur eine nähere Betrachtung der möglichen und tatsächlichen Quellungsverhältnisse Aufschluß bringen.

Von den drei durch Hofmeister (18) klargelegten Arten von Quellungswasser organischer Gele war zunächst das capillare Imbibitionswasser für unseren Fall in Betracht zu ziehen, da das Coagulum als ein gewiß zum Teil offenes Maschen- und Netzwerk aufzufassen ist. Es war klar, daß dieser Anteil der im Coagulum befindlichen Lösung im wesentlichen mit der äußeren Phase in Phenol- und Salzgehalt übereinstimmen muß und für eine rationelle Verteilungsberechnung zu dieser und nicht zur Eiweißphase gerechnet werden sollte.

Endosmotische Imbibitions- bzw. Schrumpfungsvorgänge kamen von vornherein nicht als wahrscheinlich in Betracht, da die Existenz abgeschlossener Flüssigkeitsräume (Waben) im Hitzecoagulum kaum anzunehmen sein dürfte.

Solche Vorgänge würden eine zweite, von der äußeren abweichende wässrige Phase bedingen, welche in emulsionartiger Form im Eiweißgel befindlich zu denken wäre, wodurch die Betrachtung der Verteilungsverhältnisse sehr wesentlich kompliziert werden würde. Allerdings wäre für einen solchen Gleichgewichtszustand auch noch eine völlige Impermeabilität des Gels für einen der Lösungstoffe erforderlich, und eine solche könnte schon nach den Vorversuchen nicht für das Phenol, sondern nur für das NaCl in Frage kommen.

Das echte Quellungs- oder molekulare Imbibitionswasser endlich ist offenbar allein als in der Eiweißphase gelöst, also für deren Volumen und sonstige Eigenschaften maßgebend zu betrachten.

Zur Berechnung der Teilungsfaktoren war es also nötig, den Anteil dieser drei Arten von Quellungswasser am Wassergehalt unserer Eiweißcoagula zu bestimmen, oder doch über denselben brauchbare Annahmen zu machen.

Zunächst konnte die Mitbeteiligung endosmotischer Quellungsvorgänge durch die einfache Feststellung mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß unsere Serumcoagula ihren natürlichen Cl-Gehalt an wässrige Lösungen vollständig abgeben. Dies wurde an einem Teile der später anzuführenden Phenolverteilungsversuche, und zwar den 10 Versuchen der Reihen 2 und 3 der Tabelle VII, sowie auch ohne Phenolgegenwart im ersten Versuche der Tabelle VI durch Cl-Titrationen der vorher Cl-freien wässrigen Phasen festgestellt. Der Gehalt des Ausgangserums berechnet sich danach mit 0,55 bis 0,60%, NaCl, was den für Pferdeserum in der Literatur vorliegenden Daten (21) gut entspricht.

Zur Ermittlung der Mengenverhältnisse von capillarem und molekularem Quellungswasser im Coagulum sollten Versuche dienen, in denen bestimmt wurde, wie sich der NaCl-Gehalt einer gemessenen Lösung durch Einbringen gewogener Mengen des Coagulums ändere. Auf die dabei stattfindenden Volum- und Gewichtsverschiebungen des letzteren selbst wurde zunächst nicht geachtet. Wenn nun in solchen Versuchen aus dem spezifischen Gewicht, dem Kochsalzgehalt und dem Volumen der Ausgangslösung, dem Gewicht, dem Wasser und dem Kochsalzgehalt des Coagulums das Verhältnis des gesamten vorhandenen NaCl zum gesamten Wasser gebildet wurde, so ergab sich eine nahe übereinstimmende Zahl, wie sie aus spezifischem Gewicht und NaCl-Gehalt der Endlösung für das tatsächliche Verhältnis NaCl:Wasser in der Lösung zu finden war. Als Beispiel solcher Untersuchungen mögen die zwei Versuche der Tabelle V dienen. Der Wassergehalt des Coagulums war hier mit 90,43% bestimmt worden.

Tabelle V.

1	2	3	4	5	6	7
Nummer	Gewicht des Co- agulums g	Volum der Ausgangs- lösung ccm	NaCl-Gehalt % g/ccm der		NaCl:Wasser % g/g	
			Ausgangs-	End-	berechnet	gefunden
			Lösung			
1	2,1213	10	4,94	4,18	4,29	4,24
2	2,5719	10	31,36	25,90	28,08	28,46

Das Ergebnis würde — vorausgesetzt, daß die Genauigkeit als genügend zu betrachten ist — besagen, daß sich das ganze Wasser des Coagulums gleichmäßig an der Verdünnung der damit in Berührung tretenden NaCl-Lösung beteiligt, das Eiweiß selbst aber kein NaCl in irgendwelcher Weise bindet. Jedenfalls muß aber der weitaus überwiegende Anteil des Quellungswassers an der Lösung des Kochsalzes teilnehmen und ein wesentlicher Salzverlust der Lösung durch Bindung an das Eiweißgel kann ausgeschlossen werden. Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kommt Hofmeister (19) in seinen bekannten Untersuchungen über das Verhalten von Leimplatten in Salzlösungen. Der Salzgehalt der die Leimscheiben durchtränkenden Lösung ist im Gleichgewichtszustande ebenso hoch oder nur wenig niedriger als der der Außenflüssigkeit. Es erscheint nicht unberechtigt, die Erreichung eines solchen Zustandes als das gemeinsame Ziel sehr mannigfaltiger Quellungs-, Schrumpfungs- und Selektionsvorgänge an den Scheiben in verschiedenen Salzlösungen aufzufassen.

Die einfachste erklärende Vorstellung wäre gewiß die, daß eine — wenigstens bei Salzgegenwart — äußerst wasserarme Eiweißphase salzfrei bleibt, und durch ihre Oberflächenentwicklung ein gewisses Lösungsquantum capillar zu tragen vermag, oder daß unter solchen Umständen der molekulare neben dem capillaren Imbibitionsvorgang quantitativ vernachlässigbar sei. Der häufig bei Hofmeisters Versuchen etwas niedriger liegende Salzgehalt der Innenlösung könnte danach für einen in diesen Fällen schon in Betracht kommenden Gehalt der Eiweißphase an echtem — salzfreiem — Quellungswasser verwertet werden.

Bemerkenswerterweise erscheint dort der Grad der Übereinstimmung von Innen- und Außenlösung abhängig von der Natur des verwendeten Salzes (Lyotropie, s. S. 154, Anm.) und für kein anderes Salz so vollkommen als für Kochsalz. Daß für andere Gele auch weit größere Abweichungen in demselben Sinne zwischen Außen- und Innenlösung bestehen können, geht aus den Untersuchungen Spiros (20) über die Zusammensetzung ausgesalzener Eiweiß- und Leimphasen hervor. Die Genese der Gele und vor allem die wasseranziehende Kraft der Salze dürfen dafür als ausschlaggebend gedacht werden.

Auch Pauli (22) unterscheidet einen überwiegenden locker

und einen sehr kleinen fest gebundenen Teil des Imbibitionswassers organischer Kolloide, wovon er den ersten als eigentliches Quellungswasser bezeichnet, den letzteren mit dem hygroskopisch ersetzbaren Wasser identifiziert. Es wäre denkbar, daß der Grad der Leichtigkeit der Reversion eines Gelbildungsvorganges von der Menge dieses fester an das Kolloid geketteten Wassers abhängt. Danach möchte die entwickelte Vorstellung einer trockenen, mit Lösung capillar imbibierten Kolloidphase für unsere irreversiblen Hitzecoagula vielleicht am nächsten, und wohl auch ohne Salzgegenwart in ähnlicher Weise zutreffend sein. Die Vernachlässigung des molekularen Quellungswassers und die Annahme wirklicher Salzfreiheit der Kolloid-Trockenphase bietet aber die einfachsten Grundlagen für eine exakte Verteilungsberechnung, welche noch dazu in allen wesentlichen Punkten mit denen bei der Öl-Wasser-Verteilung übereinstimmen, so daß unter diesen Annahmen eine völlig analoge Berechnungsweise Platz greifen kann.¹⁾

Jede andere mögliche Deutung der obigen Tatsachen müßte von der Vorstellung ausgehen, daß die Eiweißphase eine der äußeren und capillar-imbibierten Phase sehr ähnliche Lösung als echte Quellungsflüssigkeit in sich aufnehme. Berechnungsgrundlagen für eine Volumverteilung scheinen auf diesem Wege nicht auffindbar, es wäre denn, daß die capillare Imbibition als überhaupt vernachlässigbar gedacht werden dürfte. Jedenfalls erscheint aber die andere Auffassungsweise für unseren Fall plausibler und — mindestens heuristisch — besser verwertbar als diese.

Ein genaues Studium der bezüglichen Vorgänge war aber erwünscht, um die Widerspruchsfreiheit der gemachten Annahmen zu sichern. Es wurden zu dem Zwecke in den Rahmen einer größeren Reihe von Phenolverteilungsversuchen auch einige reine Salzversuche einbezogen und alle einer besonders exakten Beobachtung auch hinsichtlich der Quellungsverhältnisse unter-

¹⁾ Die Vorstellung von einer echten Lösung in einer trockenen, also festen Phase darf bei der ausgedehnten und erfolgreichen Anwendung des Begriffes der festen Lösung in physikalischer Chemie und Technik nicht befremden. Ubrigens dürfte für trockene Kolloide ein amorpher Aggregatzustand anzunehmen sein, der ja dem flüssigen in mancher Richtung näher steht als dem festen.

zogen. Die dabei für die Phenolverteilung gewonnenen Resultate finden sich in Tabelle VII, 12 wiedergegeben, während das Verhalten der Eiweißscheiben in Tabelle VI zusammengefaßt erscheint.

Die Stäbe 2 und 3 geben die Phenol- und Salzgehalte der wässrigen Gleichgewichtsphase konform mit den Daten der Tabelle VII, 12. Die geringen Salzgehalte der Endlösungen 1, 5, 8 und 10 stammen aus dem Coagulum. Ein Drittel dieser geringen Salzmenge, welche auch für die anderen Versuche berücksichtigt wurde, ist nicht als NaCl zu betrachten und ist in die Berechnung von Stab 4 und 5 nicht einbezogen.

Es zeigt sich zunächst, daß hier die Übereinstimmung zwischen dem berechneten und dem gefundenen Verhältnis NaCl:Wasser (Stab 4 und 5) eine sehr weitgehende ist. Die geringen Abweichungen charakterisieren sich schon durch ihre Verteilung nach oben und unten als zufällige Fehler. Die obige Schlußfolgerung, daß durch die Gegenwart der Eiweißphase der Lösung weder Salz noch Wasser in meßbaren Mengen einseitig entzogen werde, ist damit voll zu bestätigen.

Zur Kontrolle der Quellungsverhältnisse wurde das Volumen der wässrigen Endphase durch Pipettenmessung tunlichst genau bestimmt. Trotz aller Vorsicht kann diese Methode freilich im Vergleich mit den übrigen Maßzahlen der Versuche nur recht ungenaue Werte liefern, die aber für einen allgemeinen Überblick der herrschenden Beziehungen ausreichend sind. Den daraus abgeleiteten Zahlen der Stäbe 7 bis 13 kommt aber infolgedessen durchweg nur der Charakter von Näherungszahlen zu.

Es ergibt sich ferner, daß eine sichere Veränderung des Volums der wässrigen Phase in den zwei ersten Versuchen nicht beobachtet werden konnte, während dasselbe in allen folgenden zugenommen hatte (Stab 6).

Die Volumvermehrung der freien Lösung wurde direkt als Volumverminderung des Coagulums betrachtet und als prozentische Abnahme (Stab 7) wiedergegeben. Damit erscheinen allerdings die stattgehabten Verschiebungen der Lösungskontraktion in beiden Phasen vernachlässigt, was aber im Zusammenhang mit der geringen Genauigkeit der Daten berechtigt ist.

Die entsprechende Abnahme der Coagula (Stab 7) erscheint unter dem Einflusse des Salzes weit geringer als unter dem des Phenols. Reine NaCl-Lösung verursacht selbst in einer Konzentration von 25% g/ccm erst 13% Volumverlust, während eine fast salzfreie Phenollösung schon bei 2,7% g/ccm einen

Tabelle VI.
 etwa 3 g Coagulum mit 10 ccm Lösung. Wassergehalt = 90,347%
 NaCl = 0,602%
 Andere Asche = 0,301%

Nr.	Phenol- gehalt % g/ccm		3 % g/ccm	NaCl: Wasser % g/g		6 Volum der End- phase	7 Volum- änderung des Coagulums % ccm/ccm Av	8 Gewichts- änderung des Coagulums % g/g Ausg- Gewicht	9 Wasser- gehalt des Coagulums % g/ccm Endcoag.	10 Lösungsgehalt des Coagulums			13 g/g Trock- Eiweiß korr.	14 Phenolgehalt der Trocken- phase % g/ccm aus der Phenolver- teilungs- rechnung
	1 % g/ccm	2 % g/ccm		4 be- rechn.	5 gefun- den					10 % g/ccm Endcoag.	11 korr.	12 korr.		
1	0,246	0,164	0,164	0,164	10,00	—	—	93,1 (93,2 normal)	93,4 (94,2 normal)	10,5	10,5	10,5	10,14	
2	6,240	6,295	6,287	6,287	10,00	—	—	91,5	97,3	10,8	10,8	10,8	16,24	
3	12,71	13,16	13,18	13,18	10,05	— 2	— 5	89,2	100,7	11,0	11,0	11,0	23,85	
4	25,46	27,86	28,00	28,00	10,35	— 13	— 1	83,8	106,6	10,3	10,3	10,3	23,85	
5	1,295	0,237	0,160	0,161	10,20	— 16	— 6	91,0	93,2	92,3	92,3	92,3	10,14	
6	1,136	6,192	6,292	6,296	10,55	— 16	— 13	88,0	96,7	95,3	95,3	95,3	16,24	
7	0,993	13,197	13,84	13,84	11,05	— 37	— 36	81,6	91,2	87,9	87,9	87,9	23,85	
8	2,687	0,193	0,133	0,132	10,50	— 19	— 19	87,1	92,2	89,4	89,4	89,4	24,66	
9	2,217	6,651	6,907	6,869	11,25	— 52	— 48	75,6	90,7	82,4	82,4	82,4	36,32	
10	5,097	0,186	0,132	0,130	11,30	— 53	— 51	71,3	88,7	75,7	75,7	75,7	45,69	

Verlust von 19%, bei 5,1% einen solchen von 53% des Volums bedingt. Kombinierte Lösungen von Salz und Phenol befördern die Schrumpfung weit mehr als eine einfache Superposition beider Einzelwirkungen erwarten ließe.

Die Gewichtsverhältnisse ließen sich annähernd berechnen, indem die Summe aller anwesenden Lösungsmittel (Wasser, Salz, Phenol) um das Gewicht der freien Lösung — als spezifisches Gewicht \times Volum — vermindert und um das Eiweißrockengewicht vermehrt wurde. Als solches wurde — unter Vernachlässigung der übrigen organischen Serumbestandteile — der Trockenrückstand des Coagulums nach Abzug der Salze aufgenommen.

Die prozentische Gewichtsänderung (Stab 8) der Coagula verhält sich in allem der Volumänderung sehr ähnlich, mit der einen Ausnahme, daß reine Salzlösungen überhaupt keinen nennenswerten Gewichtsverlust — bei mittlerer Konzentration sogar einen geringen Gewichtsgewinn — hervortreten lassen.

Es liegt nahe, diese Ergebnisse dahin zu deuten, daß im Coagulum zunächst ein gewisser Raum für imbibierte Außenlösung zur Verfügung steht, der bei steigendem Salzgehalt sich zunächst mit dem gleichen Volum der immer schwereren Lösung füllt, daß aber bald die maximale Gewichtstragkraft des Coagulums erreicht wird, die sich dann unter entsprechend fortschreitender Volumverminderung auch bis zu hohem Salzgehalte hinauf in fast unverminderter Stärke betätigt. Dagegen scheint das Phenol von vornherein diese Tragkraft des Coagulums zu beeinträchtigen, und es scheint hierin von dem allein wirkungslosen Salz wesentlich unterstützt zu werden. Die Tatsachen bekräftigen also die oben entwickelte Vorstellung, daß das Salz mit dem Eiweiß nicht direkt in Beziehung tritt. Das Phenol tut das aber offenbar in hohem und bei Salzgegenwart in noch vermehrtem Maße, was die in Frage stehende Vermutung über die Phenollösung durch Eiweiß und die analoge Beeinflussung derselben durch NaCl wie beim Öl — vorläufig qualitativ — bestätigt.

Die in mittleren reinen Salzlösungen anscheinend erhöhte Tragfähigkeit des Coagulums könnte mit der von Hofmeister (19) beobachteten erhöhten Quellbarkeit von Leimscheiben in ebensolchen Salzlösungen in Zusammenhang gebracht werden. Die Steigerung ist aber dort eine bei weitem größere als in dem vorliegenden Versuche. Ihr entspricht eine Erhöhung des Wassergehaltes, die hier fehlt (Stab 9). Die Möglichkeit einer echten Tragkrafterhöhung dürfte von der Elastizität, und damit

von der Vorgeschichte des Gels abhängen. Das Hitzecoagulum vermag wohl infolge geringer Elastizität in schwachen Lösungen seine Tragkraft nicht völlig auszunutzen und damit muß diese geringer erscheinen. Jedenfalls sprechen aber Erhöhungen derselben überhaupt nicht wie ausgeprägte Erniedrigungen für eine intensivere Lösungsbeziehung zwischen Gel und Lösungstoff.

Der Volumegehalt des Coagulums an Wasser (Stab 9) konnte aus der Differenz des angewendeten Gesamtwassers und des freien Wassers berechnet werden. Dasselbe nimmt auch in reinen Salzlösungen mit steigendem Gehalt ständig ab, was schon nach dem Verhalten des Volumens zu vermuten war. In gleicher Weise wurde der Gehalt an Lösungstoffen im Coagulum ermittelt und im Verhältnis zum Volumen desselben (Stab 10) sowie zum Gewicht des Trockeneiweißes (Stab 12) wiedergegeben. Die letztere Reihe zeigt für die reinen Salzlösungen — entsprechend dem Verhalten der Gesamtgewichte — nahezu Konstanz, die erstere einen ziemlich gleichmäßigen Anstieg.

Die Zahlen der phenolhaltigen Reihen weisen überall das schon beim Volum erörterte Verhalten auf. Ein quantitatives Erfassen dieses letzteren war nach dem Gesagten durch eine Beziehung auf den Phenolgehalt der wässrigen Lösung nicht möglich, viel eher von einer solchen auf den Phenolgehalt des Coagulums selbst zu erwarten.

Die Phenolkonzentrationen auf die Lösungstoffe im Coagulum sowohl als auch auf dieses selbst berechnet, waren ja wesentlich größer als die der freien Lösung, und selbst wieder vom Salzgehalt der letzteren abhängig. Doch ergaben auch diese Größen, als unabhängige Variable betrachtet, keine einfach überblickbaren Verhältnisse der einzelnen Zustände; d. h. Größe, Gewicht, Wasser- und Lösungsgehalt der Coagula sind auch von diesen Werten nicht einfach abhängig. Dies war jedoch auch nicht anders zu erwarten, da eine gleichmäßige Verteilung des am Coagulum haftenden Phenols über die imbibierte Lösung oder über das ganze Coagulum als äußerst unwahrscheinlich gelten muß.

Schon nach dem bisher Entwickelten muß aber die Vorstellung als die plausibelste bezeichnet werden, daß die imbibierte Lösung gleichen Phenolgehalt wie die Außenlösung besitze, während der Rest des am Coagulum gebundenen Phenols als im Eiweiß, und zwar im annähernd wasserfreien Eiweiß, gelöst zu betrachten sei. Eine rationelle Beziehung war danach am ehesten zwischen den genannten Quellungs Zuständen und der

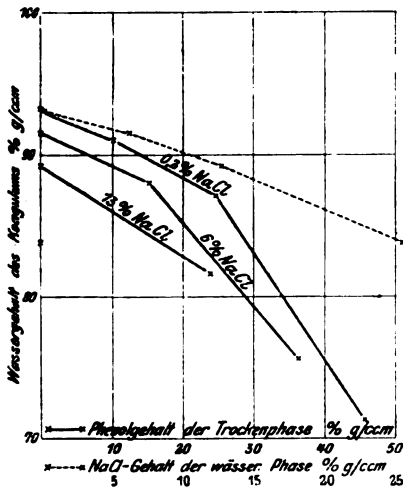
— allerdings hypothetischen — Volumkonzentration des Phenols in der wasserfreien Eiweißphase zu erhoffen.

Jene Zustände waren für diese Berechnungsweise nicht anders als für die bisherigen einzusetzen, mit Ausnahme der Lösungsgehalte der Coagula, welche um den Teil des Phenols vermindert werden mußten, der als an das Trockeneiweiß gebunden zu betrachten war. Dieser Korrekturwert war leicht aus dem Verhältnis Phenol:Wasser in der wässrigen Endphase und dem Wassergehalte der Coagula zu schätzen und in Anrechnung zu bringen. Die Stäbe 11 und 13 enthalten die entsprechend korrigierten Werte, d. h. also die mutmaßlichen Mengen der mit der Außenlösung übereinstimmenden Lösung im Coagulum.

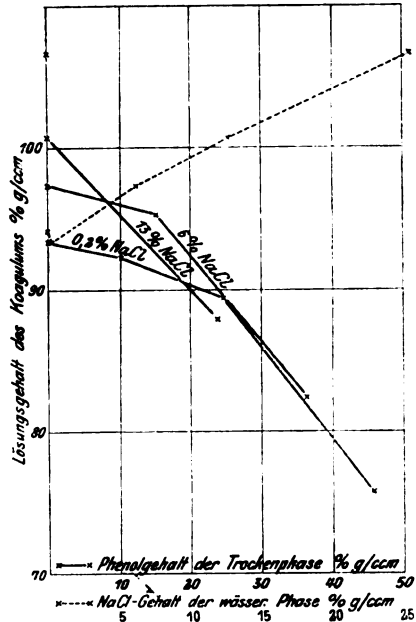
Der Phenolgehalt der Eiweißtrockenphase dagegen wäre auf diesem Wege nur sehr ungenau berechenbar gewesen. Auf Grund der wiederholt erörterten, hier auf ihre Stichhaltigkeit zu prüfenden Annahme wurde jedoch dieser Wert im Rahmen der unten darzulegenden Phenolverteilungsrechnung unabhängig von den Volummessungen der wässrigen Endphase — also wesentlich genauer — ermittelt, und er kann demnach hier ohne weiteres als unabhängige Variable Anwendung finden. Diese Volumberechnung ist naturgemäß von den genannten Hypothesen über die Art des Gelzustandes unserer Coagula nicht unabhängig. Als Eiweißtrockenvolumen wird die Differenz des Gesamtvolumens und des Lösungsvolumens des Ausgangscoagulum angenommen. Es ergibt sich bei Serum — Coagulum im Mittel als 6,4%, in unserem Falle 6,318% des Ausgangsgewichtes im Kubikzentimetern. Daß bei vielen Quellungs Vorgängen starke Kontraktion nachgewiesen wurde, beweist nichts gegen die Stichhaltigkeit dieser Annahme, da es nach dem Gesagten zweifellos Gele gibt, für die sie nicht oder nicht so gut wie für unsere Hitze-coagula zutrifft. Das aus der Lösung verschwundene Phenol wird seinem Hydratvolum nach zu dieser Trockenphase addiert, wobei das Verhalten des Phenols zum Öl auch hier als gültig vorausgesetzt ist.

Stab 14 enthält die entsprechenden aus der Verteilungsberechnung entnommenen Werte dieser Trockenphasenkonzentration. Während nun Volum, Gewicht, Wasser- und Lösungsgehalt pro Gramm Trockeneiweiß, auch als Funktion dieser Variablen betrachtet, einheitliche Beziehungen der Werte bei graphischer Betrachtung nicht hervortreten lassen, ist dies für die auf das Coagulumvolumen bezogenen Wasser- und Lösungsgehalte tatsächlich in einem Maße der Fall, das für so unsichere Zahlenwerte als ausreichend bezeichnet werden darf. Die graphische Darstellung dieser Abhängigkeit zeigt, besonders deutlich für die Volumwassergehalte (Kurvenbild 2), eine einfache Summierung der Wirkungen des Salzgehaltes der wässrigen und des Phenolgehaltes der trockenen Phase. Die Be-

ziehungen lassen sich in diesem Falle — natürlich nur in grober Annäherung — dahin ausdrücken, daß die Wassergehaltsabnahme, welche das Coagulum in einer Salzlösung durch das Auftreten des Phenols erfährt, der 1,5. Potenz des Phenolgehaltes der Trockenphase proportional sei. Der annähernde Parallelismus der 3 ausgezogenen Kurvenzüge, welche die Werte gleichen Salzgehaltes verbinden, läßt erkennen, daß damit der Einfluß



Kurvenbild 2.



Kurvenbild 3.

des Salzes in phenolhaltigen Lösungen recht erschöpfend ausgedrückt ist. Ähnlich verhalten sich die Kurven des Lösungsgehaltes (Kurvenbild 3), deren Betrachtung vielleicht von theoretischen Gesichtspunkten aus richtiger wäre. Sie sind durch eine formal gleichartige Beziehung auszudrücken, in der sich die Exponenten dem Werte 2, d. h. die Kurven der Parabelform nähern. Doch ist im einzelnen hier die Übereinstimmung eine minder gute, besonders zeigt der NaCl-reichste Wert einen noch immer zu großen Lösungsverlust. Die gestrichelten Linien der Kurvenbilder zeigen das Verhalten des Coagulums in phenolfreien Salzlösungen.

Die Tatsache, daß sich die Beziehungen dieser Werte einfach überblickbar gestalten, darf immerhin für die Richtigkeit

oder doch Brauchbarkeit der zugrunde liegenden Annahmen verwertet werden.

3.

Die auf diesen Grundlagen aufbauende Verteilungsberechnung selbst erstreckt sich auf 40 Einzelversuche, die in 12 Reihen gruppiert mit Serumcoagulum durchgeführt wurden und deren wesentliche Daten und Ergebnisse in Tabelle VII geordnet erscheinen.

Die durch Messungen im einzelnen Falle ermittelten Werte sind von den als Mittel aus anderen Versuchen angenommenen oder aus bereits wiedergegebenen Daten durch reine Rechenoperationen gewonnenen Zahlen durch den Druck unterschieden.

Die Nummern des 1. Stabes kennzeichnen die zeitliche Reihenfolge der angestellten Untersuchungsreihen. Die Temperatur (Stab 2) wurde in den anfänglichen Versuchen nicht genau kontrolliert und ist für diese mit $17,5^{\circ}$ C angenommen, später wurde sie innerhalb der einzelnen Reihen teils absichtlich stark variiert, teils bei $17,5$ oder 15° C konstant erhalten. Stab 3 bis 7 gibt die für die Berechnung wesentlichen Daten über das verwendete Coagulum. Der Wassergehalt wurde für die Reihen 1, 11 und 12 bestimmt, bei den übrigen als Mittel der drei Befunde angesetzt. Der Salzgehalt des Serums wurde in den Versuchsreihen 2, 3 und 12 kontrolliert, sonst mit $0,90\%$, davon $0,60\%$ NaCl angenommen. Das spezifische Gewicht des Coagulums ist in der 1. Reihe mittels des Pyknometers, in der 2. mit der Mischmethode geprüft, in den Reihen 11 und 12 aus dem Vergleich des Wassergehaltes mit dem Coagulum der Reihe 1 berechnet, sonst mit $1,0321$ als Mittelwert angenommen. Der Wert für Trockeneiweißvolum pro Gramm Ausgangscoagulum (Stab 7) ergibt sich aus den jeweiligen spez. Gewichts-, Wasser- und Salzgehaltswerten in der dargelegten Weise. Der Meßfehler des wässerigen Ausgangsvolumen (Stab 8) konnte nach wiederholten Eichungen der benutzten Pipetten nur einen Bruchteil von $0,01$ cm betragen. Die Phenol- und Kochsalzwerte wurden in der für die Ölversuche beschriebenen Weise durch Titration ermittelt. Filtration der Endphase war auch hier nötig, um Br-Verlust durch mitgerissene Coagulumstückchen zu vermeiden. In den angegebenen Gleichgewichts-Salzgehalten (Stab 12) sind durchweg auch die anderen Salze des Serums als NaCl mitgerechnet, da der Unterschied ihrer Wirkung auf die Verteilung nur einen geringeren Fehler als ihre Vernachlässigung bedingen kann. Ihre Menge ist überall als die Hälfte (21) der festgestellten oder angenommenen Serumkochsalzmenge eingesetzt. In den Reihen mit Salzzusatz wurde bei 11 und 12 der NaCl-Endgehalt der wässerigen Phase ebenfalls bestimmt und mit dem der Ausgangsphase zu einer Kontrollrechnung der NaCl-Verteilung benutzt, deren Ergebnis für Reihe 12 in Tabelle VI wiedergegeben wurden, für Reihe 11 ähnlich gut übereinstimmende Werte ergab. In den Reihen 9 und 10 wurde

Tabelle VII.

1	2	3	4	5	6	7	8	9		10		11	12	13	14
								Phenolgehalt % g/ccm	End- Ausgangs- phase	NaCl-Gehalt % g/ccm	End- Ausgangs- phase				
Nr.	Versuchs- temperatur ° C	Ge- wicht Cg	Serum-Coagulum				Trockenrest- Volum % ccm/g	Volum der wäss. Ausgangs- phase ccm	Phenolgehalt der wässrigen		NaCl-Gehalt der wässrigen		Volumver- teilungs- faktor Trocken- weiß Wasser		
			Wasser- gehalt % g/g	Salz- gehalt % g/g	Spez. Ge- wicht bei 17,5° C	Spez. Ge- wicht bei 17,5° C			100 Ap/ccm	100 Ep/ccm	100 Ap/ccm	100 Ep/ccm	aus d. Ver- such	redu- ziert	
1	17,5	3,4892	90,434	0,90	1,0313	6,263	20,00	2,003	1,570	—	0,13	9,22	9,14		
		4,2231	"	"	"	"	"	7,553	5,258	—	0,16	9,50	9,40		
2	"	4,6551	90,347	0,90	1,0320	6,318	"	0,9854	0,7459	—	0,17	7,13	7,04		
		3,6982	"	"	"	"	"	1,964	1,538	—	0,14	8,33	8,25		
		3,8773	"	"	"	"	"	4,565	3,388	—	0,15	9,68	9,57		
		3,5712	"	"	"	"	"	7,551	5,439	—	0,14	9,72	9,63		
3	"	7,0915	90,277	"	1,0321	6,380	"	0,5262	0,3550	—	0,24	6,98	6,87		
		8,3212	"	"	"	"	"	0,9893	0,6227	—	0,27	7,46	7,32		
		7,9073	"	"	"	"	"	1,891	1,197	—	0,26	7,95	7,81		
		8,5548	"	"	"	"	"	3,806	2,087	—	0,28	10,02	9,82		
		8,5970	"	"	"	"	"	4,545	2,642	—	0,28	9,45	9,27		
		7,6392	"	"	"	"	"	7,308	4,226	—	0,26	9,60	9,42		
4	"	9,2846	"	0,90	"	"	"	1,878	1,120	—	0,29	7,78	7,62		
		7,6393	"	"	"	"	"	7,567	4,571	—	0,26	10,99	10,80		
5	10	11,0467	"	"	"	"	"	7,593	3,749	—	0,36	9,73	9,49		
		11,9581	"	"	"	"	"	7,593	3,642	—	0,35	9,50	9,27		
6	17,5	6,7939	"	"	"	"	"	0,471	0,3326	—	0,23	4,96	4,88		
		6,8123	"	"	"	"	"	0,941	0,6513	—	0,23	6,06	5,96		
		6,7122	"	"	"	"	"	1,882	1,340	—	0,22	6,88	6,77		
7	"	20,3872	"	"	"	"	"	0,941	0,3934	—	0,48	6,93	6,67		
		10	5,0951	"	"	"	"	10,00	1,878	1,064	—	0,31	8,62	8,42	
8	22	5,0915	"	"	"	"	"	1,878	1,078	—	0,31	7,94	7,77		
		10	10,1723	"	"	"	"	20,00	7,148	3,575	—	0,31	10,57	10,34	
9	17,5	10,8569	"	"	"	"	"	3,146	1,398	10,705	7,562	17,13	10,07		
		15,8704	"	"	"	"	"	0,7903	0,2425	28,67	17,256	28,44	8,46		
10	"	7,9720	"	"	"	"	"	1,256	0,7595	4,740	3,754	10,67	8,01		
		7,6453	"	"	"	"	"	1,306	0,7367	10,493	8,074	14,70	8,34		
		7,5548	"	"	"	"	"	1,232	0,5985	19,19	14,618	25,34	9,07		
		4,9478	"	"	"	"	"	0,7595	0,3272	30,24	25,013	56,62	9,77		
11	"	8,2742	90,051	"	1,0330	6,660	"	1,345	0,8198	5,266	4,147	9,47	7,07		
		7,9145	"	"	"	"	"	1,345	0,7700	10,658	7,967	13,45	7,68		
		8,9467	"	"	"	"	"	1,371	0,6101	21,06	15,266	24,53	8,38		
		8,0914	"	"	"	"	"	0,7141	0,2878	30,70	22,673	37,58	7,64		
12	15	3,4214	90,347	0,903	1,0320	6,318	10,00	1,938	1,295	—	0,237	7,83	7,70		
		2,6674	"	"	"	"	"	3,877	2,687	—	0,193	9,17	9,06		
		2,5272	"	"	"	"	"	7,573	5,097	—	0,186	8,97	8,85		
		3,3963	"	"	"	"	"	1,868	1,136	7,762	6,192	13,41	8,68		
		2,8787	"	"	"	"	"	1,786	0,9933	16,31	13,197	22,94	9,07		
		2,5142	"	"	"	"	"	3,621	2,217	7,928	6,651	16,38	10,27		

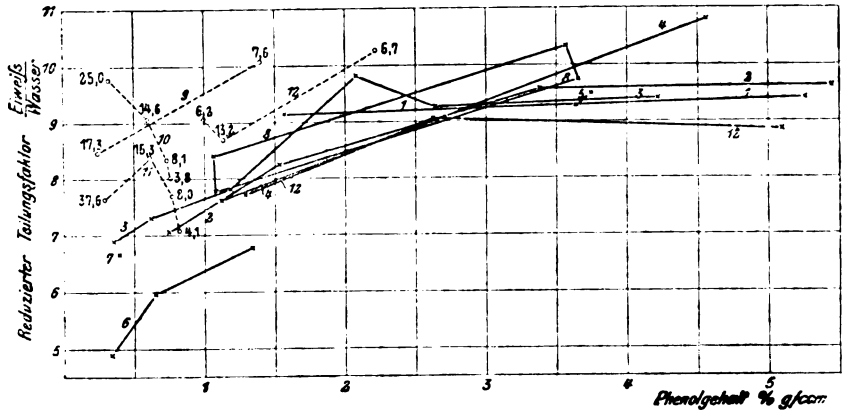
die Berechnung nach ganz analogen Prinzipien wie bei den Ölversuchen durchgeführt. Dabei waren die Gesamt-Salz- und Wassermengen um die aus dem Coagulum stammenden Mengen zu vermehren; für die nur bei einigen Versuchen überhaupt in Betracht fallende Korrektur auf das verlorene Phenolhydratwasser durfte die annähernd verlorene Phenolmenge als Differenz des Gesamtphenols ($A_v \times A_p/cem$) und des Produktes des Endphenolgehaltes mit der Summe von Ausgangsvolum und Coagulumwassergewicht — anstatt des Coagulumlösungsvolums — also: $E_p/cem (A_v + C_w/g C_g)$ angesetzt werden.

Diese beiden gleichen Korrekturrechnungen waren als erschöpfender Ausdruck der gegenüber den Ölversuchen geänderten Bedingungen auch in die Berechnung der Teilungsfaktoren einzuführen, die sich naturgemäß wieder nach einem für salzhaltige und salzfreie (bzw. -arme) Versuche formal übereinstimmenden Schema, hier:

$$F \left(\frac{\text{Trockeneiweiß}}{\text{Wasser}} \right) = E_p/cem$$

$$\left(\frac{T_v/g \cdot C_g}{A_v} \frac{E_s - E_p/cem}{(A_p/cem \cdot E_s - E_p/cem \cdot A_s) - E_p/cem \cdot \frac{C_g}{A_v} (C_w/g + C_k/g) + 1,0256} + 0,0957 E_p/cem (A_p/cem - E_p/cem - E_p/cem \cdot C_w/g \cdot C_g/A_v) \right)$$

gestalten ließ.



x Versuche mit NaCl-Zusatz. o Versuche ohne NaCl-Zusatz, daneben die NaCl-Gehalte in % g/ccm, im Zusammenhang gewonnene Werte sind verbunden.

Kurvenbild 4.

Ein Überblick über die Ergebnisse dieser Rechnung (Stab 13) lehrt zunächst für die Versuche ohne Salzzusatz im großen und ganzen das Zutreffen einer Übereinstimmung der Teilungswerte für verschiedene Phenolgehalte der Lösung. Bei genauerer Betrachtung, die besonders durch die graphische Darstellung (Kurvenbild 4) erleichtert wird, ist allerdings eine

gewisse Abhängigkeit der Werte von dem innerhalb der einzelnen Reihen ansteigenden Phenolgehalt nicht zu verkennen. Die 13 Teilungswerte in Lösungen, die über 2% Phenol enthalten, erweisen sich als ausreichend konstant; ihr Mittel beträgt 9,75, die Zerstreung der Einzelwerte um dasselbe ist ziemlich symmetrisch nach oben und unten gruppiert, die Abweichung beträgt im Maximum 1,24, im Mittel 0,41. Demgegenüber zeigen die Werte der Versuche mit schwächeren Lösungen einen deutlichen Gang mit dem Phenolgehalte, und zwar in der Weise, daß sich dieselben von rund 7,0 bei der schwächsten untersuchten Konzentration (etwa 0,3% Phenol) mit deren Ansteigen zu dem obigen Konstanzwerte allmählich erheben. Einzelne Versuchsreihen (6 und 12) weisen dabei noch niedrigere, aber ebenfalls regelmäßig ansteigende Zahlen auf.

Diese Befunde sind wohl am einfachsten dahin aufzufassen, daß eine echte Verteilung des Phenols zwischen Eiweiß und Wasser in dem angenommenen Sinne tatsächlich besteht, daß aber die gemachten Annahmen in schwachen Phenollösungen weniger genau zutreffen als in stärkeren. Oberhalb eines Phenolgehaltes von 2% ist demnach die Eiweißphase in auch für diese Betrachtung ausreichender Annäherung als wasserfrei zu betrachten, während bei geringeren Gehalten noch kleine Wassermengen im Eiweiß gelöst sein dürften, die zwar nicht für die Berechnung der Kochsalzverteilung, wohl aber für die weitaus schärfere der Phenolverteilung ins Gewicht fallen. Ob damit das wahre Volum der Eiweißphase als größer oder kleiner als es für die Berechnung angenommen wurde, gedacht werden muß, ist nicht mit völliger Sicherheit zu entscheiden, weil die hier jedenfalls beträchtlichen Kontraktionsverhältnisse unbekannt sind. Rodewald (23) hat bewiesen, daß gequollene Stärke ein absolut kleineres Volumen als getrocknete einnehmen könne. Immerhin wird für eine relativ stärkere Wasseraufnahme, wie sie in unserem Falle vorliegen dürfte, eine absolute Vergrößerung der gesamten Phase anzunehmen sein, so daß sich bei Kenntnis und Berücksichtigung der tatsächlichen Verhältnisse der Teilungsfaktor für diese phenolärmeren Versuche noch weiter erniedrigen würde.

Es ist dann aus den dargelegten Ergebnissen zu schließen, daß das Eiweiß ein um so schlechteres Lösungsmittel des

Phenols vorstellt, je mehr echtes Quellungswasser es enthält, daß aber das Phenol selbst dieses letztere nach Maßgabe seiner Konzentration zu verdrängen imstande ist. Die Erklärungsweise steht in Analogie zu der Vorstellung, daß eine Phenolhydratphase durch die Gegenwart von Öl Wasser verliere, welche im Vorausgehenden zum Verständnis der dort beobachteten Löslichkeitsverschiebungen herangezogen wurde.

Als weiteres nicht unwichtiges Ergebnis läßt sich aus den Versuchen 5 und 8 ableiten, daß der Einfluß der Temperatur auf die Verteilung ein geringer sei. Alle diese Versuche weisen aber in der Richtung einer leichten Verschiebung der Verteilung zugunsten des Wassers bei steigender Temperatur, wie ja auch für Öl bei 100° C ein wesentlich niedrigerer Faktor zu beobachten war.

Was nun den Einfluß des Salzgehaltes betrifft, so ist der starke Ausschlag in der erwarteten Richtung einer Verschiebung der Teilungsfaktoren zugunsten der Eiweißphase auf den ersten Blick zu erkennen. Einer quantitativen Auswertung in der für die Ölversuche geübten Form stand aber das Bedenken gegenüber, daß hier der Annahme eines mittleren Normalteilungswertes nach dem Dargelegten eine starke Willkürlichkeit angehaftet hätte, um so mehr, als der Phenolgehalt der Gleichgewichtsphase in allen Salzversuchen — eben infolge der Verschiebung des Teilungsfaktors — niedrig, in fast allen kleiner als 2%, war. Aus diesem Grunde wurde der umgekehrte Gang der Rechnung eingeschlagen, d. h. es wurde in der an den Ölversuchen bestätigten Beziehung:

$$F_{\text{NaCl}} = F_0 \cdot e^{k \cdot E_k / c_{\text{cm}}},$$

das k mit dem dort ermittelten Werte von 7,03 angenommen und der zu jedem Versuche gehörige F_0 -Wert, der Normalfaktor, bestimmt. Die Bestätigung der Gesetzmäßigkeit mußte sich so daraus ergeben, daß die auf Salzfreiheit der Lösung reduzierten Werte mit den ohne Salzzusatz gewonnenen übereinstimmen sollten.

Dabei war nun aber auch der geringe Salzgehalt dieser letzteren nicht mehr zu vernachlässigen und leicht zu berücksichtigen, indem dieselbe Methode der Reduktion auf Salzfreiheit an allen Versuchen gleichmäßig durchgeführt und der Vergleich an den so gewonnenen Werten angestellt wurde

(Stab 14). Wie ein Blick lehrt, hat das Verfahren für die Werte der salzarmen Versuche lediglich die Bedeutung einer geringfügigen Korrektur, während die Zahlen der Salzversuche damit sowohl untereinander als auch mit den ersteren eine weitgehende Annäherung erfahren. Der Mittelwert der 13 konstanten Normalversuche (über 2^o/_o Phenol in der Lösung) lautet nunmehr 9,59, die maximale Abweichung 1,21, die mittlere 0,32, die Art der Zerstreuung der Werte erfährt keine Veränderung.

Die reduzierten Teilungswerte der Salzversuche lassen, wie das Kurvenbild am einfachsten zeigt, die oben festgestellte Abhängigkeit vom Phenolgehalte nur insoweit erkennen, als die einzige bei mehr als 2^o/_o Phenol gewonnene Zahl auch die höchste ist und unter den phenolarmen Proben den minder salzreichen immer besonders niedrige Teilungswerte zukommen. Diejenigen der salzreichen Lösungen liegen aber meist dem genannten Normalmittelwert nahe. Es darf danach im Sinne der obigen Erklärung angenommen werden, daß das Salz nur in recht hohen Konzentrationen eine annähernd so vollständige Entwässerung der Eiweißphase bewirkt wie das Phenol schon in recht geringen, was mit dem erörterten Verhalten des Gesamtquellungswassers des Coagulums völlig übereinstimmt.

Der Mittelwert aller reduzierten Faktoren der 13 Salzversuche ergibt sich mit 8,50, die maximale Abweichung als 1,7, die mittlere 0,75, die Zerstreuung der Werte ist eine ziemlich gleichmäßige. Sowohl der geringere Mittelwert als auch die größeren Schwankungen sind nach dem Gesagten durchaus verständlich. Die letzteren dürften größtenteils auf tatsächlichen Unterschieden des Gehaltes an molekularem Quellungswasser beruhen, welche vielleicht durch ähnliche exaktere Feststellungen in ihrer Gesetzmäßigkeit überblickbar werden könnten.

Jedenfalls beweist aber der vorliegende Grad von Übereinstimmung den im wesentlichen gleichartigen Einfluß der Salzgegenwart auf die Phenolverteilung zwischen Wasser und einer Eiweißphase wie zwischen Wasser und Öl.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen stützen wieder ihrerseits durch ihre verhältnismäßige Einfachheit und ihre Übereinstimmung mit der Erwartung die Brauchbarkeit bzw. die Richtigkeit der über die Natur des vorliegenden Gelzustandes gemachten Annahmen.

4.

Anhangsweise wurden ähnliche Untersuchungsreihen auch mit Bakterienmassenkulturen als eiweißreiche Phase durchgeführt. Damit sollte einerseits der Versuch gemacht werden, doch auch noch das native Eiweiß des Zelleibes auf sein chemisches Verhalten zum Phenol im zweiphasigem System zu prüfen, andererseits schien es gerade im Hinblick auf die zu suchende Beziehung dieses Verhaltens zur Desinfektionskraft erwünscht, die gewonnenen Vorstellungen über den physikalisch-chemischen Ablauf der Vorgänge an Bakterienleibern selbst bestätigt zu sehen.

Es wurden zu dem Zwecke Massenkulturen von *Bacterium pyocyaneum* auf der Oberfläche sterilisierter Kartoffelscheiben angelegt und in feuchter Kammer etwa 10 Tage bei 37° C gehalten. Darauf wurden die üppigen Kulturrasen, die eine halb feste, schleimig zähe Masse vorstellten, abgestreift und vereinigt. Diese Masse war nunmehr in ganz gleicher Weise, wie sonst die Serum-Coagula zu den Teilungsversuchen heranzuziehen, nachdem ihr spezifisches Gewicht mittels der Mischmethode, ihr Wasser- und Eiweißgehalt durch Trocknung ermittelt war. Die Trennung der Phasen sollte durch Abzentrifugieren der durch das Schütteln aufgewirbelten, fast gleichmäßig in der Lösung verteilten Bakterienleiber geschehen. Dabei ergaben sich Schwierigkeiten, die eine genauere rechnerische Behandlung dieser Versuche sehr erschwerten, zum Teil unmöglich machten.

In den salzfreien Versuchen war eine Klärung durch Zentrifugieren nur sehr unvollkommen erreichbar. Um einen Überblick über die Menge der suspendiert gebliebenen Bakterienmasse zu gewinnen, wurden Proben der wässrigen Gleichgewichtsphase getrocknet, was ergab, daß bei der Mischung von rund 0,3 g Bakterienmasse mit 4,0 ccm Wasser fast die Hälfte, bei rund 1,0 g mit 10 ccm sogar $\frac{7}{10}$ der Bakteriensubstanz sich noch in der Lösung befanden. Dieses Ergebnis wollte jedoch zu der Intensität der Trübung im Verhältnis zur abzentrifugierten Masse keineswegs stimmen, so daß außer der mangelhaften Sedimentierung auch echte — oder kolloidale — Lösung eines wesentlichen Anteiles der Bakteriensubstanz anzunehmen war. Gesetzmäßige Beziehungen dieses Lösungsvorganges ließen sich nicht erkennen.

Die Berechnung, welche der Vergleichbarkeit halber in derselben Weise wie für die Coagulumversuche nur mit einigen weiteren Vernachlässigungen — z. B. des Hydratwassers, des Salzgehaltes der Bakterien und der Kontraktionsvorgänge — durchgeführt werden sollte, war hierdurch für diese Versuche fast illusorisch gemacht. Es konnte zwar das Br-Bindungsvermögen der Bakterienmasse bestimmt und für die Berechnung der Phenoltitration der Endlösung in Anrechnung gebracht werden, doch gestatteten die oft nur geringen Reste der übrig gebliebenen

Bakterienmasse keine genügend sichere Volumberechnung. Es ergaben sich äußerst schwankende Werte des Teilungsfaktors, die beispielsweise in einer Versuchsreihe 9,8, 6,1, 18,1 lauteten. Immerhin ist auch hieraus die Richtung einer weitaus höheren Löslichkeit des Phenols im Bakterieneiweiß als im Wasser zu erkennen, die mit derjenigen im Serum-eiweiß wenigstens der Größenordnung nach übereinstimmt.

Etwas günstiger lagen die Verhältnisse bei den Salzversuchen. Hier konnte leicht eine klare und farblose Lösung gewonnen werden. In den ersten der 2 Versuchsreihen, die nur aus je 2 Einzelversuchen bestanden, wurde das Zurückbleiben von Bakteriensubstanz in der wässrigen Lösung aus diesem Grunde überhaupt vernachlässigt, was jedoch, wie eine Nachprüfung im 2. Versuche lehrte, keineswegs angeht. Hier befanden sich trotz völliger Klarheit bei 10 com Lösung und 0,6 com Bakterienmasse etwa $\frac{1}{3}$ der letzteren in Lösung. Die Berechnung des 1. Versuches ist deshalb mit unbekanntem Fehlern behaftet. Sie ergab 18,4 und 22,6 als Teilungsfaktoren für rund 5 und 10% Kochsalzgehalt, was auf Salzfreiheit reduzierten Faktoren von 12,0 und 7,4 entspricht.

Tabelle VIII.

1	2	3	4	5	6	7	8
Gewicht der Bakterienmasse	Volum der Ausgangslösung	Phenolgehalt % g/ccm der wässrigen Ausgangs- Endphase		NaCl-Gehalt % g/ccm der wässrigen Endphase	Gehalt der wässrigen Endphase an Bakt. Trockensubstanz % g/ccm	Volumverteilungsfaktor Bakt. Trockensubstanz Wasser reduziert	
0,6320	10,00	2,150	1,772	5,598	0,48	24,62	14,40
0,5567	10,00	1,087	0,7879	11,23	0,40	48,50	14,15

Die 2., nach dem Gesagten allein tunlich exakte Versuchsreihe mit Phenolsalzlösungen (Tabelle VIII) ergab als Faktoren 24,62 und 48,50 für 5,59 und 11,23% NaCl-Gehalt. Dies entspricht den reduzierten Faktoren 14,4 und 14,2. Dürfte man aus dieser — wohl nur zufällig so guten — Übereinstimmung Schlüsse ziehen, so wäre das Bakterieneiweiß als noch besseres Phenollösungsmittel als das Serum-eiweiß zu betrachten. Vielleicht könnten ähnliche exakte Feststellungen zu einer rationalen Grundlage der „inneren Antisepsis“ führen.

Jedenfalls erscheint durch die dargelegten Versuchsergebnisse das Verhalten des Bakterienleibes zum Phenol als wesentlich gleichartig mit dem der Serumcoagula erwiesen. Auch hier findet eine echte Lösungsverteilung statt, deren Gleichgewicht durch Salzgegenwart in typischer Weise zu verschieben ist.

Berichtigung.

Band 21 S. 116 4. Zeile von unten:

**P. Großer, Berl. klin. Wochenschr. 1909, 595 statt Münch. med.
Wochenschr. 1908.**

Band 21 S. 533 20. Zeile von unten:

**statt Allochlorophyll zu lesen Alkachlorophyll,
ebenso auf S. 546 Zeile 13 und Zeile 24 von oben.**

Zur Theorie der Desinfektion.

I. Abhandlung.

Die Desinfektionswirkung des Phenols. III.

Von

Heinrich Reichel.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität in Wien.)

Mit 3 Kurvenfiguren im Text.

2. Fortsetzung und Schluß.

Die desinfizierende Wirkung des Phenols und ihre Beeinflussung durch NaCl.

1.

Die Frage, ob die im vorstehenden dargelegten Beziehungen des Phenols zu den Körpersubstanzen tatsächlich für seine tötende Wirkung maßgebend seien, war aus den bisher über diese Wirkung vorliegenden Tatsachen nicht exakt zu entscheiden. Die eingangs genannten Arbeiten, die sich mit der Phenolwirkung und deren Alteration durch Salzgegenwart befassen, begnügen sich meist mit der Feststellung starker qualitativer Wirkungssteigerung einer bestimmten Phenolkonzentration durch das Salz. Ein quantitativer Vergleich solcher Befunde ist aber so lange unmöglich, als nicht die gegenseitige Abhängigkeit von wirksamer Konzentration und Zeitdauer bis zur erfolgten Wirkung festliegt. Ein solcher Vergleich hätte also zunächst von der Feststellung auszugehen, welche verschiedenen Phenolgehalte mit und ohne bestimmten Salzgehalt gleiche Wirkung ausüben. Die Erwartung, daß diese Konzentrationsgefüge dieselben sein müßten, welche nach dem Vorangehenden in anderen, damit ins Gleichgewicht gesetzten Phasen gleiche Phenolgehalte bedingen, schließt die Annahme in sich, daß der bei der Verteilung des Phenols zwischen Lösung

und Bakterienleib eintretende Konzentrationsverlust für die Lösung vernachlässigbar gering sei. Bei der relativen Kleinheit der Bakterienphase im gebräuchlichen Desinfektionsversuch trifft das wohl auch mit ausreichender Genauigkeit zu, wie ja auch die allgemein herrschende Lehre dahin geht, daß Phenolkörper bei der Desinfektionswirkung ihre Konzentration nicht verändern. Unter dieser Voraussetzung würde die Bestätigung jener Erwartung bedeuten, daß der Phenolgehalt der Bakterienphase selbst die Wirkung eindeutig bestimme.

Solche Feststellungen liegen nur in ganz ungenügendem Maße vor. Scheurlens (1) erste Angabe, daß phenolgesättigte Salzlösungen ähnlich wirksam seien wie salzfreie gesättigte Phenollösung, könnte als die einfachste, allerdings recht vage Bestätigung der obigen Annahme betrachtet werden. Denn es ist klar, daß alle phenolgesättigten wässerigen Phasen, die sehr verschiedenen Phenolgehalt aufweisen, auch gesättigten Phasen der Bakteriensubstanz entsprechen müssen, die sehr ähnliche — wenn auch gerade nach den Erfahrungen über gesättigte Lösungen nicht gleiche — Konzentration besitzen. Andere Feststellungen jener Autoren widersprechen unseren Annahmen nicht, wenn sie auch zu ihrer quantitativen Bestätigung nicht heranziehbar sind. Die Entscheidung war also in neuen Versuchen anzustreben.

Zunächst wurde die Frage so gestellt, ob Konzentrationsgemische von Phenol und NaCl, welche nach der gefundenen Gesetzmäßigkeit einen gleichen inneren Phenolgehalt der Körpersubstanzphasen bedingen, auch tatsächlich gleiche desinfizierende Wirkung entfalten.

Die Höhe solcher Konzentrationen war nach dem Vorausgehenden aus der Gleichung:

$$\text{Ph}/\text{ccm}_{\text{NaCl}} = \text{Ph}/\text{ccm} e^{-7.03 \text{ NaCl}/\text{ccm}}$$

zu entnehmen, sobald irgendwelche Zahlen für die salzfreie Vergleichslösung (Ph/ccm) und für die heranzuziehenden Salzgehalte (NaCl/ccm) eingesetzt waren. Auf diesem Wege wurde die Zusammensetzung von Lösungen berechnet, die mit 1%iger Phenollösung bei 5, 10, 15 und 20% NaCl übereinstimmende Wirkung hätten entfalten müssen. Die für 10 ccm Gesamtvolumen entfallenden Stoffe wurden auf 6,5 ccm gebracht und zu 3,5 ccm einer dichten Bakterienaufschwemmung zufließen gelassen. Als Bakterien kamen Typhusbacillen und Staphylokokken zur Anwendung. Die Herstellung der Aufschwemmung geschah durch Ab-

spülen von Sohrägagarkulturen mittels sterilen Wassers, die bei Typhusbacillen einen, bei Staphylokokken zwei Tage alt waren. Die Abschwemmung wurde durch Leinwand koliert. Für eine Serie gleichzeitig angestellter Versuche wurden die Kolate gemengt; jedem Versuch — also je 3,5 ccm Ausbeute — entsprach dabei ein Kulturröhrchen. Nach der Mischung von Desinfiziens und Aufschwemmung wurde mittels einer kleinen — und zwar immer derselben — Platinöse in den bestimmten Zeitintervallen in 10 ccm steriler Bouillon überimpft, die dann mindestens 8 Tage hindurch bei 37° C gehalten und beobachtet wurden. Die Methodik war auch in allen später anzuführenden Desinfektionsversuchen wesentlich dieselbe, nur wurde in den ausgedehnteren Reihen das Gesamtvolum der einzelnen Versuchslösungen auf 5 ccm, das der Aufschwemmung auf 1,8 ccm — also einem halben Kulturröhrchen entsprechend — reduziert. Ein störender Einfluß einer durch die Mitübertragung von Desinfiziens bedingten Entwicklungshemmung kann ausgeschlossen werden, da gerade dem Phenol eine solche Wirkung, wenigstens in den in Betracht kommenden Verdünnungen, überhaupt nicht zukommt (10). Naturgemäß sind nur solche Versuche als untereinander vergleichbar zu betrachten, welche gemeinsam, d. h. gleichzeitig mit identischem Bakterienmaterial angestellt sind.

Tabelle IX.
Versuche mit Typhusbacillen.

Nr.	Phenol %	NaCl %	Zeit in Minuten									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1,00		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,70	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,50	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,35	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,25	20	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2	1,00		+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	0,80	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,75	5	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,70	5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
3	1,100		+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
	0,700	5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	0,675	5	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,650	5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
4	1,90		+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
	0,70	5	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
	0,65	5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	0,60	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Die ersten der oben dargelegten Versuche sind mit ihrem Ergebnis in Tabelle IX 1 und X 2 und 3 wiedergegeben. Das Verhältnis der Konzentration von Phenol und Salz gestaltet

sich durch Zufall sehr einfach überblickbar. Die Größe der Konstanten unserer Gleichung bedingt, daß dem Werte von 10% NaCl recht genau die Hälfte desjenigen Phenolgehaltes entspricht, der damit in salzfreier Lösung verglichen werden soll. Der Form der Beziehung gemäß entspricht sodann 5% NaCl $1/\sqrt{2}=0,7$, 20% NaCl $1/4$ des salzfreien Phenolgehaltes.

Tabelle X.
Versuche mit Staphylokokken.

Nr.	Phenol %	NaCl %	Zeit in Minuten																					
			2	4	5	6	8	10	12	14	15	16	18	20	22	24	25	26	28	30	35	40	50	60
1	1,00				+			+																
	0,70	5			+			+													+	-	-	-
	0,50	10			+			+				+									+	+	+	+
2	1,00																							
	0,70	5																						
	0,50	10																						
	0,35	15						+																
3	1,00																							
	0,70	5							+															
	0,50	10							+															
	0,35	15																			+		+	+
4	1,00		+	+			+	+	+		+	+	+											
	0,90	5		+																				
	0,80	5	+	+			+		+															
5	1,00									+	+													
	0,77	5								+	+		+	+	+	+				+	+	+		
	0,74	5								+	+		+	+	+	+				+	-	-		

In den Reihen 1 der Tabelle IX und 2 der Tabelle X waren die verwendeten Bakterienstämme zu wenig resistent, als daß ein exakter Vergleich des Ergebnisses möglich wäre. Die drei ersten Gemische wirken allerdings gleichmäßig, aber durchwegs schon vor der zuerst untersuchten Zeit (1 bzw. 5 Minuten) abtötend. Der letzte Versuch ergibt in beiden Reihen eine etwas spätere Wirkung (nach 3 bzw. 5 Minuten). In den Reihen 1 und 3 der Tabelle X waren die Staphylokokken wiederum eher zu resistent, indem sie dreimal bis zur zuletzt untersuchten Zeit am Leben blieben. Doch ergibt sich in beiden Versuchsreihen eine vergleichsweise raschere Wirkung der phenolreichen, salzärmeren Lösungen, so daß eine Bestätigung der obigen Annahmen aus all diesen Versuchen nicht abgeleitet werden kann. Immerhin waren wenigstens im Versuche X 1

die sicheren Unterschiede in der Wirkung so sehr verschieden phenolhaltiger Lösungen nicht groß. Dabei erscheinen die bei Desinfektionsversuchen immer zu beobachtenden Unregelmäßigkeiten, Sprünge der Wirkung, gerade in diesen Versuchsreihen so stark vertreten, daß sie jedenfalls auch nicht für eine Widerlegung der Annahme wesentlich übereinstimmender Wirkung als ausreichend zu betrachten sind.

Um nun auch über den Grad der Genauigkeit solcher Versuche ein Urteil zu gewinnen, wurden die nächsten Reihen (Tabelle IX 2 bis 4, Tabelle X 4 und 5) mit der etwas geänderten Fragestellung durchgeführt, welcher Phenolgehalt bei Gegenwart einer bestimmten Salzmenge (5% NaCl) mit 1% Phenol in salzfreier Lösung gleich wirksam sei. Dabei ergibt sich das folgende: Konzentrationen über 0,70% Phenol mit 5% NaCl wirken durchweg, nämlich bei 0,90, 0,80, 0,77, 0,75 und 0,74% stärker, d. h. rascher als reine 1%ige Phenollösung, 0,70% Phenol mit 5% NaCl wirkt in drei Versuchen sehr ähnlich, aber immer etwas stärker als 1% Phenol, 0,675 und 0,65% verhalten sich ebenso, und erst 0,60% wirkt mit 5% NaCl deutlich schwächer als 1% Phenol allein.

Dieser Befund läßt unsere Annahme allerdings in größter Annäherung als zutreffend erscheinen, doch sind die dabei möglichen Abweichungen zu groß, um hierin eine ausreichende Bestätigung derselben zu erblicken. Im Gegensatz zu den zuerst besprochenen Versuchen weisen die hier beobachteten Wirkungsdifferenzen eher auf eine stärkere als auf eine schwächere Desinfektionskraft der salzhaltigen Lösungen im Vergleich zur Erwartung nach der zu prüfenden Gesetzmäßigkeit hin. Wenn auch diesem Ergebnisse im Hinblick auf die etwas größere Regelmäßigkeit des Ausfalles der Versuchsreihen eine gewisse Bedeutung beigemessen werden darf, so kann dieselbe doch auch in dieser Richtung keineswegs als entscheidend gelten, da es auch hier an widersprechenden Ergebnissen nicht fehlt, die die Genauigkeit der gemachten Feststellungen sehr gering erscheinen lassen.

Es erschien nun vor allem zur Ausschaltung von Zufälligkeiten nötig, die Zahl der vergleichbaren, d. h. im Zusammenhang angestellten Versuche wesentlich zu vermehren. Dazu gesellte sich die Überlegung, daß auch eine einwandfreie Beob-

Tabelle
Versuch mit

Nr.	Phenol %	NaCl %	Zeit in Minuten																							
			0,25	0,5	0,75	1	1,5	2	2,5	3	4	5	6	7	8	9	10	13	15	20	25	30	35	40	50	60
1	1,20		+	-	+	-																				
	1,05		+	+	+	-	-	-																		
	0,90			+		-	+	+	-																	
	0,75																									
	0,60																									
	0,45																									
	0,30																									
	0,15																									
	0,00																									
	2	1,05	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,90			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
0,75				+		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
0,60						+		+																		
0,45						+		+																		
0,30						+		+																		
0,15																										
0,00																										
3		0,90	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		0,75		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,60			+		+		+																		
	0,45					+		+																		
	0,30					+		+																		
	0,15																									
	0,00																									
4	0,90	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,75		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,60			-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,45					+		-																		
	0,30																									
	0,00																									

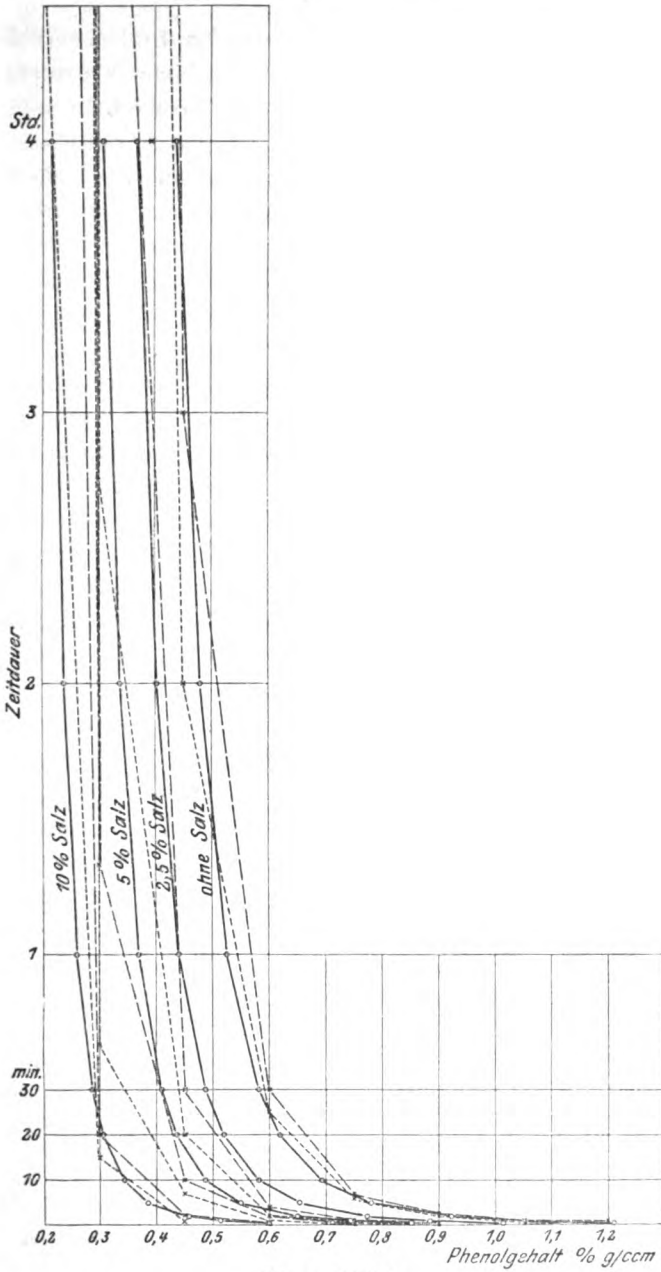
achtung von Abweichungen in der Wirksamkeit der für die Phenolverteilung gleichwertigen Lösungen bei der bisherigen Versuchsanordnung keinen Beweis gegen die eindeutige Abhängigkeit der Abtötungswirkung von der Erreichung einer bestimmten Innenkonzentration hätte abgeben können. Es ist durchaus denkbar, ja selbst wahrscheinlich, daß die Geschwindigkeit, mit der dieser maßgebende Zustand erreicht wird, nicht allein von der überhaupt erreichbaren, d. h. der Gleichgewichtskonzentration abhängt, sondern daß sich auch andere Einflüsse darauf geltend machen, etwa die sehr ungleiche Phenoldichte in der Lösung in der Richtung langsamerer Diffusion in den

Tabelle XII.

1	2	3	4	5	6	7	8	9								
									Tötende Phenolkonzentrationen ‰ g/cm							
									ohne NaCl		mit 2,5 ‰ NaCl		mit 5 ‰ NaCl		mit 10 ‰ NaCl	
									100 · Ph/cm		100 · Ph/cm _{NaCl}					
									berechnet aus $Z \cdot (\text{Ph}/\text{cm} - 0,0023)^4 = 4,6 \cdot 10^{-9}$	gefunden (interpoliert)	berechnet aus $\frac{\text{Ph}/\text{cm}_{\text{NaCl}} = \text{Num}}{(\log \text{Ph}/\text{cm} - \frac{7,03}{2,308} \text{NaCl}/\text{cm})}$	gefunden (interpoliert)	berechnet wie 4	gefunden (interpoliert)	berechnet wie 4	gefunden (interpoliert)
1/2	1,210	1,200—	1,015	0,750—0,900	0,852	0,700—0,750	0,599	—0,579								
1	1,054	1,030—1,200	0,884	0,675—0,750	0,743	0,600—0,700	0,514	0,450—0,537								
2	0,922	0,900—0,950	0,774	0,600—0,700	0,649	0,575—0,600	0,457	0,440—0,750								
5	0,780	0,788—0,833	0,654	0,575—0,594	0,549	0,500—0,544	0,386	0,407—0,425								
10	0,693	0,719—0,730	0,581	0,533—0,565	0,488	0,436—0,450	0,343	0,354—0,383								
20	0,619	0,639—0,665	0,519	0,450—0,508	0,436	0,391—0,429	0,317	0,298—0,300								
30	0,582	0,592—0,600	0,488	0,440—0,450	0,410	0,346—0,407	0,288	0,294—0,299								
1 ^h	0,526	0,545—0,570	0,441	0,409—0,442	0,370	0,299—0,343	0,261	0,283—0,295								
2 ^h	0,479	0,450—0,510	0,402	0,347—0,416	0,337	0,297—0,299	0,237	0,261—0,286								
4 ^h	0,439	0,433—0,446	0,368	0,300—0,370	0,309	0,292—0,295	0,217	0,217—0,270								
19 ^h	0,372	0,308—0,392	0,311	0,300—	0,262	0,261—0,270	0,184	—0,150								

regel eindeutig verknüpft ist. Diese Lösungskonzentration an Phenol bewirkt die Abtötung — natürlich immer unter der Voraussetzung der Vernachlässigbarkeit des Phenolverlustes — in unendlich, praktisch sehr ferner Zeit, und diese Konzentration kann mit den ebenfalls erst in sehr ferner Zeit wirksamen Phenolsalzgemischen einwandfrei daraufhin verglichen werden, ob sie alle der Forderung unserer Annahme gleicher Wirksamkeit für die Verteilung entsprechen. Aus der Betrachtung von in näheren Zeitpunkten gleich wirksamen Mischungen und dem Vergleiche mit dem Ergebnis bei ferneren Zeitpunkten könnten sodann auch Schlüsse auf die Abhängigkeit der Diffusionsvorgänge von den oder jenen Umständen gewonnen werden.

Der nächste Komplex vergleichbarer Versuchsreihen wurde demgemäß so angelegt, daß regelmäßig abgestufte Phenolkonzentrationen sowohl für sich allein als auch mit 2,5, 5 und 10 ‰ NaCl-Zusatz auf ihre desinfektorische Wirkung geprüft wurden. Das unmittelbare Ergebnis bildet den Inhalt der



Kurvenbild 1.

Tabelle XI. Als Bakterienmaterial dienten Typhusbacillen. Die Überimpfung aus den jeweilig überlebenden Proben erstreckte sich auf 24 Tage, nach welcher Zeit die Keime in den phenol-freien Kontrollproben der Gruppen 1 bis 3 noch lebten, während sie in der entsprechenden Probe der Gruppe 4 zwischen dem 20. und 22. Tage abgestorben waren. Die an sich bemerkenswerte Tatsache einer so hohen Resistenz von Typhusbacillen gegen immerhin stark konzentrierte Salzlösungen lehrt für unsere Beobachtung jedenfalls, daß eine direkte Schädigung der Bakterien durch die Salzkonzentration bei der Beurteilung der übrigen Versuchsergebnisse vernachlässigt werden darf.

Auch die niedrigste angewandte Phenolkonzentration erweist sich in den Versuchsgruppen 1 und 2 als auch in sehr langer Zeit wirkungslos, was unserer Annahme über die Art der Phenolwirkung durchaus entspricht. Der Ausfall der übrigen Einzelreihen gestaltete sich, wie die fast nirgends unterbrochene Reihe der Zeichen für Wachstum und Sterilität der überimpften Proben lehrt, ziemlich regelmäßig. Das wesentliche Ergebnis jeder Reihe bildet die Lage und Größe des Zeitintervalls zwischen der letzten angewachsenen und der nächsten nicht angewachsenen Probe. Diese beiden Grenzpunkte, welche die minimale und die maximale Resistenz der Bakterien für die betreffende Konzentration bedeuten, sind im Kurvenblatt 1. durchwegs verzeichnet und durch unausgezogene Linien — die maximale und minimale Resistenzkurve — verbunden. Die graphische Betrachtung erleichtert den Überblick der Ergebnisse solcher Versuche ganz wesentlich. Allerdings konnte aus Platzrück-sichten nur ein Teil der Kurven — bis zu 4 Stunden — dort wiedergegeben werden, doch erscheint die Lage der wenigen restlichen Kurvenpunkte durch die Verlängerungsrichtung der Linien angedeutet.

Die gelegentliche Größe der Intervalle, welche ein starkes Auseinanderklaffen der beiden Resistenzkurven mit sich bringt, beruht auf ungeeigneter Wahl der Überimpfungszeitpunkte im Desinfektionsversuch. In jedem einzelnen solchen wurde gestrebt, die größte Zahl der Überimpfungen um jenen Zeitpunkt zu gruppieren, der für die Abtötung zu gewärtigen war, der aber in nicht allen Fällen gut getroffen erscheint.

Die Erprobung unserer Gesetzmäßigkeit an diesem Tatsachenmateriale hätte nun in der Frage zu bestehen, ob die in einem gleichen und möglichst fernen Zeitpunkt wirksamen Phenol-

gehalte zueinander in jenem Verhältnisse stehen, das nach der NaCl-Beeinflussung des Teilungsverhältnisses zu erwarten ist. Naturgemäß lassen sich solche Phenolwerte größtenteils nur durch Interpolation zwischen tatsächlich erhobenen Zahlen und auch wieder nur als Intervall zwischen dem minimalen und maximalen Werte gewinnen.

Weil aber einerseits für die zeitlich fernsten der überhaupt zum Vergleich heranziehbaren Werte die Genauigkeit aus naheliegenden Gründen nur mehr eine geringe sein konnte, weil andererseits eine analoge Betrachtung näherer, ja selbst tunlich naher Zeitpunkte zur Beurteilung der Diffusionsbeziehungen auch an und für sich erforderlich war, wurde die beschriebene Ermittlung der maximalen und minimalen Phenolwerte für eine willkürlich gewählte Reihe von Zeitpunkten systematisch durchgeführt, wobei als kürzeste und längste in Betracht ziehbare Zeit $\frac{1}{2}$ Minute und 19 Stunden angenommen wurden. Die Ergebnisse dieser Interpolation der Phenolwerte finden sich für die 4 Kurven dieser Versuche in den Stäben 3, 5, 7 und 9 der Tabelle XII zahlenmäßig wiedergegeben. Die Lage und Größe dieser Intervalle läßt sich wieder am leichtesten, und zwar auch für jeden anderen Zeitpunkt, in den graphischen Darstellungen überblicken.

Die oben angeführte, durch Zufall besonders einfache numerische Beziehung der Phenolgehalte von Gemischen, die für die Verteilung gleichwertig erscheinen, läßt das allgemeine Zutreffen unserer Gesetzmäßigkeit schon aus diesem Vergleiche einzelner Phenolintervallgruppen erkennen. Danach ist der Phenolwert für die 10%ige NaCl-Lösung als die Hälfte, der für 5%ige NaCl-Lösung als $0,70 (= 1/\sqrt{2})$ und für 2,5%ige NaCl-Lösung als $0,84 (= 1/\sqrt[4]{2})$ des salzfreien Wertes zu erwarten. An der Hand der graphischen Darstellung läßt sich leicht überblicken, daß wenigstens im größten Teile der Kurven Punkte, welche diese Forderungen erfüllen, in die entsprechenden, manchmal recht engen Intervalle passen oder doch ihnen naheliegen. In gewissen Gebieten trifft allerdings die Regel für eine oder die andere der 4 Versuchsgruppen nicht ausreichend zu, doch zeigen sich solche Abweichungen durchwegs als von ungeeigneten Einzelheiten der Versuchsanordnung, wie

langen Zeitintervallen und Fehlen geeigneter Versuchsreihen mit enger abgestuften Phenolgehalten, abhängig.

Immerhin haftet dieser Art der Beobachtungsweise noch eine gewisse Willkür an: die verglichenen Phenolwertegruppen für die einzelnen Zeitpunkte werden dabei nicht aufeinander bezogen, sondern an jeder Stelle nach den gegebenen Intervallen frei gewählt, wie sie gerade am besten passen. Zweifellos stellen aber die wahren Abtötungszeitpunkte eine stetige Funktion des Phenolgehaltes vor, d. h. die einzelnen Phenolwerte jeder der 4 Versuchsgruppen dürfen und sollen aufeinander bezogen werden. Würde man für eine Reihe von Zeitpunkten nach obiger Regel zusammenpassende Phenolwerte suchen und dann die Punkte gleichen Salzgehaltes zu Idealkurven verbinden, so wären damit die zufälligen Unstimmigkeiten der salzfreien Kurve auf alle anderen Idealkurven übertragen, wodurch deren Vergleichbarkeit mit den gefundenen Maximal- und Minimalkurven, die mit eigenen Ungenauigkeiten behaftet sind, nur leiden könnte.

Es galt also vor allem, eine zureichende Beschreibung des Verlaufes der salzfreien Idealkurve in Form einer stetigen Funktion von Phenolwert und Zeit zu finden, aus der sodann durch die entsprechende Umrechnung der zu betrachtenden Punkte die übrigen Idealkurven leicht zu berechnen sein mußten.

Es war nach der Sachlage klar, daß die allgemeine Form einer solchen Kurve eine hyperbelähnliche sein mußte, d. h. daß ein Produkt irgendwelcher Funktionen der beiden Variablen als konstant zu erwarten war. Diese Forderung ergibt sich aus der Überlegung, daß die Zeitdauer der Wirksamkeit keinen endlichen Anfangs- oder Schlußpunkt haben kann, also nach beiden Richtungen einen stetigen Übergang zu unendlich großen bzw. kleinen Werten zeigen wird, mit anderen Worten, daß beide Aste der Kurve asymptotisch zu den Achsen oder zu Parallelen derselben verlaufen müssen. Während nun die Zeitwerte selbst als Faktoren dieses Produktes anzusehen waren, weil sie sich mit wachsendem Phenolgehalt der Konzentrationsachse beliebig nähern, war von den Konzentrationswerten sowohl nach dem Verhalten der Kurven als auch nach den mehrfach erwähnten Vorstellungen über die Art der Phenolwirkung ein gewisser konstanter Grenzwert in Abzug zu bringen, der eben

als die in unendlicher Zeit wirksame Konzentration zu betrachten ist. Die genauere Form der Kurve war endlich durch einen konstanten Exponenten eines der beiden Faktoren zu beschreiben. Die allgemeine Form der Kurve lautete demnach:

$$Z \cdot (\text{Ph}/\text{cm} - a)^n = k,$$

worin die Bedeutung der 3 Konstanten aus dem Vorstehenden erhellt. Als Einheiten wurden Minuten und g/cm gewählt.

Aus der Lage des zeitlich fernsten verwendbaren Wertes kann in einfacher Weise auf die Größe a und in Zusammenhang mit zwei anderen zeitlich näheren gut definierten Werten auf die Größe des Exponenten geschlossen werden. Als gut definiert ist ein Wert zu betrachten, dessen Intervall zwischen Maximum und Minimum klein und mit seinen Nachbarn verglichen nicht extrem gelegen ist. Zur Ermittlung der Konstanten wird zunächst der Phenolwert des fernsten Punktes als a eingesetzt und der n -Wert aus der Gleichsetzung der zwei anderen Produkte als

$$n = \frac{\log Z_2 - \log Z_1}{\log (\text{Ph}/\text{cm}_2 - a) - \log (\text{Ph}/\text{cm}_1 - a)},$$

die Zahl k in erster Annäherung als der Wert eben jener gleichgesetzten Produkte gefunden. Damit läßt sich für den fernsten Punkt der Wert a genauer berechnen, der — nur wenig kleiner als zuerst angenommen — nunmehr in die Berechnung aller Einzelwerte eingeführt werden darf. Die Größe des n -Wertes ist für die Form der Kurve nicht von so einschneidender Bedeutung, daß es gerechtfertigt wäre, ihn anders denn als einfache ganze Zahl bzw. für andere Fälle vielleicht als einfachen Bruch einzuführen. Selbstverständlich kann und muß diese Berechnung für die maximalen und minimalen Zeitwerte getrennt durchgeführt werden. Aus dem Ergebnisse sind unter Berücksichtigung der Übereinstimmung der Nachbarwerte die zweckmäßig zu wählenden Konstanzzahlen zu ermitteln. Zur Unterstützung dieser Rechenoperation erscheint die graphische Betrachtungsweise nahezu unentbehrlich.

Auf solche Weise ergibt sich für unsere Funktion als a -Wert 0,23% Phenol, als n -Wert 4. Die Einsetzung dieser Zahlen gestattet nun, den k -Wert für jeden einzelnen der im Versuch gegebenen Grenzpunkte zu berechnen. Aber nicht alle

so erhaltenen Zahlen erscheinen gleichwertig. Bei sehr kurzen Zeiten wird die Konstante schon durch geringfügige Unregelmäßigkeiten, die gerade dort häufig sind, stark beeinflusst, bei sehr langen sind die Intervalle zu groß, um einen Schluß auf den wahrscheinlichsten Wert zu gestatten. Von den 7 Punkt-paaren unseres Versuches eignen sich immerhin 4 — das zweite bis fünfte — zur Ermittlung eines solchen Idealwertes, der sich mit $4,6 \cdot 10^{-9}$ berechnet. Daß die so gewonnene Gleichung:

$$Z \cdot (\text{Ph}/\text{ccm} - 0,0023)^4 = 4,6 \cdot 10^{-9}$$

eine zureichende Beschreibung der festgestellten Tatsachen vorstellt, läßt sich wiederum am einfachsten aus dem Kurvenbilde, wo sie als ausgezogene Linie gezeichnet erscheint, entnehmen. Zahlenmäßig erhellt diese Übereinstimmung aus dem Vergleiche der Stäbe 2 und 3 der Tabelle XII, wo für die willkürliche Reihe von Zeitpunkten die idealen neben den gefundenen bzw. interpolierten Phenolwerten verzeichnet sind.

Auf die allgemeine Bedeutung dieser Desinfektionskurve wird im folgenden noch zurückzukommen sein. Hier soll sie zunächst nur als Grundlage eines rationellen Vergleiches der salzfreien und salzhaltigen Versuchslösungen in ihrer desinfektorischen Wirksamkeit dienen.

Die salzbeeinflussten Idealkurven waren aus dieser Funktion und der bekannten Verteilungsbeziehung, und zwar am einfachsten durch Umrechnung der einzelnen in Betracht zu ziehenden Kurvenpunkte nach der Form

$$\text{Ph}/\text{ccm}_{\text{NaCl}} = \text{Num} \cdot \left(\log \text{Ph}/\text{ccm} - \frac{7,03}{2,303} \text{NaCl}/\text{ccm} \right)$$

zu gewinnen, was in Stab 4, 6 und 8 der Tabelle XII durchgeführt und in den ausgezogenen Linien des Kurvenbildes dargestellt erscheint.

Die erreichbar exakte Vergleichung der Tatsachen mit der Erwartung beschränkt sich nunmehr auf den Vergleich der berechneten und interpolierten Zahlenreihen bzw. der entsprechenden Kurvenlinien. Eine Extrapolierung der in wirklich unendlich langer Zeit tötenden, d. h. der eben überhaupt nicht mehr wirksamen Konzentration verbietet sich praktisch durch die geringe Genauigkeit, womit sie durchführbar erscheint. Es

bleibt also festzustellen, inwiefern die Gesetzmäßigkeit für die beobachteten endlichen Zeitpunkte zutrifft.

Die schon im vorhergehenden im großen und ganzen bemerkte Übereinstimmung läßt sich an der Hand dieser Betrachtungsweise dahin bestätigen, daß für die längeren Zeitwerte, — etwa von 1 Stunde aufwärts, — die berechneten und gefundenen Werte ausreichend zusammenfallen. Einige Ausnahmen hiervon sind, wie schon oben erwähnt wurde, ersichtlich in unzuweckmäßigen Einzelheiten der Versuchsanordnung begründet, die anderen dürfen als zufällige Fehler der Kompliziertheit des Tatsachenmaterials zugute gehalten werden.

Das gleiche Maß von Übereinstimmung kommt aber auch den übrigen, zeitlich näheren bis nächsten Werten der für 10% NaCl-Gehalt berechneten und beobachteten Kurven zu. Hingegen tritt eine ausgesprochene Abweichung von Rechnung und Befund für die kürzeren Zeiten bei 5 und 2,5% NaCl hervor, u. z. in dem Sinne, daß die gleich wirksamen Konzentrationen niedriger als berechnet sind, oder m. a. W. daß die hinsichtlich der Verteilung gleichwertigen Konzentrationen bei Salzgegenwart rascher wirken. Diese Beobachtung deckt sich mit dem in den vorausgehenden Versuchen allerdings mit geringerer Zuverlässigkeit erhobenen Befunde, wo sich bei 5% NaCl in ebenfalls kurzen Zeiten 0,70% Phenol noch eben als stärker und erst 0,60% als deutlich schwächer erwies als reine 1% ige Phenollösung. Diese Tatsache darf also als ausreichend bestätigt gelten.

In einem nächsten Versuche wurde eine im wesentlichen gleichartige Anordnung und Berechnung zur Bestätigung der gewonnenen Ergebnisse durchgeführt. Die Abstufungen des Phenolgehaltes, sowie Lage und Größe der Überimpfungsintervalle konnten nunmehr zum Teil zweckmäßiger gewählt, die Resultate damit zu einer weitergehenden Übereinstimmung gebracht werden. Es wurden Lösungen mit 10 und 20% NaCl mit salzfreien Phenollösungen in ihrer Wirkung auf Typhusbazillen verglichen. Die Resistenz des Stammes gegenüber den phenolfreien Kontrollösungen wurde durch 6 Tage festgestellt — eine für 20% NaCl wiederum bemerkenswerte Widerstandsfähigkeit. Die Ergebnisse der Versuchsreihen und Berechnungen sind in den Tabellen XIII und XIV, sowie im Kurvenblatte 2

Tabelle
Versuch mit

Nr.	Phenol %	NaCl %	1/4	1/2	3/4	1'	1 1/4'	1 1/2'	1 3/4'	2'	2 1/2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	11'	12'	13'	14'	15'	16'	17'	18'	19'			
1	1,20		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	1,05		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	0,90			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,75					+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	0,70													+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	0,65																														
	0,60																														
	0,55																														
	0,50																														
	0,45																														
0,30																															
0,00																															
2	0,55	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	0,50		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,45			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,40																														
	0,35																														
	0,30																														
	0,25																														
	0,20																														
	0,15																														
	0,10																														
0,05																															
0,00																															
3	0,40	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	0,35		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,30		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,275		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,25			+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,225																														
	0,20																														
	0,175																														
	0,15																														
	0,10																														
0,05																															
0,00																															

in völlig analoger Weise wie beim vorigen Versuch wiedergegeben. Die überhaupt zum Vergleich heranziehbaren Werte erstreckten sich hier über 29 Stunden (als Mittelwert der letzten in allen 3 Gruppen vorliegenden Beobachtungszeiten 17 und 41 Stunden). Die gegenseitige Lage ließ auch hier das allgemeine Zutreffen der erwarteten Verhältnisse ohne weiteres schätzungsweise überblicken: die Phenolwerte der 10% igen NaCl-Kurve waren wieder rund halb, die der 20% igen Kurve rund

XIII.

Typhusbacillen.

20'	21'	22'	23'	24'	25'	27'	29'	30'	31'	33'	35'	40'	50'	1 ^a	70'	80'	1 ^{1/2} ^b	1 ^{2/4} ^b	2 ^a	2 ^{1/4} ^b	2 ^{1/2} ^b	3 ^b	4 ^b	8 ^a	17 ^b	41 ^b	3 T.	4 T.	5 T.	6 T.						
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

$\frac{1}{4}$ so groß als die der salzfreien. Die Berechnung der letzteren ergab hier die Beziehung:

$$Z \cdot (\text{Ph}/\text{ccm} - 0,0023)^4 = 6,0 \cdot 10^{-9},$$

welche die beobachteten Tatsachen, wie das Kurvenbild und ein Vergleich der Zahlenreihen (Tabelle XV, Stab 2 und 3) lehrt, in ausreichender, ja in recht guter Weise beschreibt. Zur Ermittlung der Konstante $6,0 \cdot 10^{-9}$ waren 8 Punktpaare von den 11 gewonnenen, u. z. das 2. bis 9. verwendbar.

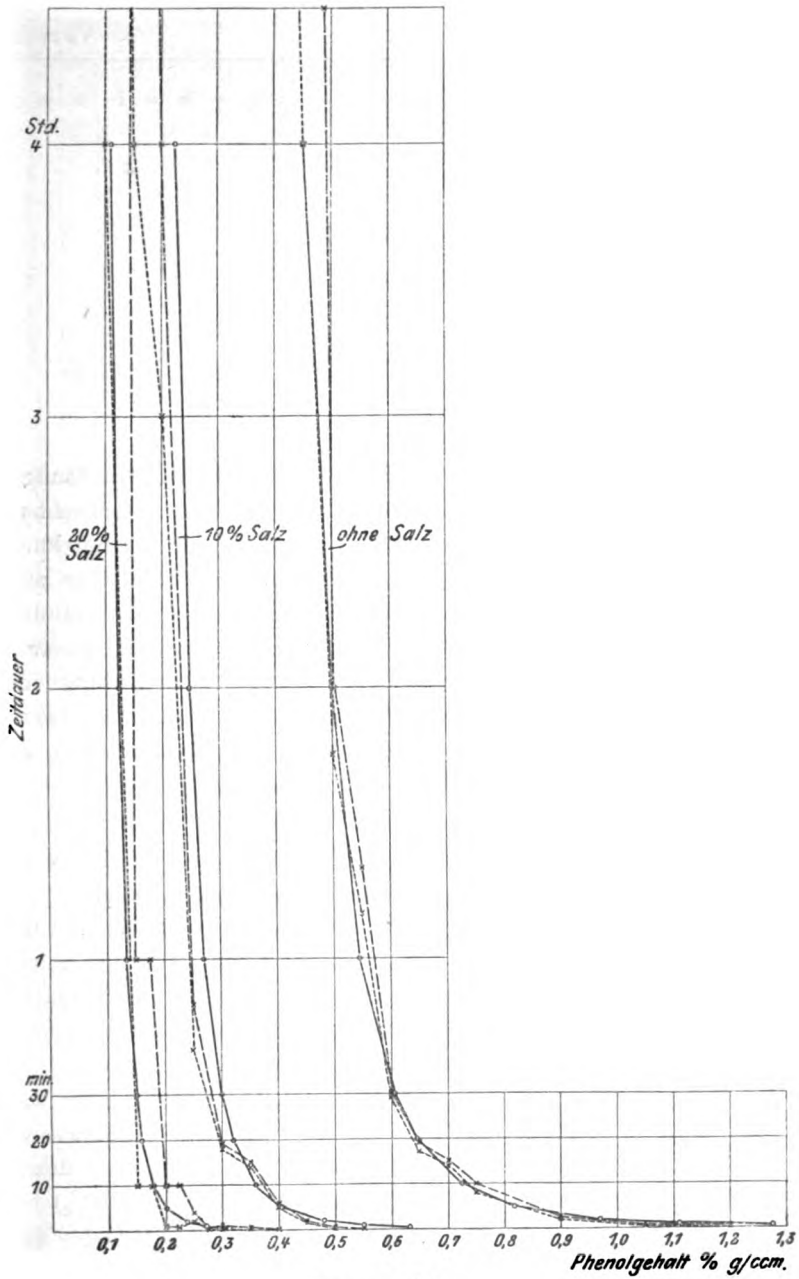
Ein genauer Vergleich der berechneten und beobachteten

Tabelle XIV.

1	2	3	4	5	6	7
Zeitdauer = Z. (Min.)	Tötende Phenolkonzentrationen ‰ g/cm					
	ohne NaCl		mit 10‰ NaCl		mit 20‰ NaCl	
	100 · Ph/cm		100 · Ph/cm _{NaCl}			
	berechnet aus Z · (Ph/cm — 0,0023) ⁴ = 6 · 0,10 ⁻⁹	gefunden (inter- poliert)	berechnet aus Ph/cm _{NaCl} = Num · (log Ph/cm — 7,3 2,303 NaCl/cm)	gefunden (inter- poliert)	berechnet wie 4	gefunden (inter- poliert)
1/2	1,277	1,125—1,200	0,632	0,490—0,500	0,313	0,300—0,350
1	1,110	1,000—1,030	0,550	0,470—0,480	0,272	0,264—0,300
2	0,970	0,900—0,938	0,480	0,433—0,447	0,238	0,250—0,264
5	0,818	0,825—0,850	0,405	0,400—0,414	0,201	0,189—0,246
10	0,725	0,733—0,750	0,359	0,372—0,378	0,178	0,175—0,200
20	0,646	0,638—0,646	0,320	0,295—0,298	0,158	0,148—0,195
30	0,606	0,599—0,604	0,300	0,273—0,282	0,149	0,146—0,190
1 ^a	0,546	0,562—0,570	0,270	0,243—0,248	0,134	0,139—0,150
2 ^a	0,496	0,495—0,500	0,246	0,224—0,232	0,122	0,130—0,149
4 ^a	0,454	0,450—0,490	0,224	0,150—0,200	0,111	0,100—0,146
17 ^a	0,396	0,300—0,423	0,196	0,100—0,150	0,097	0,089—0,132
29 ^a	0,366	—0,362	0,181	0,092—0,125	0,090	0,080—0,118

Werte der beiden Salzreihen zeigt im ganzen Kurvenverlaufe eine genügende Übereinstimmung, die im allgemeinen besser als im vorausgehenden Versuche zu nennen ist. Nur die späteren Zeitpunkte der 10‰-NaCl-Kurve zeigen hier eine gewisse Abweichung im Sinne einer vergleichsweise zu starken Wirksamkeit der betreffenden Lösungen, die wohl als Ausdruck zufälliger Störung des Versuchsergebnisses aufgefaßt werden muß. Eine nennenswerte Abweichung für kurze Zeiten ist hier bei 20‰ NaCl nicht zu beobachten, sie erscheint auch bei 10‰ ebensowenig wie im vorigen Versuche ausgeprägt, höchstens für ganz kurze Zeiten — unter 5 Minuten — angedeutet.

Ein weiterer analoger Versuch wurde mit Staphylokokken durchgeführt. Er erscheint in den Tabellen XV und XVI, sowie im Kurvenblatt 3 wiedergegeben und dargestellt. Die Phenolkonzentrationen wurden hier in großen Sprüngen variiert, da es nur auf eine allgemeine Bestätigung der festgestellten Übereinstimmung ankam. Aus demselben Grunde wurden nur zwei Gruppen von Versuchsreihen: ohne Salz und mit 10‰ NaCl



Kurvenbild 2.

Tabelle
Versuch mit

Nr.	Phenol %	NaCl %	1/4'	1/2'	3/4'	1'	1 1/2'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'	12'	14'
1	1,95		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,65		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,35		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	1,05		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,75		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	0,45		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	0,00		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
2	1,05	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,75		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,45		-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	0,15		-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
	0,00		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

angelegt. Die Resistenz der Stämme in den Kontrollösungen wurde 4 Tage hindurch beobachtet. Der überhaupt vergleichbare Zeitraum erstreckte sich bis auf 8 Stunden; für die Salzkurve fehlen schon nach 1 Stunde die Maximalwerte, die aber nach der Sachlage den minimalen nur sehr benachbart sein könnten. Wieder lehrt schon ein Blick die recht weitgehende Übereinstimmung unserer Gesetzmäßigkeit mit der Beobachtung: die Salzkurve weist durchweg recht nahe die halben Phenolwerte der salzfreien Linie auf. Die zureichende Beschreibung der letzteren als stetige Funktion lautet hier:

$$Z \cdot (\text{Ph}/\text{ccm} - 0,0045)^4 = 45,5 \cdot 10^{-9},$$

wobei die Konstante 45,5 aus 3 Punktpaaren von den 6 beobachteten, u. z. aus dem 3. bis 5. zu ermitteln war.

Die Übereinstimmung der berechneten Idealkurven mit den aufgenommenen Beobachtungen ist auch hier eine genügende. Natürlich macht sich hier wieder die gedrängte Versuchsanordnung stellenweise in weiterem Auseinanderklaffen der maximalen und minimalen Beobachtungswerte geltend.

Die Ergebnisse der dargelegten Desinfektionsversuche sind die folgenden: Die nach längerer Zeit (etwa von 1 Stunde an) wirksamen Gemische von Phenol und NaCl bestätigen durchwegs — die NaCl reicheren Mischungen (etwa über 10%) bestätigen auch bei kürzerer Wirkungsdauer die Annahme — daß gleiche Wirksamkeit mit gleichem Einflusse auf die Innenphenolkonzentration einer damit im Gleich-

XV.

Staphylokokken.

16'	18'	20'	22'	24'	26'	28'	30'	40'	50'	1 ^a	70'	80'	90'	100'	110'	2 ^a	3 ^a	4 ^a	8 ^a	24 ^a	2 T.	3 T.	4 T.	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

gewicht befindlichen salzfreien Phase eindeutig verknüpft sei. Man darf hieraus schließen, daß die Erreichung einer bestimmten Lösungskonzentration an Phenol in der Körpersubstanz der Bakterien eine zureichende Bedingung des Zelltodes vorstellt, ferner daß die Diffusionsgeschwindigkeit des Phenols in den Bakterienleib für die genannten Lösungen durch die erreichbare Innenkonzentration an Phenol wesentlich allein bestimmt wird.

Tabelle XVI.

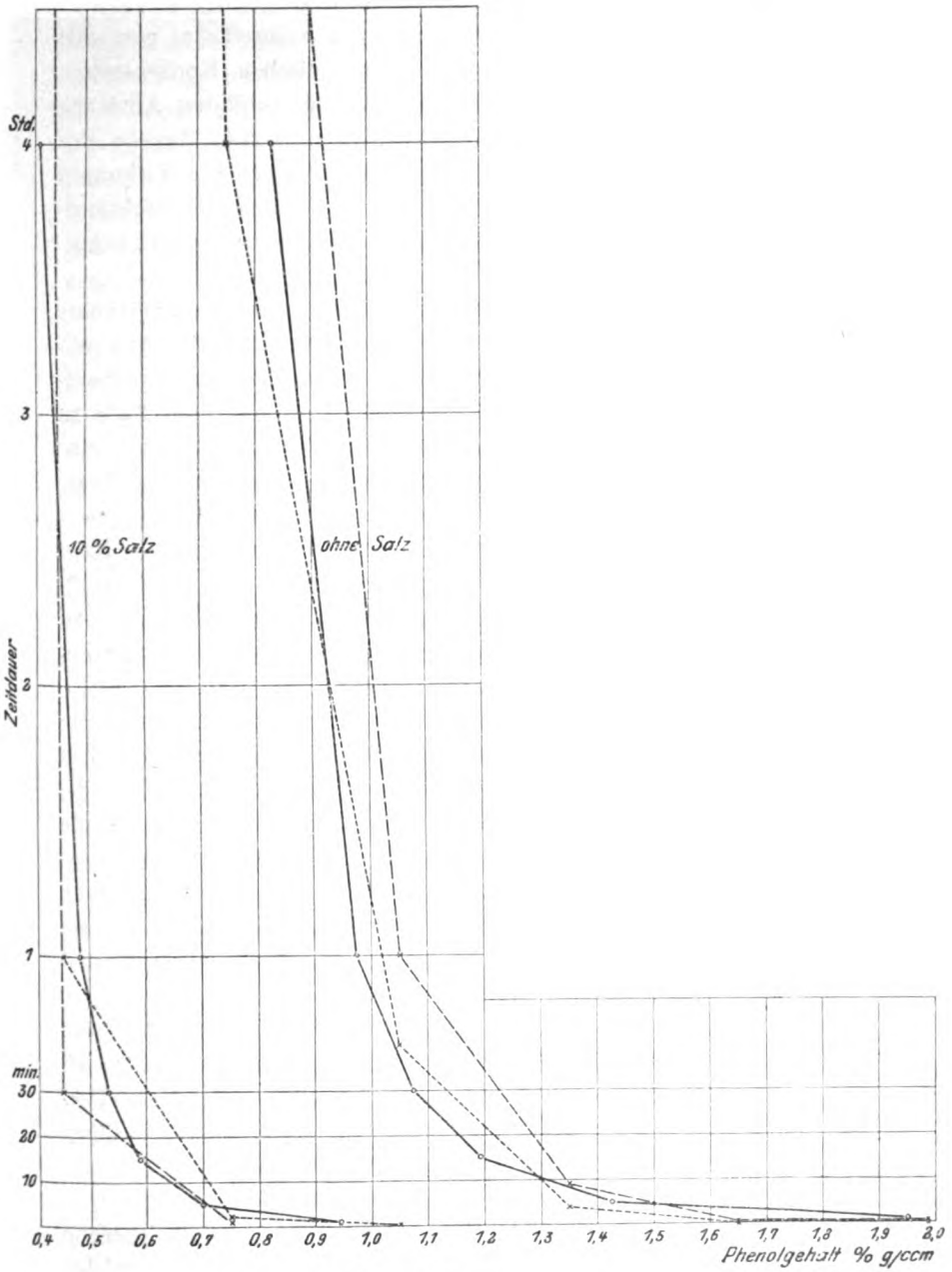
1	2	3	4	5
Zeitdauer = Z.	Tötende Phenolkonzentrationen g/cem			
	ohne NaCl		mit 10% NaCl	
	100 · Ph/cem		100 · Ph/cem NaCl _{NaCl}	
	berechnet aus Z · (Ph/cem) 0,0045 ⁴ = 45,5 · 10 ⁻⁹	gefunden (interpoliert)	berechnet aus Ph/cem _{NaCl} = Num · (log. Ph/cem - 7,03 - 2,303 NaCl/cem)	gefunden (interpoliert)
1	1,911	1,590—1,632	0,946	0,750—0,921
5	1,427	1,342—1,491	0,702	0,709—0,735
10	1,192	1,258—1,315	0,590	0,605—0,684
30	1,074	1,133—1,228	0,532	0,450—0,605
1 ^a	0,975	1,020—1,050	0,483	0,448—0,450
4 ^a	0,830	0,750—0,921	0,411	—0,439
8 ^a	0,762	0,726—0,750	0,377	—0,426

Das abweichende Verhalten der relativ salzärmeren, in weniger als 1 Stunde wirksamen Lösungen muß dahin gedeutet werden, daß sich hier eine Erhöhung der Diffusionsgeschwindigkeit gegenüber den salzfreien Vergleichsversuchen bemerkbar macht. Die geringere Phenoldichte dieser Lösung würde eher eine gewisse Verzögerung der Diffusion erwarten lassen, so wie z. B. die Geschwindigkeit der Wasserdampfaufnahme eines trockenen Gases nicht nur von seinem Sättigungsdefizit, sondern auch von der Größe der Verdunstungsfläche abhängt. Der Vergleich trifft allerdings nicht völlig zu, da in unserem Falle nicht die Berührungsfläche des Bakterienkörpers mit der Phenollösung, sondern die Zahl der Phenolmoleküle in dieser Fläche kleiner ist. Vielleicht ist diese Zahl immer noch so groß, daß sie für die Geschwindigkeit der Aufnahme außer Betracht fällt. Jedenfalls bedarf aber eine Diffusionsbeschleunigung unter solchen Umständen einer besonderen Erklärung, die wohl in Anbetracht ihres Auftretens gerade in verdünnten Salzlösungen in einer Wirkung der Ionen auf die Diffusibilität der Grenzschicht bis auf weiteres erblickt werden könnte. Auch in den salzreichen Versuchen mag eine solche Wirkung vielleicht vorliegen, und von einer umgekehrten Diffusionsbeeinflussung durch die Abnahme der Phenoldichte verdeckt werden, bzw. diese selbst verdecken.

Endlich beweist das allgemeine Zutreffen jener Verteilungsbeziehungen auf die Verhältnisse der Desinfektionswirkung besser als die spärlichen physikalisch-chemischen Feststellungen an Bakterienleibern die Richtigkeit unserer Annahme, daß das Phenol auch mit nativem Eiweiß in einfache Lösungsbeziehungen tritt. Vielleicht könnte allerdings die hypothetische, durch Phenol bewirkte Wasserverdrängung aus der Eiweißphase mit dem wesentlichen Substrat irreversibler Denaturierungen, wie der Hitzekoagulation, zusammenfallen. Man müßte nur annehmen, daß es sich auch hierbei — wenigstens primär — nicht um chemische Vorgänge, sondern um eine Entmischung zweier Phasen handelt, wie sie Spiro (20) für die Aussalzungsfällung als maßgebend erwiesen hat.

2.

Auf ein weiteres für die Fragestellung der vorliegenden Untersuchung nebensächliches, jedoch von anderen Gesichts-



Kurvenbild 3.

punkten nicht unwichtig erscheinendes Ergebnis der dargelegten Desinfektionsversuche sei hier in kurzem aufmerksam gemacht: Die Aufsuchung einer die Beziehung zwischen Konzentration des Desinfiziens und der Zeitdauer bis zur erfolgten Abtötung beschreibenden Funktion geschah hier nur zum Zwecke der Ermöglichung eines besseren Vergleiches zwischen den Wirkungen salzfreier und salzhaltiger Lösungen. Solchen Desinfektionskurven kommt jedoch zweifellos auch ein allgemeiner und sicherlich auch praktischer Wert zu.

Erstlich kann immer nur eine tunlich lückenlos vergleichbare Reihe von Grenzpunkten der Wirkung gestatten, die Anwendbarkeit eines Desinfiziens im allgemeinen und die zweckentsprechende Methode seiner Anwendung im besonderen Falle zu beurteilen, und der Ersatz einer solchen Stufenreihe durch eine stetige, leicht überblickbare Abhängigkeitsbeziehung müßte dieses Urteil erleichtern und verschärfen.

Ferner sind aber die Form und die numerischen Konstanten einer solchen Desinfektionsgleichung als wichtige Charakteristika teils der Art der Desinfektionswirkung, teils der zu desinfizierenden Bakterienart und der zum Versuch herangezogenen Bakterienrasse zu betrachten.

Die allgemeine Form der Gleichung, welche ja in unserem Falle aus der angenommenen und in eben diesen Versuchen erwieenen Wirkungsweise der Phenolkörper hergeleitet wurde, ist zweifellos für eben diese Gruppe desinfizierender Stoffe charakteristisch. Die spezielle Form, d. h. die Größe des konstanten Exponenten scheint nach den obigen Feststellungen dem Phenol gegenüber allen Bakterien zuzukommen, da sie sich für so verschiedenartige Keime wie Typhusbazillen und Staphylokokken gleich ergibt.

Daß andersartigen, desinfizierenden Substanzen auch ganz andere Formen der Desinfektionsgleichung entsprechen, läßt sich an meinen älteren Versuchsergebnissen über die H_2O_2 -Desinfektion (24) bestätigen. Die dort wiedergegebenen Werte fügen sich in recht vollkommener Weise einer Funktion

$$Z \cdot ^2 H_2O_2 / \text{ccm} = \text{konst. ein,}$$

deren Form schon darauf schließen läßt, daß hier eine Speicherung des Desinfiziens bei der tötenden Wirkung keine Rolle spielen kann, und daß die Erstrebung kurzer Wirkungen wegen der

hierzu nötigen Konzentrationserhöhung unzweckmäßig, hingegen langfristige Desinfektion wegen der geringen erforderlichen Mengen zweckmäßig erscheint, welche Feststellung eben das wesentliche Ergebnis jener Untersuchungen war. Es wäre gewiß von Interesse, die Form der Desinfektionskurven aller gebräuchlichsten Mittel zu kennen und für neue Mittel festzustellen. Vielleicht könnte in manchen Fällen die Form der empirisch gewonnenen Kurve die wesentliche Art der Wirkung eines Mittels aufklären.

Die beiden übrigen Konstanzzahlen unserer Gleichung sind als Resistenzgrößen, d. h. Charakteristika des Verhaltens der Bakterien gegenüber diesem Desinfiziens zu betrachten. Die Größe a bedeutet sinngemäß das absolute Resistenzmaß einer Bakterienart, d. h. diejenige Konzentration, welche eben keine Abtötungswirkung mehr hervorbringt.

Die Größe ist nach ihrem Ursprunge aus einer Extrapolation mit einer gewissen Ungenauigkeit behaftet, doch sind Fehler derselben für die übrigen Werte der Funktion, besonders für ihre Übereinstimmung mit der großen Mehrzahl der empirisch festgestellten Punkte von geringerem Einfluß. Die Größe dürfte in einer spezifischen Affinität der Bakteriensubstanz zum Desinfiziens begründet sein. Es muß danach als wahrscheinlich gelten, daß sie innerhalb einer Bakterienart als konstant angesehen werden darf. Für unsere Versuche trifft das jedenfalls zu, indem sich für die Berechnung der zwei Typhusversuche ohne Schwierigkeit die gleiche Zahl hierfür annehmen ließ, während sie für Staphylokokken gleich in der doppelten Größe auftrat.

Praktisch wichtiger erscheint das zweite Resistenzmaß der Gleichung, die konstante k . Alle bisher üblichen Angaben über die Widerstandsfähigkeit von bestimmten Keimen gegen bestimmte Desinfizienten sind ja zeitlicher Natur. Gewöhnlich wird zur Charakterisierung der zum Versuche herangezogenen Bakterien der Zeitpunkt der Abtötung derselben durch 1% Carbolsäure, 1% Formaldehyd oder strömenden Dampf von 100° C angegeben. Halten sich die Kontrollversuche nicht an diese konventionellen Dosen der Desinfizienten, so erscheint heute ein Vergleich der Widerstandsfähigkeiten der von verschiedenen Autoren oder in verschiedenen Versuchsreihen an-

gewendeten Testbakterien undurchführbar. Bei Kenntnis der Desinfektionskurve eines Mittels kann aber — vorausgesetzt, daß sich die übrigen Konstanten tatsächlich als von den Resistenzschwankungen einer Bakterienart unabhängig erweisen werden — aus jedem Wertpaare Zeit und Konzentration die Konstante k und damit jedes andere Wertpaar berechnet werden. Vielleicht erweist es sich als zweckmäßig, die Größe k selbst als direktes Maß der zeitlichen Resistenz zu definieren, da hiermit ein von den zufälligen Versuchsdimensionen unabhängiger Wert, gewissermaßen eine Eigenschaft der zu charakterisierenden Bakterienrasse im Verhältnis zum bestimmten Desinfektionsmittel gewonnen wäre.

Auch die üblichen Wertangaben desinfizierender Stoffe scheinen einer Reform bedürftig, und mit Hilfe der Desinfektionskurven zugänglich. Soweit sich solche nicht auf ungeordnete und höchstens qualitativ vergleichbare Resistenzangaben beschränken, geben sie häufig als Carbolsäurekoeffizienten die Verhältniszahl jener Konzentrationen des Carbols und des Desinfiziens, meist für 1%ige Carbollösung, wieder, welche gleiche Wirksamkeit entfalten. Daß dieses Maß für verschiedene Testbakterienarten verschieden ausfällt, bedeutet keine Fehler, da sich hierin zweifellos die verschiedenen Affinitäten der Leibessubstanzen zu den Desinfizientien ausdrücken, die volle Beachtung verdienen.

Es ist aber klar, daß diese Zahl nur in dem Falle ein für alle Konzentrationen und Zeiten gültiges Maß einer bestimmten Desinfektionswirkung sein könnte, wenn die Desinfektionskurve des verglichenen Mittels mit derjenigen der Carbolsäure formal übereinstimmt, eine dieser ähnlichen Kurve vorstellt. Das wird in den seltensten Fällen, vielleicht nicht einmal bei anderen Phenolkörpern ausreichend zutreffen, und schon bei einigermaßen fremdartigen Kurven verschiebt sich diese Verhältniszahl auch für wenig geänderte Konzentrationen sehr wesentlich. Kurven, wie die des Phenols und des Wasserstoffsperoxyds müssen sich noch innerhalb der Konzentration ihrer praktischen Verwendbarkeit überschneiden, z. B. für Typhusbazillen etwa bei 0,5% und 2 Stunden, so daß ein Carbolkoeffizient für diese Konzentration = 1 für jede höhere weit kleiner, und für jede tiefere weit größer wäre.

Es geht daraus hervor, daß nur bei Kenntnis der Desinfektionskurve eines Mittels eine Aussage über seine Wirksamkeit oder über die Resistenz einer Bakterienrasse aus Einzeldaten überhaupt möglich ist, und daß erst bei vergleichbarer Feststellung der Kurven für ein bekanntes und ein unbekanntes Desinfektionsmittel Verwendbarkeit, Vorzüge und Nachteile des letzteren in übersichtlicher Weise beurteilt werden können. Nur in dem — wohl seltenen — Falle geometrischer Ähnlichkeit der Kurven zweier Mittel läßt sich ein allgemein gültiger Wertkoeffizient derselben berechnen.

Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußbetrachtungen.

Die im vorstehenden dargelegten Untersuchungen haben gelehrt, daß Öl, koaguliertes Eiweiß und in analoger Weise Cholesterin und die gesamte Körpersubstanz von Bakterien mit Phenol einfache, aber durchwegs intensive Lösungsbeziehungen eingehen. Auch das Verhalten der nativen, gelösten Eiweißstoffe zum Phenol läßt sich auf Grund solcher Beziehungen verstehen, ohne die Annahme tiefer greifender, chemischer Einwirkungen nötig zu machen. Das Verhalten der genannten Phasen wird im Gleichgewichtszustande mit wässrigen Lösungen für die Lösung von einfachem Phenolhydrat ($2 \text{ Phenol} + 1 \text{ H}_2\text{O}$) durch die einfachste Form des Verteilungssatzes beherrscht. Temperaturerhöhung bedingt eine geringe Verschiebung des Teilungsverhältnisses zugunsten der wässrigen Phase. Mit steigendem Kochsalzgehalt der Lösung verschiebt sich das Teilungsverhältnis zugunsten der nicht wässrigen Phasen nach einer für alle identischen, einfachen, auch sonst für Löslichkeitsbeeinflussung bestätigten Beziehung. Für die Beeinflussung der Phenollöslichkeit wässriger Phasen durch Kochsalz trifft diese Beziehung allerdings nicht völlig zu, doch können auch die Sättigungswerte nicht in allen Fällen als adäquates Maß der sich im Teilungsverhältnis ausdrückenden Lösungsaffinitäten gelten.

Das Ergebnis der Versuche an Eiweißgelen (Hitzecoagula) läßt den Gehalt derselben an molekularem Imbibitionswasser als von vornherein gering erscheinen. Derselbe wird offenbar durch Gegenwart von 2% Phenol in salzfreier Lösung, bei Salzgegenwart schon bei geringerer Phenolkonzentration, praktisch

zum Verschwinden gebracht. Typische Abweichungen von Teilungsfaktoren könnten vielleicht bei entsprechender Verfeinerung der Methodik auch in anderen Fragen zur Feststellung des Gehaltes von Gelen an echtem Quellungswasser verwertet werden.

Der Gehalt der Gele an capillar imbibierter Lösung zeigt starke Ausschläge je nach der Zusammensetzung der wässerigen Phase. Während sich NaCl allein selbst in hohen Konzentrationen diesbezüglich wenig wirksam erweist, bedingt Phenol schon in geringen Konzentrationen ausgesprochene Entquellung, die bei Salzgegenwart noch wesentlich verstärkt ist. Die capillare Quellung läßt sich in erster Annäherung als eine einfache Funktion des Phenolgehaltes der salz- und wasserfrei gedachten Eiweißphase darstellen.

Die Vorstellung völliger Salzfreiheit der Eiweißphase hat sich in den vorliegenden Versuchen durchweg bestätigt, und — durch das einfache Ergebnis der darauf begründeten Berechnungen — gut bewährt. Sollte sie auch auf lebende eiweißreiche Phasen übertragbar sein, so könnte diesen die Eigenschaft der Semipermeabilität zugesprochen werden, als deren Träger man bisher vielfach ölige Phasen heranziehen zu müssen glaubte. Die Richtung der osmotischen Wasserbewegung würde dann mehr auf der räumlichen Anordnung als auf chemischen Unterschieden der Phasen im lebenden Körper beruhen, welche Unterschiede allerdings die Entstehung der Konzentrationsgefälle, also der treibenden Kräfte dieser Bewegung nach dem Teilungsprinzip, beherrschen [s. Spiro (4)].

In den letzten Jahren wurden von mehreren Seiten Tatsachen vorgebracht, die für die Möglichkeit einer eiweißartigen Plasmahülle oder gegen das allgemeine Vorkommen lipoider Grenzschichten an und in den Zellen sprechen. So konnte Bechhold (25) nachweisen, daß eine in einem Gelatinegel erzeugte Niederschlagsmembran die Salzdifusion völlig hemmt, obwohl die Gerüstsubstanz des Gels auch innerhalb der Membran intakt ist. Andererseits wiesen Moor und Roaf (26) die hohe Durchlässigkeit von Lipoidmembran für Salze nach. Robertson (27) findet endlich den Lipoidteilungskoeffizienten nicht als maßgebend für die Aufnahme von Farbstoffen in die Zelle, und führt auch andere Gründe für die Proteinnatur der Plasmahaut an.

Die Tatsache, daß osmotische Quellungsvorgänge beim lebenden Plasma eine große Rolle spielen, während sie beim Eiweißgel zu fehlen scheinen, dürfte danach vielleicht mit der Existenz und dem Fehlen abgeschlossener Flüssigkeitsräume — einer wabigen Struktur — ausreichend erklärbar werden.

Endlich hat das Ergebnis der Desinfektionsversuche erwiesen, daß die Wirksamkeit von Lösungen in längeren Zeiten von eben jenen auf physikalisch-chemischem Wege festgestellten Verteilungsbeziehungen eindeutig abhängt. Danach muß der Zelltod als durch die Erreichung einer bestimmten Phenollösungskonzentration in den Körpersubstanzphasen der Bakterien bedingt gedacht werden, womit unsere Hauptfrage, die den Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen bildet, in bejahendem Sinne entschieden ist.

Die Abweichungen, welche die Wirksamkeit in kürzeren Zeiten bei relativ salzärmeren Lösungen zeigt, lassen auf eine Diffusionsbeschleunigung durch das Salz, vielleicht eine Ionenwirkung schließen. Auch darf der bekannte förderliche Temperatureinfluß auf die Desinfektionswirkung des Phenols einer Diffusionsbeschleunigung nach der erwähnten gegenteiligen Abhängigkeit des Teilungsverhältnisses zugeschrieben werden. Doch könnte auch eine Wärmekatalyse chemischer, mit dem Lebensprozess näher verknüpfter Vorgänge, etwa im Sinne einer beschleunigten Autolyse, eine gesteigerte Empfindlichkeit des Plasmas zur Erklärung herangezogen werden.

Eine noch tiefer greifende Erforschung des in Rede stehenden Abtötungsphänomens hätte sich wohl mit eben diesen, dem Lebensprozesse nahe stehenden Vorgängen, zunächst den fermentativen in ihrer Beziehung zum wirksamen Stoffe, zu befassen. Vielleicht liegt es am nächsten, an eine Lähmung solcher lebenswichtiger Zellvorgänge zu denken. Vielleicht kann die im groben Umriß festgelegte Beziehung zwischen der Innenkonzentration der Körperphasen und ihrer Quellung als Wegweiser dienen, insofern das Leben damit an eine gewisse capillare Tragfähigkeit von Quellungslösung geknüpft erscheint, die ihrerseits wieder mit einem bestimmten Mindestmaß molekularer Quellung in Beziehung stehen dürfte.

Diese Tatsachen weisen auf einen gewissen Zusammenhang der Wirkung der Phenolkörper mit jener anderer tötenden

Agenzien hin, die, wie trockene Hitze, Hitzekoagulation, und wohl in ähnlicher Weise strömender Dampf, auf einer radikalen Wasserentziehung aus dieser eiweißreichen Körperphase beruhen dürften. Vielleicht brauchen die beiden zuletzt entwickelten Vorstellungen einer Fermentlähmung einerseits, einer Entziehung des lebensnotwendigen Wassers andererseits einander nicht zu widersprechen. Denn nach Carlsons (28) Untersuchungen scheinen sehr viele wichtige Reaktionen, besonders fast alle fermentativen, mit der Gegenwart eines in besonderer Weise gebundenen, dadurch zum Zerfall in seine Bestandteile neigenden Wassermoleküls wesentlich zusammenhängen.

In praktischer Hinsicht scheint aus den vorliegenden Tatsachen die Notwendigkeit hervorzugehen, für Desinfektionsmittel, deren wirksame Bestandteile der Gruppe der Phenolkörper angehören, das Teilungsverhältnis dieser Stoffe für den Körpersubstanzen ähnliche Phasen, wie Öl oder Eiweißcoagula, zu messen und bei Beurteilung ihres zu erwartenden Wertes zu vergleichen. Die Methode könnte gewiß auch zur Aufsuchung aussichtsreicher Zusammensetzungen der zur Desinfektion heranzuziehenden Lösungen dienlich sein. Feinere Unterschiede der Teilungsverhältnisse für verschiedene Materialien, z. B. Bakterien und Körpereweiß, könnten eine rationelle Grundlage für die Bestrebungen der sogenannten inneren Antisepsis abgeben.

Endlich sei noch auf die dargelegte, für alle Desinfektionsmittel sicher große Bedeutung der Desinfektionskurven bzw. Gleichungen hingewiesen.

Es besteht die Absicht, den vorstehenden Untersuchungen in den angedeuteten Richtungen eine Erweiterung und Fortsetzung zu geben: 1. Es soll eine größere Anzahl wirksamer Agenzien — chemischer und physikalischer Natur — in den Bereich der Betrachtung gezogen werden. 2. Es soll versucht werden, deren Wirkung auf die einzelnen Komponenten der Lebenstätigkeit der Zelle zu analysieren.

Literatur.

1. Scheurlen, Die Bedeutung des Molekularzustandes der wasser-gelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungswert. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 37, 74, 1896.
2. Scheurlen und Spiro, Die gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfektionsmittel. Münch. med. Wochenschr. 44, 4, 1897.
3. Spiro und Bruns, Zur Theorie der Desinfektion. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 41, 355, 1898.
4. Spiro, Über physikalische und physiologische Selektion. Straßburg 1897.
5. Paul und Krönig, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hygiene 25, 1, 1897.
6. T. F. Clark, Journ. Phys. Chem. 3, 263, 1901.
7. Madsen u. Nejmänn, Zur Theorie der Desinfektion. Zeitschr. f. Hygiene 57, 389, 1900.
8. Manfred Bial, Zeitschr. f. physikal. Chem. 40, 513, 1902.
9. Maillard, Compt. rend. Soc. de Biol. 1899.
10. Rob. Koch, Über Desinfektion. Mitteil. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte 1, 234, 1881.
11. Wolffhügel und v. Knorre, Zu der verschiedenen Wirksamkeit von Carbolöl und Carbolwasser. Mitteil. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte 1, 352, 1881.
12. W. Beckmann, Über den Einfluß des Zusatzes von NaCl auf die Wirkung des Phenols. Centralbl. f. Bakt. 20, 577, 1906.
13. Weyland, Desinfektionswirkung und Eiweißfällung chemischer Körper. Centralbl. f. Bakt. 21, 789, 1897.
14. Römer, Münch. med. Wochenschr. 45, 10, 1898.
15. Setschenow, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 117, 1899.
16. Rothmund und Wilsmore, Zeitschr. f. physikal. Chem. 40, 611, 1903.
17. Nernst, Zeitschr. f. physikal. Chem. 38, 487, 1902.
18. F. Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 27, 395, 1890.
19. F. Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 28, 210, 1891.
20. Spiro, Über Lösung und Quellung von Kolloiden; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 276, 1904.
21. Bugarszky und Tangl, Pflügers Archiv 72, 531, 1896.
22. W. Pauli, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 100, 1895.
23. Rodewald, Zeitschr. f. physikal. Chem. 24, 193, 1897.
24. Reichel, Die Trinkwasserdesinfektion durch H_2O_2 . Zeitschr. f. Hygiene 61, 49, 1908.
25. Bechold und Ziegler, Zeitschr. f. physikal. Chem. 56, 105, 1906.
26. Moor und Raaf, Biochem. Journ. 2, 69, 1906.
27. T. B. Robertson, Journ. of Biol. Chemie 4, 1, 1908.
28. Carlson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 260, 1908.

Untersuchungen über die Gelatinierung des Eiweißes.

I. Mitteilung.

Von

Giovanni Moruzzi.

(Aus dem Histologisch-Chemischen Laboratorium der allgemeinen
Medizinischen Klinik an der Universität zu Parma.)

(Eingegangen am 1. September 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Gelatinierung durch Salzsäure.

Die Eigenschaft der Säurealbuminate und der Alkalialbuminate unter bestimmten Umständen zu gelatinieren, ist für die Physiologie und die Pathologie vom höchsten Interesse, um so mehr, wenn wir nicht die echten, eigentlichen Gelatinen in Betracht ziehen, sondern diejenigen Anfangsmodifikationen, welche der Gelatinierung vorangehen, d. h. die Zunahme der Werte der innern Reibung, welche an einen Hydratationsprozeß gebunden zu sein scheinen (Pauli¹).

Die geringe Konzentration der H- und OH-Ionen, die nötig ist, damit diese Anfangsmodifikationen eintreten, läßt vermuten, daß auch in den Organismen derartige Zustandsänderungen der Kolloide stattfinden können, und daß dieser Mechanismus bei der Regulierung des Wassers in den Geweben in die Erscheinung tritt (Pauli²). Es gibt besondere, krankhafte Zustände, in welchen die Eiweißstoffe der pathologischen Produkte ein gelatinöses Aussehen annehmen, wie in den Gallertkrebsen, in den Cysten mit gallertartigem Inhalt, in den katarrhalischen Entzündungs-

¹) Wolfgang Pauli und Hans Handowsky, Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. Diese Zeitschr. 18, 3., 4. u. 5. Heft, 1909.

²) l. c.

prozessen des Dünndarms, in welchen der Schleim das Aussehen von durchsichtigen, runden Klümpchen annimmt, in gewissen Nierenveränderungen, bei welchen die Cylinder gänzlich das Aussehen von Gelatine haben (hyaline Cylinder).

Das Studium der Eiweiß-Gelatine gewinnt in Anbetracht dessen ein hohes biologisches Interesse.

Wie bekannt, wird die Natur der Erscheinung der Gelatinierung dadurch charakterisiert, daß eine kolloide Flüssigkeit unter bestimmten Bedingungen ihre flüssige Beschaffenheit verliert und sich in eine halbflüssige oder halbfeste Masse umwandelt, die Gelatine genannt wird.

Diejenigen kolloidalen Lösungen, die nach der Gelatinierung die Fähigkeit besitzen, wieder flüssig zu werden, nennt man reversibel, die, welche sie nicht besitzen, irreversibel.

Die reversiblen Kolloide gelatinieren, wenn die Temperatur sinkt, die irreversiblen, wenn die Temperatur steigt.

Wirft man einen Blick auf die Literatur über die Eiweiß-Gelatinen, so bemerkt man, daß die meisten Forscher sich mit dem Mechanismus der Erscheinung beschäftigt haben, indem sie die Stoffe studierten, die aus dem Organismus direkt gelatinös gewonnen werden (Knochengelatine, Agar, Hausenblase usw.); wenige dagegen haben die Erscheinung studiert, indem sie dieselbe künstlich in den Stoffen erzeugten, die an und für sich keine Neigung zum Gelatinieren haben.

Die Forscher, welche sich mit der Wirkung der Säuren und Basen auf Eiweiß, d. h. mit den Acidalbuminen und den Alkalbuminaten beschäftigten, beobachteten zuerst, daß in den konzentrierten Eiweißlösungen das Hinzufügen von Säuren oder Alkalien eine Gelatine erzeugt, die alle Abstufungen zwischen dem hellen, glasartigen, durchsichtigen Aussehen und der weißen Opalisierung darstellen kann.

Dieser Gelatine gaben sie die Namen Acidalbumin bzw. Alkalbuminat.

Die ersten, welche diese Erscheinung feststellten, waren, wie Cohnheim in seiner Abhandlung¹⁾ ausführte: Lieberkühn²⁾, Magen-

¹⁾ Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. Braunschweig 1904.

²⁾ N. Lieberkühn, Arch. f. anat. Physiol. u. wissenschaftl. Med. 1848, 285 bis 323. Aus Cohnheims Abhandl.

die¹⁾, Johnson²⁾ und schließlich Rollet³⁾ und sein Schüler Zoth⁴⁾, wie auch unter der Leitung von Alexander Schütz Kieseritzky⁵⁾ und Rosenberg⁶⁾.

Die größere oder geringere Durchsichtigkeit dieser Gelatine und die größere oder geringere Festigkeit hängt von der Konzentration der Säure oder des Alkalis und von dem Gehalt der Flüssigkeit an unorganischen, neutralen Salzen ab, wie Rollet und Joth sowie auch Rosenberg und Kieseritzky bewiesen haben.

Im allgemeinen ist für die Bildung der Gelatine eine größere Konzentration von Säuren als von Alkalien nötig, eine sehr starke Konzentration der ersteren ergibt nicht Gelatine, sondern einen Niederschlag, während die Alkalien bei starken Konzentrationen eine nicht sehr feste Gelatine geben, die bei einem Überschuß sich wieder verflüssigt.

Kieseritzky und Rosenberg, die ganz besonders den Einfluß der Salze studiert haben, beobachteten, daß die sehr verlängerte Dialyse dem Eiweiß die Eigenschaft, durch den Einfluß der Säuren und der Alkalien zu gelatinieren, entzieht, und daß sowohl die Zeit, in der die Erscheinung eintritt, als auch die Konsistenz der Gelatine von der Gegenwart der Salze abhängt, und daß die Gelatine desto durchsichtiger erscheint und desto weniger Festigkeit aufweist, je geringer der Salzgehalt derselben ist.

Für das Aoidalalbumin sind geringere Mengen Salze erforderlich als für die Alkalialbuminate. Die Wärme beschleunigt die Erscheinung und macht die Gelatine fester.

In einer interessanten Arbeit über die Gelatinierung des mit Hilfe von Säuren der Essigsäure dialysierten Eiereiweißes hat Zoja⁷⁾ beobachtet, daß diese Säuren in den Eiweißlösungen eine Veränderung der Werte der Abflußzeit bewirken, welche in bezug auf die Funktion der Säuremenge graphisch einen der elektrischen Leitfähigkeit analogen Verlauf hat, d. h. anfangs ein von Säure zu Säure wechselndes Maximum darstellt, dann abnimmt.

Diese Zunahme der Zähigkeit bei gleicher molekularer Säurekonzentration ist um so stärker, je größer das Dissoziationsvermögen der angewandten Säure ist, und die Kurve wird steil für alle Säuren in Über-

¹⁾ Magendie, *Leçons sur le sang*. Paris 1836, S. 170.

²⁾ Johnson, *Journ. Chem. Soc.* N. S. 12, 734. Aus Cohnheims Abhandl.

³⁾ A. Rollet, *Sitzungsbericht d. Wiener Akad. Math. natur. Kl.* Abteil. III, 84, 322, 1881. Aus Cohnheims Abhandl.

⁴⁾ Zoth, *ibid.* 100, 140, 1891. Aus Cohnheims Abhandl.

⁵⁾ W. Kieseritzky, *Die Gerinnung des Faserstoffes, Alkalialbuminate und Aoidalalbumins*. Dissertat. Dorpat 1882.

⁶⁾ A. Rosenberg, *Dissertat.* Dorpat 1883.

⁷⁾ L. Zoja, *Physikalische chemische Untersuchungen der Reaktionen zwischen Eiereiweiß und Essigsäure*. *Zeitschr. f. Chem. u. Ind. der Kolloide* 3, 1908.

einstimmung mit dem niedersteigenden Aste der Kurve der elektrischen Leitfähigkeit derselben, wenn nämlich der nicht dissoziierte Teil zunimmt.

Die Salze üben eine beschleunigende Wirkung auf das Phänomen aus, welohe Wirkung ihren Kationen zuzuschreiben ist.

Zoja meint, daß es sich um eine ionische, durch die Hydrogenionen hervorgerufene Erscheinung handele, und daß ein doppeltes Gleichgewicht bestehe zwischen dem dissoziierten und dem nicht dissoziierten Teile der Säure und zwischen dieser und den kolloiden Partikeln.

Es war von Bedeutung, die Untersuchungen auf die Mineralsalze auszudehnen, für welche vorauszusehen war, daß die Erscheinung wegen ihres großen Trennungsvermögens bei sehr geringen Konzentrationen auftreten würde, weswegen auch genaue Bestimmungen des Gefrierpunktes der angewandten Lösungen möglich gewesen wären. Diese Bestimmungen konnte Zoja nicht anstellen wegen der starken Säurekonzentrationen, welche er zwecks Studiums des Phänomens gebrauchen mußte.

Die in meinen Versuchen angewandte Mineralsäure war Salzsäure. Ich erforschte das Verhalten des Δ und des elektrischen Leitvermögens an Mischungen, in welchen das Gesamtvolumen sowohl wie die Mengen Eiweiß und Salzsäure beständig veränderlich waren, und an anderen, in welchen die Eiweißlösung durch ein gleiches Volumen destilliertes Wasser ersetzt war. Das Sinken des Gefrierpunktes wurde mit einem in $\frac{1}{100}$ Grade eingeteilten Beckmannschen Thermometer festgestellt.

Das spezifische elektrische Leitvermögen wurde bei einer Temperatur von 25° C mit der Kohlrausch-Methode festgestellt.

Das in allen Versuchen gebrauchte Eiereiweiß dialysierte 21 Tage lang in fließendem Wasser und in weiteren 8 Tagen in destilliertem Wasser, das alle 24 Stunden 2 bis 3mal gewechselt wurde, so daß nach der Dialyse seine elektrische Leitfähigkeit bei 35° C $K_{25}^{\times 10^{-5}} = 55$ und das $\Delta = 0,002$ betrug; während der Zeit, in welcher die Experimente ausgeführt wurden, wurde es bei niedriger Temperatur unter Toluol aufbewahrt. Der Prozentsatz an darin enthaltenem Eiweiß betrug nach der Dialyse 47,50‰ und nach der bei der Bereitung der Mischung erfahrenen Verdünnung 31,66‰.

Mittels der in der Tabelle I und II gesammelten Daten wurde die Kurve aufgestellt. Für alle Mischungen wurde dieselbe 75 bis 85%ige Salzsäurelösung angewandt.

Tabelle I.

Nummer d. Reihenfolge d. Mischungen	Mischungen			Normalität der Säure	$K_{25}^{\times 10^{-5}}$	Δ	Bemerkungen
	Dialysiertes Eiweiß	HCl	H ₂ O				
1	ccm HO	ccm 5	ccm 0,00	0,692	22694	2,762	stark. Niederschl.; es wird zur Ausführ. der Bestimmungen zentrifugiert u. dekantiert
2	" "	" 4,5	" 0,5	0,623	18452	2,433	starker Niederschl.
3	" "	" 4	" 1	0,554	15747	2,082	" "
4	" "	" 3	" 2	0,416	11,871	—	" "
5	" "	" 2,5	" 2,5	0,347	9625,27	1,192	gelatinöser "
6	" "	" 2	" 3	0,278	7957,91	0,926	" "
7	" "	" 1,75	" 3,25	0,244	6709,79	0,815	" "
8	" "	" 1,50	" 3,50	0,209	5765,57	0,700	während der Bestimmungen zähe und klar, nach drei Stunden milchige Gelatine
9	" "	" 1,25	" 3,75	0,175	4561,33	0,540	klar; nach einer Stunde gelatiniert nach 24 Stunden, den opalescent
10	" "	" 1	" 4	0,138	3414,34	—	klar, gelatiniert nach 15 Stunden
11	" "	" 0,75	" 4,25	0,103	2287,42	0,272	klar, gelatiniert nach 9 Tagen
12	" "	" 0,50	" 4,50	0,069	1071,40	0,135	klar, flüssig
13	" "	" 0,40	" 4,60	0,055	633,20	0,084	" "
14	" "	" 0,25	" 4,75	0,035	287	0,047	" "
15	" "	" 0,00	" 5,00	0,000	58,98	0,002	" "

Wie aus den Tabellen I und II und aus der Kurve hervorgeht, werden die Werte des Δ der albuminösen Salzlösungen, verglichen mit denen der wässrigen Salzsäurelösungen, in einer ersten Strecke, und gerade eben von der normalen Konzentration bis zur Konzentration 0,055 n durch zwei im Winkel divergierende gerade Linien mit dem Gipfel bei Null dargestellt; von 0,055 n bis 0,554 n nehmen sie den Verlauf zweier paralleler gerader Linien, und zwischen 0,554 n und 0,692 n berühren

die Werte des Δ der albuminösen diejenigen der wässrigen Salzsäurelösungen und überragen sie dann.

Tabelle II.

Nummer der Reihen- folge	Mischungen			Nor- ma- lität der Säure	$K_{25}^{\times 10^{-5}}$	Δ'	$\Delta - \Delta'$
	Dialy- siertes Eiweiß	HCl	H ₂ O				
1	com O	ccm 5	ccm 10	0,692	—	2,712	— 0,050
2	" "	" 4,5	" 10,5	0,623	—	2,392	— 0,040
3	" "	" 4	" 11	0,554	—	2,192	+ 0,110
4	" "	" 3	" 12	0,416	—	1,582	—
5	" "	" 2,5	" 12,5	0,347	1574,47	1,307	+ 0,115
6	" "	" 2	" 13	0,278	—	1,037	+ 0,111
7	" "	" 1,75	" 13,25	0,244	8448,46	0,922	+ 0,110
8	" "	" 1,50	" 13,50	0,209	7455,32	0,817	+ 0,117
9	" "	" 1,25	" 13,75	0,175	6385,87	0,652	+ 0,112
10	" "	" 1	" 14	0,138	5070,92	0,482	—
11	" "	" 0,75	" 14,25	0,103	3936,86	0,387	+ 0,115
12	" "	" 0,50	" 14,50	0,069	2770,65	0,245	+ 0,110
13	" "	" 0,40	" 14,60	0,055	2346,55	0,197	+ 0,113
14	" "	" 0,30	" 14,70	0,041	1708,39	0,132	—

Die ausgezeichneten Versuche Paulis¹⁾ geben eine befriedigende Erklärung über dieses bemerkenswerte anfängliche Sinken der Werte des Δ ; deswegen halte ich es für angebracht, dieselben hier kurz wiederzugeben.

Dieser Verfasser hat in einer Arbeit Nachforschungen über den Einfluß der Salzsäure und des Natriumhydrats auf die innere Reibung des dialysierten Eiweißes angestellt.

Die als in Funktion betrachteten Werte der innern Reibung der Säure- und der Basenkonzentration nehmen zu, bis sie ein Maximum erreichen, wonach sie abnehmen.

Pauli deutet dieses Ergebnis nach Laqueur und Saackur²⁾ als eine Umbildung des neutralen Eiweißes in Albuminone, die positiv bei Zufügung von Säure, negativ bei Zufügung von Base sind; wenn die Werte der innern Reibung abnehmen, so bildet sich nach Paulis Annahme durch einen Rückgang des Dissoziationsphänomens aus dem sauren Chloralbumin neutrales Chloralbumin.

In einer zweiten Arbeit gibt er der aufgestellten Hypothese eine breite Grundlage, indem er eine Reihe von Experimenten angibt, die sich alle mit derselben decken.

¹⁾ W. Pauli, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. der Kolloide. — Kolloid-chemische Studien am Eiweiß 3. — W. Pauli und H. Handowsky, l. c.

²⁾ Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 3, 193, 1903.

1. Die elektrische Leitfähigkeit und die innere Reibung nehmen ab, wenn dem dialysierten Eiweiß, dem man Salzsäure in solcher Menge zusetzte, daß die innere Reibung den Höchstwert nicht überstiegen hat, neutrale Salze hinzugefügt werden.

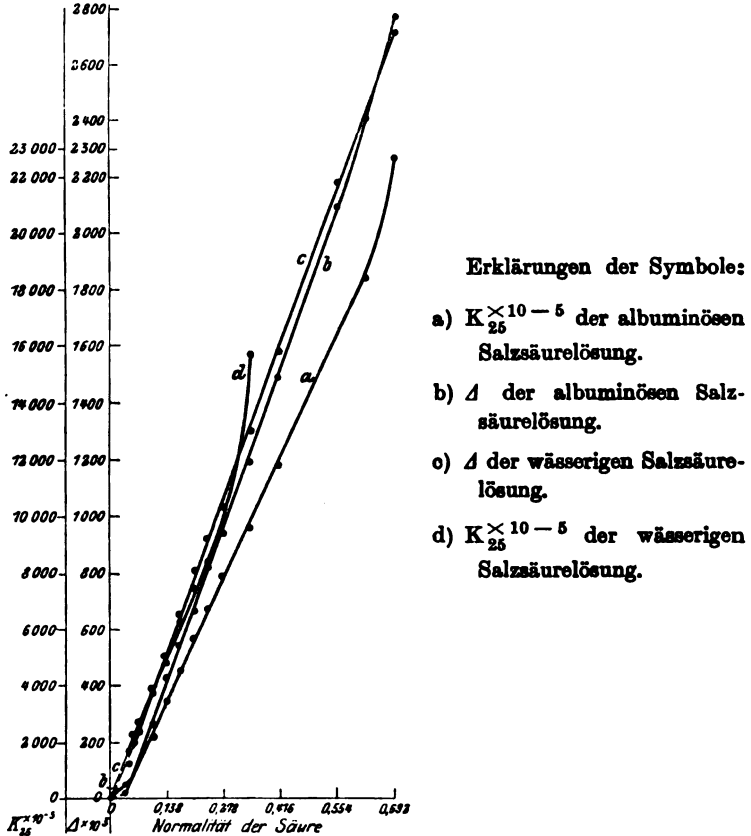
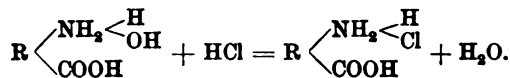


Fig. 1.

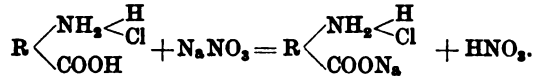
2. Die freien H-Ionen nehmen beim Zufügen von Salzen starker Säuren zu.

3. Das dialysierte Eiweiß verliert bei dem ersten Zusatz von Säure die Eigentümlichkeit, durch Alkohol zu gerinnen; bei den nachfolgenden Zusätzen gewinnt es dieselbe wieder.

Das Vermögen des Eiweißes, durch Zusatz einer Säure eine positive elektrische Ladung zu erwerben, ist nach Paulis Meinung den Aminosäuren der Proteinmoleküle zuzuschreiben und träte nach der folgenden Gleichung ein:



Die Verminderung des elektrischen Leitvermögens durch Zusatz von neutralen Salzen käme darum zustande, weil sich in der Amidosäure starke Anionen und Kationen finden, deren Neigungen zum Ionisieren fast im Gleichgewicht sind; deswegen bildet sich ein neutrales Molekül, das die Zahl der freien H-Ionen vermehrt.



Die innere Reibung nähme durch einen Hydratationsprozeß des elektrisch geladenen Eiweißes zu, durch einen Entwässerungsprozeß des Eiweißes ab, das seine elektrische Ladung verliert, um neutrales Eiweiß zu werden.

Diese Ansicht werde durch die Tatsache gestützt, daß sowohl das Säureeiweiß als auch das Alkalialbumin den entwässernden Agenzien (Alkohol, Wärme) gegenüber widerstehen, während das neutrale Eiweiß koaguliert wird.

Auch bei den flüssigen Gelatinen wurde von Schröder¹⁾ beobachtet, daß durch Zusatz von Salzsäure die innere Reibung zunimmt, bis dieselbe ein Maximum erreicht, das mit der Säurekonzentration zusammenfällt (0,015 n), für welche auch Pauli den höchsten Wert der innern Reibung feststellte.

Lillie²⁾ nahm mit seinem Osmometer Messungen über den osmotischen Druck vor und konnte durch progressiven Zusatz von Salzsäure in den Gelatinen eine Zunahme des osmotischen Druckes bis zur Konzentration 0,003 n nachweisen.

Deshalb hält Pauli es für unzweifelhaft, daß die von Lillie beobachteten Druckzunahmen mit den von ihm angenommenen starken Hydratationen der Albuminionen gleichzustellen seien.

Die Abnahme der Werte der innern Reibung, die als eine Rückgangerscheinung der Dissoziation und der nachfolgenden Bildung von neutralem Chloralbumin gedeutet wird, wird durch die Experimente von Schorr³⁾ bestätigt, welcher, indem er sich auf die besondere Eigenschaft des Alkohols, das neutrale Eiweiß zu koagulieren und das saure Eiweiß gelöst zu lassen, stützte, feststellen konnte, daß das dialysierte Eiweiß durch den allmählichen Zusatz von Salzsäure anfangs die Eigenschaft verliert, dem Alkohol gegenüber zu gerinnen; es gewinnt diese Eigenschaft jedoch bei weiteren Zusätzen von Alkohol nach und nach wieder.

Im Lichte dieser Untersuchungen betrachtet, kann man unschwer die starken, von mir in den albuminösen Salzmischungen⁴⁾ angetroffenen Senkungen des Δ so deuten, daß sie zum kleinsten Teil der minderen Dissoziation der Salzsäure, wegen der

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 66, 129.

²⁾ American. Journ. of Physiol. 20, 127.

³⁾ Diese Zeitschr. 13, 173, 1908.

⁴⁾ A. Aumanski, Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 553.

Anwesenheit des Eiweiß-Kolloids, zuzuschreiben sind, zum größten Teil jedoch der Verbindung der Salzsäure mit dem Eiweiß.

Nach Paulis Ansicht entspricht der höchste Wert der innern Reibung der Konzentration 0,016 n; bei der Konzentration 0,05 n war die Herabsetzung der Werte der innern Reibung so stark, daß sie beinahe die Werte des neutralen Eiweißes erreichten.

Da nun sowohl die Bildung des sauren Eiweißes, als auch das Neutralwerden desselben an eine Entziehung von Ionen von seiten des Eiweißes gebunden ist, so muß deshalb das Δ beständig sinken, bis alles Eiweiß neutrales Chloralbumin geworden ist.

Die größte Entfernung der Werte des Δ der albuminösen von denen der wässrigen Salzmischungen trat bei meinen Experimenten bei der Säurekonzentration 0,055 n ein, bei der in entsprechender Weise Pauli die stärkste Senkung der innern Reibungswerte beobachtete.

Von der Konzentration 0,055 n bis zur Konzentration 0,554 n bleibt der Unterschied $\Delta - \Delta'$ beinahe unverändert; daher muß angenommen werden, daß entweder die Salzsäure mit dem Chloralbumin keine Verbindung mehr eingeht, oder daß sie mit demselben eine Verbindung bildet, die ebenso dissoziierbar ist, wie die Salzsäure. Bei dem aber, was wir bis heute über den physikalisch-chemischen Zustand der in Lösung befindlichen Körper wissen, läßt sich eine komplexere und dissoziierbare Verbindung kaum denken; deswegen halten wir uns an die erstere Hypothese.

Ich erwähne hier von neuem, daß die Gelatinierung zwischen 0,103 n und 0,244 eintritt; auf diese Erwägung werde ich zurückkommen müssen, wenn ich über die Ergebnisse der Werte des Δ und $K_{25}^{x \cdot 10^{-5}}$ berichte, die in einer und derselben Lösung zu verschiedenen Zeiten festgesellt wurden.

Von 0,554 n bis 0,692 n werden die Unterschiede $\Delta - \Delta'$ negativ, man muß daher annehmen, daß sich entweder eine größere Anzahl oder dissoziierbarere Moleküle gebildet haben.

Die Lösung der Bindung zwischen der Salzsäure und dem Eiweiß könnte zum Teil dieses Ergebnis erklären; Feststellungen über den Gehalt an Chlor des sich bei diesen Säurekonzentrationen

trationen bildenden eiweißartigen Niederschlags können erklären, inwieweit diese Hypothese auf Wahrheit beruht.

Wenn wir nun die elektrische Leitfähigkeit der albuminösen und der wässrigen Salzsäurelösungen vergleichen, so sehen wir, daß die Werte der ersteren — beim Ausgang von einem fast gemeinsamen Punkte (Null) — divergieren und den schon anlässlich des Δ erwähnten Winkel bilden. Dann nehmen sie bis zur Konzentration 0,244 n einen leicht divergierenden geradlinigen Verlauf; nach dieser Konzentration steigen die Werte der Leitfähigkeit der wässrigen Salzsäurelösungen bei krummlinigem Verlauf rasch an; die Werte der Leitfähigkeit der eiweißhaltigen Salzsäurelösungen dagegen behalten ihren geradlinigen Verlauf bis zur Konzentration 0,623 n bei, nach welcher sie rasch ansteigen und dazu neigen, einen den Werten der Leitfähigkeit der wässrigen Salzsäurelösungen gleichartigen Fortgang zu nehmen.

Die anfängliche Divergenz der eiweißhaltigen Salzsäurelösungen findet ihre Erklärung in den nämlichen, anlässlich der Werte des Δ erwähnten Tatsachen. In der Folge ist die Divergenz kaum wahrnehmbar, sie wird stärker nach der Konzentration 0,244 n, wenn die Δ -Werte parallel verlaufen. Hier wird die Divergenz folgerichtig nicht durch ein Faktum der verminderten Dissoziation, sondern durch ein Hindernis für die Bewegung der Ionen bedingt.

Außerdem stellte ich mir die Aufgabe, zu untersuchen, welche Modifikationen in der Viscosität und in der elektrischen Leitfähigkeit während des Gelatinierens in einer zum Gelatinieren neigenden Lösung vorkämen; daher verfolgte ich im richtigen Zeitpunkt das Verhalten dieser beiden physikalisch-chemischen Konstanten in einer und derselben Lösung.

Die Daten dieses Experimentes sind auf der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Wie aus den darin zusammengestellten Ergebnissen hervorgeht, nimmt die Viscosität zuerst allmählich, dann schneller zu, bis sie einen Wert ∞ erreicht. Die Leitfähigkeit und das Δ dagegen erhalten sich unverändert.

Es ist zu beachten, daß die Bildung des Niederschlags innerhalb der Gelatine gar keinen Einfluß weder auf die elektrische Leitfähigkeit, noch auf das Δ hat; wir müssen daher

Tabelle III.

Mischung	Zeit in m' nachdem die Mischung gemacht war	Abflußzeit in m'' 0,254	Widerstand in Ohm	Δ	Bemerkungen	
Eiereiweiß	10	19 u. $\frac{8}{10}$	9,70	0.832	Viskosimeter hatte eine Abflußzeit für das H ₂ O a 25 C von 49'' u. $\frac{4}{10}$	
30 ccm	17	21	9,70			
HCl zu 2,55%	24	21 u. $\frac{6}{10}$	9,70			
12 ccm	32	23 u. $\frac{6}{10}$	9,70			
Normalität der Säure	34	25 u. $\frac{4}{10}$	9,70			
= 0,018	40	30	9,70			
	45	33 u. $\frac{8}{10}$	9,70			
	52	45	9,70			
	54	52 u. $\frac{6}{10}$	9,70			
	57	63 u. $\frac{4}{10}$	9,70			
	61	101 u. $\frac{6}{10}$	9,70			
	74	563 u. $\frac{4}{10}$	9,70			
	83	—	9,70			
	95	—	9,70			
						opaleszierend gelatiniert milchige Gelatine

annehmen, daß die Modifikationen, welche diese beiden physikalischen Konstanten erleiden, in den ersten Augenblicken, wenn die Mischung bereitet wird und dieselbe noch klar ist, zustande kommen; die nachfolgenden Erscheinungen sind weder ionische noch molekulare, sondern vielleicht Hydratationen des Kolloids.

Nach Hardys¹⁾ Dafürhalten besteht der Gelatinierungsvorgang in einer festen und in einer flüssigen Phase. Die feste Phase ist eine feste Lösung des Lösungsmittels im Kolloid; die flüssige Lösung ist eine Lösung des Kolloids im Lösungsmittel.

Nach Lewites²⁾ Meinung wäre die Gelatinierung der Krystallisierung gleich, weil sie zu demselben Ergebnis führt wie diese, nämlich zu der Trennung der festen Substanz aus der Lösung; sie unterscheidet sich von ihr nur durch die Tatsache, daß bei der Gelatinierung der Stoff sich im amorphen Zustand trennt, bei der Krystallisierung im krystallischen.

Paulis angeführte Untersuchungen, welche die innerhalb der Kolloidlösungen vor der Gelatinierung eintretenden Modifikationen von verschiedenen Gesichtspunkten aus in Angriff nehmen, verdienen weitergeführt zu werden, und zwar müßten besonders die Salzsäurekonzentrationen, in welchen das Eiweiß gelatiniert, in Betracht gezogen werden.

Die von Pauli aufgestellte Hypothese, daß die Zunahme der an die Hydratation der Kolloidpartikel gebundenen Werte der inneren Reibung durch die elektrische Ladung verursacht seien, erklärt nicht das Verhalten der Werte des Δ in den Mischungen, in welchen das Eiweiß gelatiniert, denn die Logik führt uns dazu, anzunehmen, daß die Gelatinierung eintritt, wenn das Chloralbumin neutral geworden ist.

¹⁾ Hardy, Zeitschr. f. physikal. Chem. 33, 1900.

²⁾ Lewites, Beiträge zur Kenntnis des Gelatinierungsvorgangs. Koll. Zeitschr. 2, 101 bis 208, 277, 1907/08.

Eine Tatsache ist noch bei dem Studium der Gelatinierung des Eiweißes durch die Salzsäure in Betracht zu ziehen: die Langsamkeit, mit welcher sich diese Erscheinung vollzieht, während die Essigsäure, welche so viel weniger dissoziierbar ist, augenblicklich die Gelatine erzeugt. Wenn man dafür sorgt, zu den eiweißhaltigen Salzsäuremischungen zwischen 0,035 n und 0,0138 n ein wenig Alkohol hinzuzutun, so erlangt man auch unter diesen Umständen die sofortige Gelatinierung der Flüssigkeit.

Weitere Untersuchungen werden feststellen können, welchen Anteil an dieser Beschleunigung die Verbindungen der Essigsäure (Rudorf¹) und die des Alkohols (Abegg²) mit dem Wasser haben.

¹) G. Rudorf, Zeitschr. f. physikal. Chem. 43, 243, 291, 1903. Zur Kenntnis der Leitfähigkeiten und innern Reibungen.

²) R. Abegg, Versuch einer Theorie der Valenz und der Molekularverbindungen. Christiania Vidensk. Selsk. Skrifter 1902 Nr. 12.

Beitrag zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Hundekörpers.¹⁾

Von

J. Stockhausen.

(Aus dem zootechnischen Institut der Königlichen Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 28. August 1909.)

Um den Einfluß der Nahrung auf die chemische Zusammensetzung der N-haltigen Trockensubstanz des Tierkörpers — speziell den Einfluß auf das Verhältnis von N:C in der N-haltigen Trockensubstanz — zu studieren, wurden 4 Hunde in Versuch genommen.

In einer älteren und in einer jüngeren Gruppe von je 2 Hunden wurde das eine Tier mit Pt-reichem²⁾ (Fleisch), das andere Tier mit Pt-armem Futter (Reis) ernährt.

Unmittelbar nach Beendigung der Fütterungsperioden wurden die Tiere getötet und in ihre einzelnen Organe zerlegt.

Die Schlachtergebnisse.

Die hier angewandte Methode der Berechnung der Schlachtergebnisse ist diejenige C. Voits in seinem Aufsatz „Gewichte eines wohlgenährten und eines hungernden Hundes“ (Zeitschr. f. Biol. 30, 513 ff., 1894).

¹⁾ Auszug aus der Inaugural-Dissertation „Untersuchungen über die stoffliche Zusammensetzung des Tierkörpers bei proteinreicher und bei proteinarmer Ernährung“, der Philosophischen Fakultät der Königlichen Albertus-Universität in Königsberg i. Pr. vorgelegt von J. Stockhausen aus Berlin. Berlin 1909.

²⁾ Pt = Protein.

(Schlachtresultate.)

Bezeichnung der Organe	Reis- ¹⁾	Fleisch- ¹⁾	Reis- ¹⁾	Fleisch- ¹⁾
	hund I	hund I	hund II	hund II
	g	g	g	g
Muskulatur und Knochen (Schlachtgewicht)	10070,00	8300,00	4200,00	5175,00
Haut	1654,50	973,50	1265,00	1190,00
Abgelassenes Blut	923,50	1615,00	447,00	553,00
Gehirn, Rückenmark u. Augen	125,20	130,00	100,00	95,00
Herz und Lunge	266,40	226,00	218,00	159,00
Leber	423,00	290,00	260,00	230,00
Milz	33,62	40,00	14,00	17,00
Niere	68,28	51,00	26,00	45,00
Magen, Darm, Harnblase . .	567,70	456,00	362,00	367,00
Abgelöstes Fett	665,50	222,00	830,00	373,00
Galle	14,50	25,00	8,00	10,00
Kot	107,80	194,00	125,00	104,00
Summa:	14920,00	12522,50	7855,00	8318,00
Lebendgewicht:	14920,00	12700,00	7920,00	8350,00
Differenz:	—	177,50	65,00	32,00
Der Schlachtverlust beträgt in Pro-				
zenten des Lebendgewichts:		1,40	0,82	0,38
Abgelöste Muskeln	7854,50	6392,00	3327,00	3912,50
Reine Knochen	2215,50	1908,00	973,00	1262,50
Schlachtgewicht:	10070,00	8300,00	4200,00	5175,00
Das Gewicht der Knochen . . } beträgt in	22	23	23,17	24,40
Das Gewicht der Muskulatur . } Proz. des	78	77	76,83	75,60
	Schlacht-			
	gewichts			
Lebendgewicht, g	14920,00	12700,00	7920,00	8350,00
Das Gewicht der Knochen . . } beträgt in	15,05	15,02	12,29	15,12
Das Gewicht der Muskulatur . } Proz. des	53,36	50,33	40,74	46,86
	Lebend-			
	gewichts			
Knochen, g	2215,50	1908,00	973,00	1262,50
Fett, g	665,50	222,00	830,00	373,00
Galle, g	14,50	25,00	8,00	10,00
Kot, g	107,80	194,00	125,00	104,00
Summa: g	3003,30	2349,00	1936,00	1749,50
Lebendgewicht: g	14920,00	12700,00	7920,00	8350,00

¹⁾ Erklärung siehe Anm. weiter unten.

(Schlachtresultate. Fortsetzung.)

Bezeichnung der Organe	Reis- hund I g	Fleisch- hund I g	Reis- hund II g	Fleisch- hund II g
Lebendgewicht min. (Knochen + Fett + Galle + Kot) = Muskulatur + Eingeweide, g	11916,70	10351,00	5984,00	6600,50
Gewichte der Muskulatur, g	7854,50	6392,00	3227,00	3912,50
Gewichte der Eingeweide, g.	4062,20	3959,00	2757,00	2688,00
Muskulatur + Eingeweide, g.	11916,70	10351,00	5948,00	6600,50
Davon in Proz. Muskulatur	65,91	61,75	53,93	59,27
„ „ „ Eingeweide	34,09	38,25	46,07	40,73
Gewicht der Eingeweide in Proz. des Lebendgewichts	27,23	31,17	34,81	32,19
Gewicht des Fettgewebes in Proz. des Lebendgewichts	4,46	1,75	10,48	4,47
Gewichte der Eingeweide der vier Hunde, g	4062,20	3959,00	2757,00	2688,00
Von dem Gewicht der Ein- geweide entfallen in Pro- zenten auf:				
Leber	10,41	7,33	9,43	8,55
Milz	0,83	1,01	0,51	0,63
Niere	1,68	1,29	0,94	1,69
Magen, Darm und Harnblase	13,98	11,52	13,13	13,45
Herz und Lunge	6,56	5,71	7,91	5,97
Ausgelaufenes Blut	22,73	24,59	16,21	20,79
Haut und Haare	40,73	40,79	45,88	44,73
Gehirn, Rückenmark u. Augen	3,08	3,28	3,63	3,57
Schlachtverlust	—	4,48	2,36	0,62

Im Hinblick auf das eingangs genannte Ziel der Untersuchungen wurde das gesamte, sorgfältig konservierte Material analysiert.

Die Untersuchungsergebnisse.

a) Die analytischen Befunde bezüglich der einzelnen Organe.

Die Analysenresultate sind in den Tabellen I bis VII niedergelegt.

Zur Untersuchung kamen Muskulatur, Knochen, Haut, Blut, Herz und Lunge, Leber, Milz, Niere sowie Magen und Darm. Das Zentralnervensystem (Gehirn und Rückenmark) und das Fettgewebe wurden

nicht in die analytischen Untersuchungen mit hineingezogen, weil die stoffliche Zusammensetzung der Nervensubstanz wohl weniger einer Beeinflussung durch die Ernährung, unter Berücksichtigung der durch die Versuchsanstellung gegebenen Bedingungen, ausgesetzt sein dürfte, ferner auch weil bei ihrer Verarbeitung ebenso wie bei derjenigen des Fettgewebes Schwierigkeiten entstehen, vor allem aber die Arbeiten nicht zu sehr ausgedehnt werden sollten und konnten.

Die Analysen erstrecken sich auf den Trockensubstanz-, Asche-, Fett-, Glykogen-, N- und C-Gehalt der oben aufgezählten Organe.

Besprechung der direkten Befunde:

Tabelle I.

Trockensubstanzgehalt¹⁾ in Prozenten der frischen Substanz.

Organe	Gruppe A ²⁾		Gruppe B ²⁾	
	R I	F I	R II	F II
Muskulatur (einschl. Fett) .	33,26	33,38	39,89	36,11
Knochen	67,65	66,27	64,90	58,33
Haut	57,09	46,43	73,11	60,60
Blut	22,00 ³⁾	21,95	24,40	20,32
Herz und Lunge	24,74	26,56	30,51	29,02
Leber	30,33	34,10	31,42	29,39
Milz	25,71	25,31	28,13	24,60
Niere	23,89	27,80	29,88	25,37
Magen und Darm	21,49	— ⁴⁾	31,57	27,16

Der Trockensubstanzgehalt ist im allgemeinen bei Gruppe B ein höherer als bei Gruppe A. Eine deutliche Ausnahme hiervon machten allein die Knochen, welche bei den wachsenden Hunden W.-haltiger⁵⁾ sind als die der alten Hunde. Innerhalb der Gruppen A und B neigen die stark mit Kohlenhydraten gefütterten Tiere zu einem höheren Trbst.-Geh. als die anderen.

¹⁾ Abgekürzt: Trbst.-Geh.

²⁾ Gruppe A ist die Gruppe der ausgewachsenen Hunde, darin bedeutet „R I“ den Reishund und „F I“ den Fleischhund; Gruppe B ist die Gruppe der wachsenden Hunde, darin bedeutet „R II“ den Reishund und „F II“ den Fleischhund.

³⁾ Das Präparat war infolge Eindringens von Bakterien nicht ganz einwandfrei.

⁴⁾ Zahl fehlt, da das Glasgefäß während des Sterilisierens platzte und sein Inhalt auslief.

⁵⁾ W. = Wasser.

Das ist durchweg der Fall bei den wachsenden Hunden. Gruppe A zeigt in dieser Beziehung nicht die gleiche Regelmäßigkeit: Herz und Lunge, Leber und Niere des Reishundes I haben einen höheren W.-Geh. als diese Organe des Fleischhundes. Die Zahl für das Blut des Reishundes I konnte nicht ganz einwandfrei ermittelt werden und ist deshalb auf 22% korrigiert worden.

Vergleicht man noch die Pt.-arm¹⁾ bzw. die Pt.-reich ernährten Hunde untereinander, so sieht man, daß Reishund II in allen Organen mit Ausnahme der Knochen einen höheren (teilweise erheblich höheren) Trabst.-Geh. besitzt als der ausgewachsene Reishund I. Dasselbe Verhältnis findet man bezüglich Muskulatur, Haut sowie Herz und Lunge bei den Fleischhunden; dagegen verhalten sich die übrigen Organe (Blut, Knochen, Leber, Milz und Niere) gerade umgekehrt: Der W.-Gehalt ist hier bei dem jüngeren Tiere ein größerer als bei dem ausgewachsenen.

Tabelle II.
Aschegehalt in Prozenten der Trockensubstanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	R I	F I	R II	F II
Muskeln	3,07	3,46	2,68	2,91
Knochen	45,71	44,44	44,61	41,27
Haut	2,51	3,02	1,96	1,62
Blut	6,18 ²⁾	4,17	4,30	4,75
Herz und Lunge	5,11	6,76	4,46	4,92
Leber	5,79	8,37	4,12	5,97
Milz	10,10	9,29	10,78	7,41 ³⁾
Niere	7,57	7,46	6,82	6,80
Magen und Darm	4,93	5,60	4,21	5,58

Abgesehen von den Knochen, hat die Milz den höchsten Aschegehalt, der nur bei Fleischhund II von den Zahlen der anderen Hunde stark abweicht. Ein Vergleich der Gruppen A und B lehrt, daß sich beide im Aschegehalt gerade umgekehrt

¹⁾ Pt. = Protein.

²⁾ Die Zahl 6,18% ist unsicher; cf. Tab. I.

³⁾ Die Zahl 7,41% ist unsicher, weil unter Fettabzug berechnet, cf. Tab. III.

verhalten wie im Trbst.-Gehalt nach Tabelle I. Der Aschegehalt ist bei den ausgewachsenen Hunden fast durchweg ein höherer als bei den entsprechenden Organen der wachsenden Hunde. Eine Ausnahme macht das Blut: Die Zahlen für die wachsenden Hunde sind teilweise höher als bei dem ausgewachsenen Hunde, cf. Gruppe B mit FI. Die Erklärung für diese Erscheinung liegt in den Zahlen der Tabelle III (s. u.), die den Fettgehalt der Organe wiedergibt. Wie wir weiter unten sehen werden, ist der prozentische Fettgehalt in allen Organen der jungen wachsenden Hunde ein höherer als bei den ausgewachsenen Hunden, folglich muß der Aschegehalt ihrer Organe ein niedrigerer als der der ausgewachsenen Hunde sein.

Stellt man die Werte der Reishunde nebeneinander, so ergibt sich, daß Reishund I höhere Aschezahlen aufweist als Reishund II — mit Ausnahme der Milz. Von den Fleischhunden hat Fleischhund I höheren Aschegehalt in seinen Organen als Fleischhund II — mit Ausnahme des Blutes.

Die Analysen ergaben also, daß die jungen wachsenden Hunde in der Trbst. fast aller Organe einen geringeren Aschegehalt besitzen als die ausgewachsenen Tiere.

Tabelle III.

Fettgehalt in Prozenten der aschefreien Trockensubstanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	R I	FI	R II	FI
Muskulatur	38,00	34,55	54,62	45,37
Knochen	31,42	32,29	36,31	35,83
Haut	41,54	39,25	60,13	60,66
Blut	— ¹⁾	0,86	1,22	1,51
Herz und Lunge	19,13	18,48	37,99	35,02
Leber	9,80	6,70	21,97	9,83
Milz	8,63	11,53	21,39	— ¹⁾
Niere	16,42	16,93	31,11	24,21
Magen und Darm.	20,75	21,60	44,84	32,55

Aus Tabelle III ergibt sich mit Regelmäßigkeit, daß der wachsende Reishund ebenso wie der wachsende Fleischhund dem in gleicher Weise ernährten ausgewachsenen Tiere gegen-

¹⁾ Die Analysen gingen verloren.

über an Fettgehalt der aschefreien Trockensubstanz überlegen ist; der Unterschied ist noch am geringsten bei den Knochen und im Blute.

Tabelle IV.

Glykogengehalt in Prozenten der aschefreien, entfetteten Trockensubstanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	R I	F I	R II	F II
Muskulatur	7,50	0,53	2,78	0,69
Leber	23,41	3,28	30,46	2,76

Die Untersuchung auf Glykogen beschränkte sich auf diejenigen Organe, welche erfahrungsgemäß den höchsten Gehalt daran aufweisen, nämlich Leber und Muskulatur, und welche auch ihrer Masse nach den weit überwiegenden Teil des ganzen Glykogens im Tierkörper enthalten müssen. Auch lieferten einige Organe so wenig Material zum analysieren, daß die Analyse des Glykogens neben den anderen Untersuchungen nicht mehr mit genügender Sicherheit hätte ausgeführt werden können.

Der mit Reis gefütterte Hund enthält sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B in Leber und Muskulatur bedeutend mehr Glykogen als der entsprechende Fleischhund. Reishund I hat in der Muskulatur mehr Glykogen abgelagert als Reishund II; dagegen in der Leber weniger als der junge Hund. Die Fleischhunde, bei denen die Unterschiede nicht so große sind als bei den vorigen, verhalten sich gerade umgekehrt: Der alte Fleischhund hat in der Leber mehr, in den Muskeln weniger Glykogen abgesetzt als der wachsende Fleischhund.

Aus den vorstehend mitgeteilten Tabellen ergibt sich folgender Gehalt der frischen Muskulatur an:

Tabelle V.

	R I %	F I %	R II %	F II %
Fett	12,25	11,14	20,66	15,91
Glykogen	1,50	0,12	0,48	0,13
Asche	1,02	1,15	1,07	1,05
N-halt Substanz	18,49	21,97	17,68	19,02
Wasser	66,74	66,62	60,11	63,89
Die fettfreie Substanz enthielt:				
Wasser	76,0	74,1	75,7	75,8

Tabelle VI.

N-Gehalt in Prozenten der aschefreien, entfetteten, glykogenfreien Trockensubstanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	R I	F I	R II	F II
Muskulatur	14,95	15,37	15,11	15,44
Knochen	14,69	14,64	15,46	14,62
Haut	17,36	16,82	16,87	17,81
Blut	14,88	19,18	15,17	15,06
Herz und Lunge	15,06	13,60	13,50	14,39
Leber	13,98	14,99	13,34	13,45
Milz	15,29	14,43	16,22	14,77
Niere	14,85	15,26	17,47	15,35
Magen und Darm	15,38	14,32	13,31	13,93

Eine Steigerung des N-Gehaltes in der fett-, asche-, glykogenfreien Trockensubstanz aller Organe der Pt.-reich gefütterten Hunde hat nicht stattgefunden, wie diese Tabelle zeigt.

In der Gruppe A enthalten drei Organe des Fleischhundes I etwas mehr N als dieselben Organe des Reishundes I, nämlich die Muskulatur, die Leber und die Niere, während bei Haut, Herz und Lunge, Milz, Magen und Darm das Umgekehrte der Fall ist. Die Differenz im N-Gehalt der Knochen kann als unerheblich angesehen werden.

In der Gruppe B enthält der Fleischhund II in vier Organen etwas mehr N, nämlich in Muskulatur, Haut, Herz und Leber, dagegen zeigen die anderen Organe (Blut, Knochen, Milz, Niere, Magen und Darm) des Reishundes II höheren N-Gehalt. Auch in dieser Gruppe (B) sind die Unterschiede für die Muskulatur und Leber beträchtlichere.

Der Vergleich der Tiere in den Gruppen A und B untereinander deutet darauf hin, daß die Pt.-reich gefütterten Hunde in Muskeln und Leber einen höheren, dagegen in Milz, Magen und Darm (Gruppe A) einen niedrigeren N-Gehalt besitzen als die Pt.-arm ernährten Tiere.

Bei den anderen Organen schwanken die Zahlen ganz unregelmäßig; bald hat der Reishund, bald der Fleischhund einen höheren N-Gehalt.

Tabelle VII.

C-Gehalt in Prozenten der aschefreien, entfetteten, glykogenfreien Trockensubstanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	RI	FI	RII	FII
Muskulatur	50,46	51,25	51,49	51,38
Knochen	47,25	49,54	48,82	48,67
Haut	48,30	49,81	49,84	50,14
Blut	56,58	55,19	56,30	58,49
Herz und Lunge	55,15	61,14	54,17	58,82
Leber	52,72	52,16	50,24	53,41
Milz	51,93	52,48	53,85	51,92
Niere	51,59	52,57	51,68	49,36
Magen und Darm	49,91	51,59	67,23	49,99

Auch der C-Gehalt der asche-, fett-, glykogenfreien Trockensubstanz läßt ebenso wie der N-Gehalt keine Regelmäßigkeit erkennen. Für die Muskulatur ergab sich: Fleischhund I hat höheren C-Gehalt als Reishund I, während Fleischhund II einen niedrigeren C-Gehalt als Reishund II hat.

Die Haut wie Herz und Lunge sind bei den Pt.-reich ernährten Tieren C-reicher als bei den kohlenhydratreich ernährten Tieren. Der Vergleich der Gruppe A mit B zeigt, daß bezüglich der anderen Organe (Knochen, Leber, Milz, Niere, Magen und Darm) Unregelmäßigkeiten vorherrschen.

In Gruppe A haben Knochen, Haut, Milz, Niere und Magen-Darm des Pt.-reich gefütterten Hundes einen höheren C-Gehalt als dieselben Organe des Reishundes; umgekehrt verhält sich in dieser Gruppe nur die Leber.

Bei den jungen Tieren ist es gerade die Leber des Fleischhundes, die einen höheren C-Gehalt besitzt als die Leber des Reishundes, während bei den Knochen, Niere und Milz wieder gerade das Gegenteil der Fall ist.

Es sind also bei der Mehrzahl der Organe auch bezüglich des C beträchtliche Schwankungen zu beobachten.

In der folgenden Tabelle VIII ist aus den in Tabelle VI und VII zusammengestellten Zahlen das Verhältnis von N:C berechnet.

Tabelle VIII.

Das Verhältnis von N:C in der N-haltigen Substanz.

Organe	Gruppe A		Gruppe B	
	RI	FI	RII	FII
In dem aschefreien, entfetteten, glykogenfreien Trsbst.-Rest verhält sich die Menge des N zur Menge des C wie 1 zu				
Muskulatur	3,38	3,36	3,41	3,33
Knochen	3,22	3,38	3,16	3,33
Haut	2,78	2,96	2,96	2,92
Blut	3,80	2,88	3,71	3,89
Herz und Lunge	3,66	4,50	4,01	4,09
Leber	3,77	3,48	3,77	3,97
Milz	3,40	3,64	3,32	3,51
Niere	3,48	3,45	2,96	3,22
Magen und Darm	3,25	3,59	5,05	3,59

Auch hier ist kein gleichmäßiges Verhalten zu erkennen.

Die Organe der Pt.-reich ernährten Hunde zeigen in beiden Reihen bei Knochen, Herz, Lunge und Milz ein etwas weiteres Verhältnis von N:C wie die Reishunde. Nur bei der Muskulatur ist das Verhältnis stets enger bei den Pt.-reich ernährten Tieren. Die Verhältniszahlen für die anderen Organe, also für Blut, Haut, Leber, Niere und Magen — Darm, sind stets schwankend. Der Vergleich der älteren Hunde untereinander lehrt, daß das N-C-Verhältnis ein engeres ist für den Fleischhund in der Muskulatur, Leber und Niere, während es in den anderen Organen weiter ist, nämlich in Haut, Knochen, Herz — Lunge, Milz und Magen — Darm; dies ist die Mehrzahl der Organe.

In Gruppe B haben Muskulatur und Haut des Fleischhundes II ein engeres N-C-Verhältnis, während Knochen, Blut, Herz — Lunge, Leber, Milz und Niere dieses Hundes (F II) ein weiteres N-C-Verhältnis besitzen als die entsprechenden Organe des Reishundes II. — Magen und Darm müssen hier aus der Besprechung ausgeschaltet werden, da Analysenfehler vorliegen.

Demnach enthält der asche-, fett-, glykogenfreie Trsbst.-Rest der Pt.-arm ernährten Hunde in der Mehrzahl der Organe mehr N im Verhältnis zum C als der N-halt. Rest der Pt.-reich gefütterten Tiere.

Es entsteht nun die Frage, ob etwa N in denjenigen Organen aufgespeichert wird, in deren N-halt. Substanz sich das N-C-Verhältnis verengte.

Die Versuche scheinen der Vermutung Kassowitz', die Leber sei vor anderen drüsigen Organen in hervorragendem Maße an einer N-Retention beteiligt, nicht zu widersprechen. Der N-Gehalt der Leber ist bei den Fleischhunden höher als bei den Reishunden (cf. Tab. VI, S. 251), und das N-C-Verhältnis ist in der Leber des Fleischhundes I ein engeres als in der Leber des Reishundes I (cf. Tab. VIII, S. 253). — Die hier gefundenen Unterschiede scheinen allerdings zunächst nicht groß genug, um für allgemeine Stoffwechseluntersuchungen als bedeutend zu gelten.

Die anderen von mir gesondert untersuchten drüsigen Organe weisen im Grunde keine wesentlichen Unterschiede auf, welche als Folge des Einflusses eines hohen oder niederen N-Umsatzes auf die Zusammensetzung des sog. N-halt. Restes der Organe anzusehen wären.

Vergleichen wir den prozentualen N-Gehalt der Muskulatur (cf. Tab. VI, S. 251), so sehen wir, daß er bei den beiden Fleischhunden ein höherer ist als bei den Reishunden. Ferner stehen N und C in der N-halt. Subst. der Muskulatur bei beiden Fleischhunden in einem engeren Verhältnis als bei den Reishunden. — Im übrigen lassen die Ergebnisse der Untersuchung sowohl bezüglich des N-Gehaltes als auch des N-C-Verhältnisses keine Regelmäßigkeiten erkennen.

Die nicht unbeträchtlichen Schwankungen in der Zusammensetzung der Organe lenken zu der Vermutung hin, ihre Ursache bestände in erheblichen individuellen Eigentümlichkeiten der Versuchstiere.

Die Schwankungen in der Zusammensetzung können zu angeborenen oder Rasse-Eigenschaften in Beziehung stehen; eher aber wäre vielleicht noch die Wirkung einer Verschiedenheit der Ernährung und Haltung in der ersten Jugendzeit als Entstehungsursache für die Zusammensetzungsschwankungen anzunehmen. Eine Erörterung gerade dieser Faktoren ist hier nicht am Platze; es muß die Konstatierung der gefundenen Unterschiede genügen. Der Einfluß genannter Faktoren scheint so bedeutend zu sein, daß die Wirkung einer Pt.-reichen oder Pt.-schwachen Fütterung dadurch vollständig verdeckt oder kompensiert werden kann, jedenfalls nicht von ausschlaggebender Bedeutung zu sein scheint.

Es soll nun die Zusammensetzung der Tiere in absoluten Zahlen gezeigt werden.

b) Die Zusammensetzung der ganzen Tiere.

Aus den Tabellen I bis VII kann in Verbindung mit den bei der Schlachtung gewonnenen Gewichten die Zusammensetzung der Versuchstiere in absoluten Zahlen, soweit die einzelnen Organe einer speziellen Analyse unterzogen wurden, berechnet werden.

Die so ermittelten Zahlen für die Zusammensetzung der vier Versuchstiere sind übersichtlich in den Tabellen IX, X, XI und XII zusammengestellt (S. 256). Jede Tabelle ist in 7 Stäbe eingeteilt und enthält das Gewicht der frischen Organe (1), der Trockensubstanz (2), des Wassers (3), des Fettes (4), des N-halt. Restes [d. h. der aschefreien, entfetteten, (eventuell) glykogenfreien, N-halt. Trbst.] (5), sowie das Gewicht des im N-halt. Rest enthaltenen N (6) und C (7).

Diese Gewichte sind für die folgenden 9 Organe berechnet: 1. Muskulatur, 2. Knochen, 3. Haut, 4. Blut, 5. Herz — Lunge, 6. Leber, 7. Milz, 8. Niere, 9. Magen — Darm.

Man erhält das Lebendgewicht eines Versuchstieres noch nicht durch Addition der Frischgewichte oben genannter Organe; die Summe letzterer muß vielmehr noch ergänzt werden durch eine die Gewichte von Gehirn, Galle, Fettgewebe, Darminhalt und Schlachtverlust umfassende Zahl. Sie ist hier in den Tabellen „Restgewicht“ benannt. Rechnet man dieses Restgewicht obiger Summe hinzu, dann erst erhält man das Lebendgewicht des Hundes. Gehirn, Galle und Fettgewebe sind im einzelnen nicht untersucht und bleiben in Zukunft unbeachtet.

Berechnung charakteristischer Unterschiede in der Zusammensetzung der Tiere.

a) Fett- und Wasserverteilung.

Es soll nun im folgenden auf Grund der bisher mitgeteilten analytischen Resultate unter Zusammenfassung der Mittelzahlen von sämtlichen untersuchten Organen der Tiere auf deutliche Unterschiede in ihrer Zusammensetzung hingewiesen und erwogen werden, inwieweit die verschiedene Ernährung dafür verantwortlich gemacht werden könnte.

Zunächst die Unterschiede im Fett- und Wassergehalt:

Die Zahlen der Tabelle I (Trockensubstanzgehalt) sowie der letzten 4 Tabellen (IX, X, XI, XII) lassen die Frage entstehen, wie der fast allen Organen der jungen Hunde eigen-

Tabellen IX—XII. Gesamtzusammensetzung der 4 Versuchshunde.

Organe	1	2	3	4	5	6	7
	Frisch- Ge- wichte g	Trock- Sbst. g	Wasser g	Fett g	N-halt. Rest		
					Gesamt- Gewicht g	davon N g	davon C g
Tabelle IX. Reishund I.							
Muskulatur . . .	7854,5	2612,40	5242,10	962,22	1452,25	217,11	732,81
Knochen	2215,5	1498,80	716,70	255,67	558,03	81,97	263,65
Haut	1654,5	944,56	709,94	382,52	538,33	93,45	260,02
Blut	923,5	203,17	720,33	1,906	188,71	28,31	106,77
Herz — Lunge .	266,4	65,91	200,49	11,963	50,57	7,62	27,89
Leber	423,0	131,33	291,67	11,829	77,61	10,85	40,92
Milz	33,6	8,64	24,96	0,670	7,10	1,09	3,69
Niere	68,3	16,31	51,99	2,476	12,60	1,87	6,50
Magen — Darm	567,6	122,00	445,70	24,067	91,92	14,14	45,87
Restgewicht . .	913,0	—	—	—	—	—	—
Leb.-Gew., Sa.:	14920,0	5603,12	8403,88	1653,321	2977,12	456,41	1488,12
Tabelle X. Fleischhund I.							
Muskulatur . . .	6392,0	2069,80	4324,220	690,540	1301,18	199,99	666,85
Knochen	1908,0	1264,40	643,600	226,840	475,65	69,63	235,64
Haut	973,5	452,00	521,500	172,050	266,30	44,79	132,64
Blut	1615,0	354,48	1260,520	2,922	336,78	64,59	185,87
Herz — Lunge .	226,0	60,03	165,974	10,343	45,63	6,21	27,90
Leber	290,0	98,89	191,110	6,071	81,77	12,26	42,65
Milz	40,0	10,12	29,876	1,059	8,12	1,17	4,26
Niere	51,0	14,18	36,822	2,221	10,90	1,66	5,73
Magen — Darm	456,0	102,60	353,400	20,920	75,93	10,87	39,17
Restgewicht . .	748,5	—	—	—	—	—	—
Leb.-Gew., Sa.:	12700,0	4426,50	7527,022	1132,966	2602,26	411,17	1340,71
Tabelle XI. Reishund II.							
Muskulatur . . .	3227,0	1287,30	1939,700	684,270	552,73	83,52	284,60
Knochen	973,0	631,47	341,530	127,000	222,77	34,44	108,74
Haut	1265,0	924,85	340,150	545,210	361,52	60,99	180,19
Blut	447,0	109,07	337,930	1,270	103,11	15,64	58,05
Herz — Lunge .	218,0	66,51	151,489	24,141	39,40	5,32	21,35
Leber	260,0	81,69	178,308	17,204	42,50	5,67	21,35
Milz	14,0	3,94	10,062	0,751	2,76	0,45	1,49
Niere	26,0	7,77	18,232	2,252	4,99	0,87	2,58
Magen — Darm	362,0	114,28	247,720	49,087	60,38	8,04	40,59
Restgewicht . .	1128,0	—	—	—	—	—	—
Leb.-Gew., Sa.:	7920,0	3226,88	3565,121	1451,185	1390,16	214,94	718,94
Tabelle XII. Fleischhund II.							
Muskulatur . . .	3912,5	1412,82	2499,680	622,340	744,19	114,91	382,36
Knochen	1262,5	736,42	526,080	154,970	277,53	40,57	135,07
Haut	1190,0	721,13	468,870	430,350	279,10	49,71	139,94
Blut	553,0	112,37	440,630	1,620	105,41	15,87	61,65
Herz — Lunge .	159,0	46,14	112,858	15,364	28,51	4,10	16,77
Leber	230,0	67,60	162,403	6,248	55,73	7,50	29,77
Milz	17,0	4,18	12,818	0,672	3,25	0,48	1,68
Niere	45,0	11,42	33,584	2,976	7,66	1,18	3,78
Magen — Darm	367,0	99,68	267,322	30,635	63,48	8,84	31,73
Restgewicht . .	614,0	—	—	—	—	—	—
Leb.-Gew., Sa.:	8350,0	3211,76	4524,245	1265,175	1564,86	243,16	802,75

tümlich hohe Trbst.-Geh., der wesentlich von demjenigen der Organe der älteren Hunde abweicht, zu erklären ist. Ein Vergleich der Tabelle I (S. 247) mit Tabelle III (S. 249) läßt die Vermutung einer Beziehung zwischen dem Wasser- und dem Fettgehalt der Organe entstehen. In der Tabelle XIII sind die Gesamtgewichte der untersuchten Organe der 4 Versuchstiere zum Vergleich nebeneinander gestellt.

Tabelle XIII.

Gruppe	Versuchstier	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Gesamtgewicht der untersuchten Organe				Von 100 Gew.-T. untersuchter frischer Organe sind		Von 100 Gew.-T. Trbst. der untersuchten Organe sind Fett	Fettfreie Masse d. untersuchten Organe frisch	
		Gewicht der frischen Organe g	Darin sind enthalten von			Wasser %	Fett %		ihr Gesamtgewicht g	100 Gew.-T. enthaltenen Wasser %
			Trock.-Sbst. g	Wasser g	Fett g					
A	Reishund I . .	14007,0	5603,12	8403,88	1653,32	60,00	11,80	29,51	12 353,68	68,03
	Fleischhund I.	11951,5	4426,50	7527,02	1130,96	62,48	9,46	25,55	10 820,54	69,56
B	Reishund II . .	6792,0	3226,88	3565,12	1606,06	52,49	23,65	49,77	5 340,81	66,55
	Fleischhund II	7736,0	3211,76	4524,24	1265,17	58,48	16,35	39,89	6 470,83	71,55

Stab 5 der Tabelle zeigt, wieviel Gew.-T.¹⁾ Wasser auf 100 Gew.-T. der untersuchten Organe kommen, und aus den Stäben 6 und 7 ist ersichtlich, wieviel Gew.-T. Fett auf 100 Gew.-T. der untersuchten Organe — im frischen Zustande und in der Trbst. — entfallen. Die Zahlenreihen der Stäbe 5 und 6 zeigen schon deutlich, wie der höhere W.-Geh. dem niedrigeren Fettgeh. der Organe entspricht und umgekehrt. Weiter zeigen die Stäbe 6 und 7, daß die Gruppe B einen bedeutend höheren Gesamt-Fettgeh. besitzt als Gruppe A. Dieser Beobachtung entspricht auch wieder in Kolonne 5 der höhere W.-Geh. der Gruppe A gegenüber B. Die Differenz im Fettgeh. ist zwischen den beiden Gruppen eine bedeutend höhere als innerhalb jeder Gruppe; die jungen Hunde haben einen größeren Teil der dargebotenen Nährstoffe zum Ansatz von Fett ver-

¹⁾ Gewichtsteile = Gew.-T.

wendet — soweit das Fett nicht vor der Versuchsfütterung vorhanden war — als die ausgewachsenen Hunde. Sicher ist, daß die Reishunde mehr Fett ansetzen konnten als die Fleischhunde.

Nach Abzug der absoluten Fettmenge vom Gesamtgewicht der untersuchten Organe bleibt die Menge der fettfreien, frischen Substanz, cf. Stab 8. Der prozentische Anteil des Wassers an der fettfr. frischen Substanz ist in Stab 9 angegeben. Es sind — wie daraus ersichtlich — zwischen den Gruppen A und B keine charakteristischen Unterschiede vorhanden; zu bemerken ist aber auch hier, daß der W.-Geh. der Organe insofern zu der Ernährungsweise der Hunde in Beziehung zu stehen scheint, als er bei den Pt.-reich gefütterten Tieren höher ist als bei den Reishunden. Die Differenz zwischen Fleischhund und Reishund ist in der Gruppe B größer als in der Gruppe A.

b) Gehalt an N-haltiger Substanz bei den 4 Versuchstieren.

Von besonderem Interesse ist es ferner, das Verhalten der N-halt. Sbst. im Tierkörper zu verfolgen.

Zu diesem Zwecke wurde der prozentische Gehalt der untersuchten Organe an N-halt. Sbst. und der prozentische Gehalt der N-halt. Sbst. an N und C berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle XIV zusammengestellt.

Tabelle XIV.

Gruppe	Versuchstier	1	2	3	4	5	6
		100 Gew.-T. der untersuchten Organe enthalten an					
		Trocken-Substanz %	Wasser %	Fett %	N-halt. Rest		
					Gesamt-Menge in d. fr. Sbst. %	von 100 Gew.-T. N-halt. Rest sind	
				N %	C %		
A {	Reishund I . .	40,00	60,00	11,80	21,25	15,331	49,985
	Fleischhund I .	37,02	62,98	9,46	21,77	15,800	51,522
B {	Reishund II . .	47,51	52,49	21,36	20,47	15,462	51,717
	Fleischhund . .	41,52	58,48	16,35	20,23	15,535	51,299

Es ergibt sich aus der Berechnung: Der Anteil der N-halt. Sbst. an der Zusammensetzung der Organe ist in der Gruppe A höher als in der Gruppe B, dabei ist in Gruppe A der W.-Geh. höher, der Fettgeh. aber bedeutend niedriger als in Gruppe B. Der Gehalt an N-halt. Sbst. und an Wasser gehen also parallel. In Gruppe B nimmt das Fett einen so großen Prozentsatz der Trsbst. in Anspruch, daß dadurch der Gehalt an N-halt. Sbst. unter denjenigen der Gruppe A heruntergedrückt wird, obgleich diese (letztere) einen niedrigeren Trsbst.-Geh. besitzt (s. a. Tabelle XV).

In der Gruppe A ist dieselbe Beziehung zwischen N-halt. Sbst. und W.-Geh. zu sehen. Mit der N-halt. Sbst. steigt die Menge des Wassers in der Gesamtmasse der Organe.

In der Gruppe B ist das nicht der Fall, sondern die Menge der N-halt. Sbst. nimmt etwas ab, während der W.-Geh. sich vermehrt. Die Differenz ist in beiden Gruppen gering. Sie beträgt in Gruppe A $+0,52\%$ zugunsten von Fleischhund I, in Gruppe B $-0,24\%$ zuungunsten von Fleischhund II.

Der teilweise große und bei den 4 Hunden stark schwankende Fettgeh. der Organe stört den Vergleich zwischen W.-Geh. und N-halt. Sbst. Um dem zu begegnen, wurde das Fett in Abzug gebracht und nunmehr der Gehalt der fettfreien, frischen Sbst. an Wasser und an N-halt. Sbst. festgestellt wie folgt:

Tabelle XV.

Gruppe	Versuchstier	Frischgewicht der untersuchten Organe, abzügl. Fett		
		Absolutes Gewicht g	in 100Gew.-T. ist ent- halt. an N-halt. Rest %	in 100 Gew.-T. ist enthalt. an Wasser %
A	Reishund I . .	12 353,68	24,10	68,03
	Fleischhund I .	10 820,54	24,05	69,56
B	Reishund II . .	5340,81	26,03	66,55
	Fleischhund II	6470,83	24,18	71,55

Hiernach erscheint die Zusammensetzung der Tierkörper weniger schwankend in der Gruppe A; hier beträgt die Differenz im der N-halt. Sbst. nur $0,05\%$, im W.-Geh. $1,53\%$. Gruppe B weist größere Unterschiede auf, nämlich $1,85\%$ in der N-halt. Sbst. und $5,00\%$ im W.-Geh.; dies ist durch den hohen W.-Geh. von Fleischhund II bedingt.

c) Verteilung der N-haltigen Substanz auf die Einzelorgane in Prozenten der Gesamtmenge; Verteilung ihres N- und C-Gehalts. Berechnung der mittleren Verhältnisse von N:C in den ganzen Tierkörpern.

Möglicherweise könnte die Verteilung der N-halt. Sbst. im Tierkörper von Einfluß auf das Resultat dieser Untersuchungen sein, so daß vielleicht noch ein anderer Einblick in die Wirkung der Ernährungsweise auf die stoffliche Zusammensetzung des Tierkörpers zu gewinnen ist, wenn der Verbleib der N-halt. Sbst. sowie des N und C in den einzelnen Organen geprüft wird.

In Tabelle XVI ist der prozentuale Anteil der einzelnen untersuchten Organe an der Gesamtmenge der N-halt. Sbst. berechnet.

Tabelle XVI.

Von 100 Gewichtsteilen der N-haltigen Substanz im Tierkörper entfallen auf die genannten Organe:

Organe	R I	F I	R II	F II
Muskeln . . .	48,78	50,00	39,76	47,56
Knochen . . .	18,74	18,28	16,02	17,73
Haut	18,08	10,23	26,01	17,84
Blut	6,34	12,94	7,42	6,74
Leber	2,61	3,14	3,06	3,56
Milz	0,24	0,31	0,20	0,21
Niere	0,42	0,42	0,36	0,49
Magen — Darm	3,09	2,92	4,34	4,06
Herz — Lunge .	1,70	1,75	2,83	1,82

Tabelle XVII zeigt die prozentuale Verteilung des gesamten N auf die einzelnen Organe.

Tabelle XVII.

Von 100 Gewichtsteilen des N in der N-haltigen Substanz entfallen auf die genannten Organe:

Organe	R I	F I	R II	F II
Muskulatur . .	47,57	48,64	38,85	47,25
Knochen	17,96	16,94	16,02	16,69
Haut	20,48	10,89	28,37	20,44
Blut	6,20	15,71	7,28	6,53
Herz — Lunge .	1,67	1,51	2,48	1,69
Leber	2,38	2,98	2,64	3,08
Milz	0,24	0,28	0,21	0,20
Niere	0,41	0,40	0,41	0,48
Magen — Darm	3,10	2,64	3,74	3,64

Aus Tabelle XVIII ist die Verteilung des C in der N-haltigen Substanz auf die Organe ersichtlich.

Tabelle XVIII.

Von 100 Gewichtsteilen C in der N-haltigen Substanz entfallen auf die genannten Organe:

Organe	R I	F I	R II	F II
Muskulatur . . .	49,24	49,74	39,59	47,63
Knochen	17,72	17,58	15,12	16,83
Haut	17,44	9,89	25,06	17,43
Blut	7,17	13,86	8,07	7,68
Herz — Lunge .	1,87	2,08	2,97	2,09
Leber	2,79	3,18	2,97	3,71
Milz	0,25	0,32	0,21	0,21
Niere	0,44	0,43	0,36	0,47
Magen — Darm	3,08	2,92	5,65	3,95

Tabelle XVI zeigt, daß die N-halt. Sbst. sich in überwiegender Menge auf Muskulatur, Knochen und Haut verteilt.

Diese Organe weisen dabei allerdings ganz beträchtliche Gehaltsunterschiede zwischen den vier Versuchstieren auf. Die Knochen besitzen noch den gleichmäßigsten Gehalt an N-halt. Sbst. Dagegen sind sehr große Differenzen bei Muskulatur und Haut wahrnehmbar.

Auf Blut, Herz und Lunge, Magen und Darm kommt ein bedeutend geringerer prozentualer Anteil an N-halt. Sbst., wobei allerdings auch noch größere Unterschiede zwischen den Organen bestehen.

Von den drüsigen Organen — Leber, Milz und Niere — hat die Leber den größten Anteil an N-halt. Sbst., der nicht sehr zwischen den vier Versuchstieren schwankt.

Die Fleischhunde haben in diesen Organen einen höheren prozentualen Gehalt als die Reishunde.

Aus den Tabellen XVII und XVIII ist zu erkennen, daß die in der Masse überwiegenden Organe (Muskeln, Haut und Knochen) die weitaus größere Menge des N bzw. C in sich bergen. Unter den drüsigen Organen kommt auch der Leber der Hauptanteil an N und C zu. — Die Verschiedenheiten der Organe in ihrem Gehalt an N bzw. C entsprechen, wie leicht verständlich, den Veränderungen des Gehaltes an N-halt. Sbst.

Die bevorzugte Verteilung der N-halt. Sbst., des N und des C auf einige Organe kommt noch stärker in nachstehender Tabelle XIX zum Ausdruck.

Tabelle XIX.

Organe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Reishund I			Fleischhund I			Reishund II			Fleischhund II		
	Verteilung von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des N von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des C von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des N von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des C von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des N von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des C von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des N von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes	Verteilung des C von 100 Gew.-T. N.-halt. Restes
Muskulatur . . .	48,78	7,293	24,615	50,00	7,685	25,626	39,76	6,007	20,472	47,56	7,343	24,435
Knochen . . .	18,74	2,753	8,856	18,28	2,676	9,055	16,02	2,477	7,822	17,73	2,593	8,631
Haut . . .	18,08	3,139	8,734	10,23	1,721	5,097	26,01	4,387	12,961	17,84	3,177	8,943
Blut . . .	6,34	0,951	3,586	12,94	2,482	7,143	7,42	1,125	4,176	6,74	1,014	3,940
Herz-Lunge . . .	1,70	0,256	0,937	1,75	0,238	1,072	2,83	0,383	1,536	1,82	0,262	1,071
Leber . . .	2,61	0,364	1,374	3,14	0,471	1,639	3,06	0,408	1,536	3,58	0,479	1,902
Milz . . .	0,24	0,036	0,124	0,31	0,045	0,164	0,20	0,032	0,107	0,21	0,031	0,108
Niere . . .	0,42	0,063	0,218	0,42	0,064	0,220	0,36	0,063	0,185	0,49	0,075	0,242
Magen-Darm . . .	3,09	0,475	1,541	2,92	0,418	1,505	4,34	0,578	2,920	4,06	0,565	2,028
Summa	100,00	15,330	49,985	99,99	15,800	51,521	100,00	15,460	51,715	100,01	15,539	51,300

Tabelle XIX führt in den Stäben 1, 4, 7 und 10 zum Vergleich mit den Zahlen der anderen Stäbe nochmals die Verteilung der N-halt. Sbst. auf die Organe wie in Tabelle XVI.

Die Stäbe 2, 5, 8 und 11 bringen die Verteilung des N und die Stäbe 3, 6, 9 und 12 die Verteilung des C, der in nebenstehenden Mengen der N-halt. Sbst. enthalten ist, zum Ausdruck. In diesen letzteren Kolonnen zeigt sich deutlich der Unterschied in der Verteilung des N bzw. C auf die Muskulatur, Knochen, Haut und Haare, Blut und Leber einerseits — und die übrigen Organe (Milz, Niere, Herz und Lunge, sowie Magen und Darm) andererseits. — Die Schwankungen bewegen sich auch hier natürlich ganz den Veränderungen im Gehalt an N-halt. Sbst. entsprechend.

Aus der Summazeile am Ende der Tabelle XIX kann das N:C-Verhältnis in der N-halt. Sbst. berechnet werden. Die Endzahlen der Kolonnen 2 und 3, 5 und 6, 8 und 9, 11 und 12

sind dieselben wie die Zahlen der Tabelle XIV, Kolonnen 5 und 6.¹⁾

Sie geben an, wieviel Gew.-T. N bzw. C in 100 Gew.-T. der N-halt. Sbst. des ganzen Tieres enthalten sind.

Das N-C-Verhältnis in der N-halt. Sbst. des ganzen Tieres beträgt in:

Gruppe A

bei Reishund I = 1:3,261

„ Fleischhund I = 1:3,261

Gruppe B

bei Reishund II = 1:3,345

„ Fleischhund II = 1:3,302

Demnach haben die ausgewachsenen Hunde ein engeres N-C-Verhältnis als die jungen wachsenden Hunde in der N-halt. Sbst.

Für die Pt-arm ernährten Hunde sind die Verhältnisse 1:3,261 und 1:3,345, i. M. also 1:3,303 gefunden worden.

Bei den Fleischhunden stehen N und C der N-halt. Sbst. in den Verhältnissen 1:3,261 und 1:3,302, woraus sich ein mittleres Verhältnis von 1:3,2815 berechnen läßt.

Das N-C-Verhältnis ist also bei den Pt-reich gefütterten Fleischhunden ein engeres als bei den Pt-arm ernährten Reishunden.

d) Anreicherung an N-haltiger Substanz in Muskeln und Leber durch proteinreiche Ernährung.

Es ist vielleicht nicht uninteressant, zu prüfen, in welchem Grade eine Anreicherung an N-halt. Sbst. in Muskulatur und Leber bei beiden Fleischhunden etwa stattgefunden hat; die Leber mag hier mit in Betracht gezogen sein, da sie, wie einleitend bemerkt wurde, auch dazu dienen soll, retinierten N aufzunehmen.

In Tabelle XX ist der prozentische Anteil der N-halt. Sbst. an der „Tr.-Sbst. minus Fett“ berechnet. (Die Schwan-

¹⁾ Die Zahlen der Tabelle XIX sind nicht aus den Angaben der Tabelle XIV, Kol. 5 u. 6, hervorgegangen, vielmehr wurden sie auf Grund der Tabellen IX bis XII bzw. XVI bis XVIII berechnet; deshalb stimmen auch die Endsummen nicht ganz genau mit Tabelle XIV überein, vielmehr haben sich kleine Differenzen in der dritten Dezimalstelle gebildet.

Tabelle XX.

Organe	Reishund I				Fleischhund I				Reishund II				Fleischhund II			
	Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse		Wasser-, fettfreie Masse	
	ihr Gesamtgewicht	proz. Anteil der N-halt. Sbst.	Ge-samt-gewicht der N-halt. Sbst.	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Muskulatur	1650,18	88,00	1452,25	1379,26	1301,18	94,34	594,03	552,73	93,046	790,48	744,19	94,145	744,19	744,19	94,145	94,145
Leber	119,501	64,943	77,61	92,819	81,77	88,094	64,486	42,50	65,906	61,352	55,73	90,837	55,73	55,73	90,837	90,837

kungen im Fett- und Wassergehalt der Organe sind schon oben konstatiert worden; um Vergleiche besser anstellen zu können, sind diese Substanzen deshalb hier und in der nächsten Tabelle ausgeschaltet.)

Diese eventuelle Anreicherung müßte natürlich umgekehrt den früher mitgeteilten Zahlen für Asche und Glykogen parallel gehen; die Befunde bestätigen die Annahme für den Glykogenehalt, nicht aber für den Aschegehalt.

Bezüglich der Muskulatur ergibt sich aus Tabelle XX, daß die beiden Fleischhunde hierin mehr N-halt. Sbst. ansammelten als die Reishunde, ferner, daß Reishund II mehr N-halt. Sbst. angesammelt hat als Reishund I; Fleischhund II enthält dagegen 0,195% N-halt. Sbst. weniger als Fleischhund I.

Auch in der Leber haben die Fleischhunde mehr N-halt. Sbst. angesammelt als die Reishunde; ferner besitzt Reishund II gegenüber Reishund I und Fleischhund II gegenüber Fleischhund I höheren prozentualen Gehalt an N-halt. Sbst.

Fleischhund I hat also nicht nur pro 100 g Muskeln 0,3648 g N retiniert, sondern auch noch dem prozentualen Gehalt an N-halt. Sbst. gegenüber Reishund I beträchtlich vermehrt.

Fleischhund II dagegen konnte nur in der Muskulatur pro 100 g 0,349 g pro N retinieren und zugleich den prozentualen Gehalt an N-halt. Sbst. um ein Geringes vermehren.

Das N-C-Verhältnis ist in der Leber des Fleischhundes I enger als in der des Reishundes I. Da derselbe Vorgang bei Fleischhund II und Reishund II nicht beobachtet wurde, (sfr. Tab. VIII, S. 253) so mag die Leber von dieser Betrachtung überhaupt ausgeschlossen bleiben.

e) Anreicherung an fettfreier Fleisch-Trockensubstanz.

Da der N der Nahrung nicht nur zur Anreicherung der N-halt. Sbst. mit elementarem N, und zur Vermehrung der N-halt. Sbst. dienen kann, sondern auch zur Vermehrung der Masse der Muskulatur, so ist in Tabelle XXI die Anreicherung von fettfreier Muskel-Trockenmasse berechnet worden.

Tabelle XXI.

Versuchstier	Wasser-, fettfreie Masse der untersuchten Organe g	Wasser-, fettfreie Masse der Muskulatur	
		ihr Gesamtgewicht g	ihr prozent. Anteil an der Wasser-, fettfreien Masse der untersuchten Organe %
Reishund I	3949,80	1650,18	41,778
Fleischhund I	3295,54	1379,26	41,851
Reishund II	1620,82	594,03	36,657
Fleischhund II	1946,59	790,48	40,608

Tabelle XXI zeigt, daß die Fleischhunde einen höheren Prozentsatz von wasser- und fettfreier Muskulatur besitzen als die Reishunde. Weiter ist zu ersehen, daß die Differenz in der Gruppe der wachsenden Hunde eine bedeutend größere, nämlich (40,608 minus 36,057) = 3,951 %, als bei den ausgewachsenen Hunden (41,851 minus 41,778) = 0,073 % ist. Die hier vorgelegten Unterschiede sind gering, beachtenswert höchstens bei den wachsenden Hunden.

Über eine Methode zum quantitativen Nachweis des Antipepsins im Serum.

Von

Y. Oguro aus Saga (Japan).

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 14. September 1909.)

Während man bereits über brauchbare Methoden verfügt, um die Antikörper des Trypsins und des Labs qualitativ nachzuweisen und besonders auch quantitativ zu bestimmen, ist man über den Antikörper des Pepsins weit weniger unterrichtet. Mehrere Autoren haben im Pferdeserum Antipepsin nachgewiesen. Jedoch scheint es sich im allgemeinen nur um sehr geringe Hemmungswirkungen gehandelt zu haben.

Von älteren Angaben sind Schnappauf¹⁾ und Hahn²⁾ zu erwähnen, in neuerer Zeit fand z. B. E. Zunz³⁾ das Serum nur wenig hemmend für das Pepsin. H. Sachs⁴⁾ erzielte bei der Gans durch wiederholte Pepsininjektionen einen deutlichen Antipepsingehalt des Serums, das er bei normalen Gänsen kaum antipeptisch wirksam fand. M. Jacoby⁵⁾ und J. Morgenroth⁶⁾ haben dann mit Pepsin beladene Fibrinflocken in Serum gebracht und erst nach Entfernung des Serums Säure zugefügt. Bei einer derartigen Anordnung kann man eine sehr deutliche Antipepsinwirkung des Serums feststellen, so daß beide Autoren einem ausgesprochenen Parallelismus zwischen Antipepsin und Antilab begegneten.⁷⁾

¹⁾ Dissertation, Rostock 1888.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1897.

³⁾ Bull. de l'academie Roy. de Medicine de Belg. 1905.

⁴⁾ Fortschritte der Medizin. 1902.

⁵⁾ Diese Zeitschr. 2, 3, 1906.

⁶⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1909, 758.

⁷⁾ J. Cantacuzène und C. Jonescu-Meihaiesti in Bukarest (Soc. de Biol. 1908, 273) haben ebenfalls in Bestätigung der Angaben von Jacoby die Bedeutung der neutralen Reaktion für das Zustandekommen der Antipepsinwirkung beobachtet.

Es ist anzunehmen, daß die schwankenden Angaben in der Methodik begründet sind. Die Resultate von Jacoby und Morgenroth weisen ja darauf hin, daß nur bei bestimmtem Vorgehen die vollkommene Antipepsinwirkung manifest wird. Besonders aber galt es, ein Verfahren auszuarbeiten, welches den wahren Antipepsinwert des Serums bequem und genau bestimmt. Ein solches Verfahren wird auch für die Pathologie Interesse gewinnen und vielleicht diagnostische und prognostische Aufschlüsse in Fällen gestatten, in denen die Bestimmung anderer Serumbestandteile versagt. Ich werde nunmehr über meine Versuche, die ich unter Leitung von Herrn Professor Jacoby ausgeführt habe, berichten.

Es schien zunächst notwendig, das Antipepsin auf das Pepsin vor Zufügung der Säure einwirken zu lassen, und es war zu versuchen, ob nicht ähnlich, wie bei der Einwirkung von Antitoxinen auf Toxine bei genügend langer und intensiver Reaktion das mit Antipepsin vorbehandelte Pepsin auch ohne Entfernung des Antipepsins in Gegenwart von Säure wirksam bleibt. Diese Fragestellung wurde durch folgenden Versuch geprüft.

Versuch 1.

0,5 ccm einer 0,1%igen Pepsinlösung (Grübler) werden mit 4,0 ccm einer fünffach verdünnten Menge (mit 0,85%iger Kochsalzlösung) Pferdeserum versetzt, und 30 Minuten lang in den Brutschrank gebracht. Danach werden 0,5 ccm einer $\frac{n}{10}$ -Salzsäure und ein kleines Stück (ca. bohngroß) von Carminfibrinflocken (Grübler) zugesetzt und wieder in den Brutschrank zur Digestion gebracht.

Als Kontrolle habe ich an Stelle des Serums 0,85%ige Kochsalzlösung benutzt.

Für diese Versuche habe ich aus dem Grunde Carminfibrinflocken benutzt, weil selbst ganz minimale Verdauung durch Rötung und Trübung der Flüssigkeit ganz leicht und genau beobachtet werden kann.

Tabelle I.

	Pepsin- lösung (1:1000) ccm	Pferde- serum (1:5) ccm	$\frac{1}{10}$ - Salz- säure ccm	Car- min- fibrin- flocken	Nach 10 Min.	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 6 Std.	Nach 10 Std.	Nach 20 Std.
a)	0,4	4,0	0,5	kl. Stück	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung	keine Rö- tung u. Trü- bung
	Pepsin- lösung	0,85 % Koch- salz	$\frac{1}{10}$ - Salz- säure	Carmin- fibrin- flocken	Nach 10 Min.	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 6 Std.	Nach 10 Std.	Nach 20 Std.
b)	0,4	4,0	0,5	kl. Stück	die Flüssig- keit deutlich rot u. trüb	mehr ge- trübt u. ge- rötet	starke Rö- tung u. Trü- bung	großer Teil von Car- min- fibrin- ver- daut	Fibrin- flocken fast voll- ständig ver- daut	keine Spur von Fi- brin- flock.	keine Spur von Fi- brin- flock.

Aus diesem Versuch kann man ersehen, daß während eines halbstündigen Aufenthaltes des Gemisches von Pepsin und Pferdeserum im Brutschrank das Pepsin durch die Einwirkung des Antipepsins im Serum inaktiviert wird, und daß nach dieser Vorbehandlung die Salzsäure nicht mehr die Demonstration der Antipepsinwirkung beeinträchtigt.

Ferner ist aus der Tabelle (Kontrolle b) ersichtlich, daß die benutzte Pepsin-Salzsäure durchaus imstande ist, die in Frage kommende Menge Fibrin vollkommen zu verdauen.

Daß die Vorbehandlung des Pepsins und Serums — halbstündiger Aufenthalt des Gemisches von Pepsin und Serum im Brutschrank ohne Säure — zur Darstellung der Antipepsinwirkung notwendig ist, kann man aus nachstehendem Versuch ersehen.

Versuch 2.

Pepsinlösung, Serum, Salzsäure und Carminfibrinflocken gleichzeitig zugesetzt.

Hier hat also die Gegenwart von Serum die Verdauung der Fibrinflocken nur eine kurze Dauer verzögert. Wahrscheinlich hindert die Gegenwart der Salzsäure die Antipepsinwirkung und schädigt das Antipepsin selbst, bevor es auf das Pepsin einwirken kann. Auf diese direkte Schädigung der Antikörper

(Antilab) durch die Säure hat bereits Morgenroth in seinem Vortrage hingewiesen.

Der nächste Versuch, bei dem nach der von Jacoby und Morgenroth gewählten Anordnung verfahren wurde, lehrt, daß nicht etwa die Fixierung des Pepsins an Fibrin bei Brutschranktemperatur seine Wirksamkeit herabsetzt.

Tabelle II.

	Pepsinlösung (1:1000) ccm	Pferdeserum (1:5) ccm	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure ccm	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 1 $\frac{1}{2}$ Std.	Nach 2 Std.	Nach 5 Std.
a)	0,4	4,0	0,5	kl. Stück	keine Rötung u. Trü- bung	nur bißchen rot	etwas rot und trüb	deutlich gerötet und getrübt	sehr starke Rötung u. Trübung. Fibrin- flocken meist verdaut
	Pepsinlösung (1:1000)	0,85% Kochsalz	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 1 $\frac{1}{2}$ Std.	Nach 2 Std.	Nach 5 Std.
b)	0,4	4,0	0,5	kl. Stück	etwas gerötet	ziemlich deutlich rot u. trüb	stark rot u. trüb, Fibrin- flocken etwas verdaut	etwas mehr fort- ge- schritten	Fibrin- flocken voll- ständig verdaut

Das Ferment wird auch bei dieser Methodik nur unwirksam, wenn es unter dem Einfluß des Serums steht. Versuche, wie Versuch 3, bei denen das Serum nach Erfüllung seiner Leistung vor Beginn der Fermentwirkung entfernt wird, beseitigen auch den Einwand, daß die Serumwirkung nur dadurch zustande kommt, daß das Pepsin mehr Eiweiß als in der Kontrolle zu verdauen hat.

Versuch 3.

a) 1. Eintauchen von einem bohngroßen Stück der Carminfibrinflocken in ein Gemisch von 0,5 ccm einer 0,1%igen

Pepsinlösung + 4,0 ccm fünffach verdünnten Serums, welches 30 Minuten im Brutschrank gewesen war.

2. Carminfibrinflocken werden gut gewaschen.

3. Gewaschene Carminfibrinflocken + 2,0 ccm einer 0,85%igen Kochsalzlösung + 0,5 ccm einer $\frac{2}{10}$ -Salzsäure. In den Brutschrank gebracht. Nach mehrstündigem, ja sogar nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank tritt keine Rötung und Trübung der Flüssigkeit, d. h. keine Verdauung ein.

b) Kontrolle. 1. Eintauchen von einem bohngroßen Stück der Carminfibrinflocken in ein Gemisch von 0,5 ccm einer 0,1%igen Pepsinlösung + 4,0 ccm einer 0,85%igen Kochsalzlösung; darauf Aufenthalt von 30 Minuten im Brutschrank.

2. Carminfibrinflocken werden gut gewaschen.

3. Diese Carminfibrinflocken + 2,0 ccm einer 0,85%igen Kochsalzlösung + 0,5 ccm einer $\frac{2}{10}$ -Salzsäure werden in den Brutschrank gebracht.

Nach 30 Minuten tritt schon eine deutliche Rötung und Trübung der Flüssigkeit und nach 2 Stunden eine vollständige Verdauung ein.

Endlich muß man den Einwand ausschließen, daß etwa die gebrauchten Carminfibrinflocken sich gegen Pferdeserum eigentümlich verhalten; deshalb habe ich statt Carminfibrinflocken 2,0 ccm von 0,2%iger Ricinlösung und 2,0 ccm von 5%iger Gelatine-lösung angewendet. Bei ersterer tritt keine Aufhellung, bei letzterer auch keine Verflüssigung ein. Also kann ich mit Sicherheit konstatieren, daß das Pferdeserum im allgemeinen gegen peptische Eiweißverdauung stark hemmend wirkt.

Die so ermittelten Beziehungen zwischen Serum und Pepsin benutzte ich zur Grenzbestimmung des Antipepsins im Serum.

Versuch 4.

Eine Reihe von Reagensgläsern wurden mit 0,4 ccm von 0,1%iger Pepsinlösung und einer aufsteigenden Menge (von 0,1 bis 1,0 ccm) von zehnfach verdünntem Pferdeserum versetzt und mit 0,85%iger Kochsalzlösung auf 2,4 ccm aufgefüllt und dann 30 Minuten lang in den Brutofen gebracht. Danach wurden jedem Gläsern bohngroße Carminfibrinflocken und 0,5 ccm $\frac{2}{10}$ -Salzsäure zugesetzt und wieder in den Brutofen gebracht.

Tabelle III.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Pferdeserum (1:10) ccm	0,85%ige Kochsalzlösg. ccm	$\frac{2}{10}$ -Salzsäure ccm	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich rot und trüb	Fibrinflocken meistenteils verdaut	Verdauung noch mehr fortgeschritt.	Fibrinflocken vollständig verdaut
"	0,1	1,9	"		keine Rötung	bischen rot und trüb	ziemlich rot u. mäßig trüb	deutlich rot und trüb
"	0,2	1,8	"		"	keine Rötung und Trübung	"	"
"	0,3	1,7	"		"	"	keine Rötung und Trübung	"
"	0,4	1,6	"		"	"	"	etwas rot
"	0,5	1,5	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,6	1,4	"		"	"	"	"
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"		"	"	"	"

Versuch mit 10fach verdünntem Kaninchenserum.

Tabelle IV.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Kaninchen- serum (1:10) ccm	0,85%ige Kochsalzlösg. ccm	$\frac{2}{10}$ -Salzsäure ccm	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich rot, etwas trüb	stark rot und trüb meistenteils verdaut	mehr fortgeschritten	vollständig verdaut
"	0,1	1,9	"		"	"	"	"
"	0,2	1,8	"		"	"	"	"
"	0,3	1,7	"		keine Rötung	mäßig rot und trüb	"	stark rot und trüb
"	0,4	1,6	"		"	schwach rot	"	"
"	0,5	1,5	"		"	keine Rötung	etwas rot und trüb	"
"	0,6	1,4	"		"	"	"	deutlich rot und trüb
"	0,7	1,3	"		"	"	keine Rötung	Spur Rötung
"	0,8	1,2	"		"	"	"	keine Rötung
"	1,0	1,0	"		"	"	"	"

Versuch mit 10fach verdünntem Menschenserum (Kl. Diagn.: Epileptiforme Krämpfe).

Tabelle V.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Serum (1:100) ccm	0,85%ige Kochsalzlösg. ccm	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure ccm	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich rot und trüb	mehr rot und trüb	noch mehr fortgeschritten	vollständig verdaut
"	0,1	1,9	"		"	"	"	meistenteils verdaut
"	0,2	1,8	"		etwas rot und trüb	"	"	"
"	0,3	1,7	"		keine Rötung	schwach rot, mäßig trüb	deutlich rot und trüb	sehr deutlich rot und trüb
"	0,4	1,6	"		"	bißchen rot	schwach rot	"
"	0,5	1,5	"		"	keine Rötung	keine Rötung	etwas rot und trüb
"	0,6	1,4	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"	"	"	"	"	

Versuch mit 10fach verdünntem Serum vom Nephritiker.

Tabelle VI.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Serum (1:10) ccm	0,85%ige Kochsalzlösg. ccm	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure ccm	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich ge- rötet und ge- trübt	mehr rot und trüb	fast vollstän- dig verdaut	Fibrinflocken spurlos ver- daut
"	0,1	1,9	"		ziemlich rot	deutlich rot und trüb	deutlich rot und trüb	mäßig ver- daut
"	0,2	1,8	"		keine Rötung	etwas rot	"	"
"	0,3	1,7	"		"	keine Rötung	etwas rot	mäßig rot und trüb
"	0,4	1,6	"		"	"	"	"
"	0,5	1,5	"		"	"	keine Rötung	etwas rot und trüb
"	0,6	1,4	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"	"	"	"	"	

Versuch mit 10fach verdünntem Serum vom Urämiker.

Tabelle VII.

Pepsinlösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalzlg.	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure	Carmin- fibrinflocken	Nach	Nach	Nach	Nach
					30 Min.	1 Std.	2 Std.	4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutl. gerötet, Fibrin etwas verdaut	Verdauung mehr fort- geschritten	Fibrinfl. mel- stentells verd.	Fibrinfl. spur- los ver- schwunden
"	0,1	1,9	"		keine Rötung	etwas rot	zieml. deutlich rot u. trüb	deutlich rot und trüb
"	0,2	1,8	"		"	keine Rötung	"	"
"	0,3	1,7	"		"	"	bisßen rot und trüb	"
"	0,4	1,6	"		"	"	"	etwas rot
"	0,5	1,5	"		"	"	keine Rötung	Spur Rötung
"	0,6	1,4	"		"	"	"	"
"	0,7	1,3	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"	"	"	"	"	

Versuch mit 10fach verdünntem Serum vom Uteruscarcinom.

Tabelle VIII.

Pepsinlösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalzlg.	$\frac{1}{10}$ -Salzsäure	Carmin- fibrinflocken	Nach	Nach	Nach	Nach
					30 Min.	1 Std.	2 Std.	4 Std.
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	stark rot, deutlich trüb	Fibrinfl. meistentells verdaut	mehr verdaut	vollständig verdaut
"	0,1	1,9	"		keine Rötung	etwas rot und trüb	zieml. deutlich rot und trüb	stark rot und trüb, etwas verdaut
"	0,2	1,8	"		"	keine Rötung	etwas rot	mäßig getrübt und gerötet
"	0,3	1,7	"		"	"	keine Rötung	Spur Rötung und Trübung
"	0,4	1,6	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,5	1,5	"		"	"	"	"
"	0,6	1,4	"		"	"	"	"
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"	"	"	"	"	

Versuch mit 10fach verdünntem Serum vom Carc. Sigmoideae.

Tabelle IX.

Pepsinlösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalzlg.	$\frac{n}{10}$ -Salzsäure	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	
ccm	ccm	ccm	ccm						
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich rot und trüb	stark rot, mäßig verdaut	mehr verdaut	Fibrinfl. spur- los verdaut	
"	0,1	1,9	"		mäßig rot	"	"	"	meist verdaut
"	0,2	1,8	"		"	deutlich rot und trüb	"	"	"
"	0,3	1,7	"		keine Rötung	etwas rot	deutlich rot und trüb	"	"
"	0,4	1,6	"		"	keine Rötung	"	sehr stark rot und trüb	"
"	0,5	1,5	"		"	"	Spur Trübung	etwas rot und trüb	"
"	0,6	1,4	"		"	"	keine Rötung	keine Rötung	"
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"	"
"	1,0	1,0	"		"	"	"	"	"

Versuch mit 10fach verdünntem Serum vom Magencarcinom.

Tabelle X.

Pepsinlösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalzlg.	$\frac{n}{10}$ -Salzsäure	Carmin- fibrinflocken	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
ccm	ccm	ccm	ccm					
0,4	0	2,0	0,5	ca. bohnen- groß	deutlich rot und trüb	Fibrinfl. mäßig verdaut	meist verdaut	vollständig verdaut
"	0,1	1,9	"		ziemlich rot und trüb	deutlich rot und trüb	zieml. verdaut	fast vollstän- dig verdaut
"	0,2	1,8	"		"	"	"	"
"	0,3	1,7	"		keine Rötung	etwas rot	deutlich rot	"
"	0,4	1,6	"		"	keine Rötung	bißchen rot	etwas rot und trüb
"	0,5	1,5	"		"	"	keine Rötung	"
"	0,6	1,4	"		"	"	"	keine Rötung
"	0,7	1,3	"		"	"	"	"
"	0,8	1,2	"		"	"	"	"
"	0,9	1,1	"		"	"	"	"
"	1,0	1,0	"		"	"	"	"

Statt Carminfibrinflocken habe ich entsprechende Versuche mit Ricin und Gelatine gemacht und kam hierbei zu gleichem Er-

folge. Hier möchte ich nur beispielsweise die Versuche mit dem Serum vom Magencarcinom bringen.

Tabelle XI. Ricinprobe.

Pepsinlösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalzlg.	ⁿ / ₁₀ -Salzsäure	Ricinlösung (1:500)	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm				
0,4	0	1,0	0,5	2,0	klar	klar	klar	klar
"	0,1	0,9	"	"	"	"	"	"
"	0,2	0,8	"	"	fast klar	"	"	"
"	0,3	0,7	"	"	Spur Trüb.	fast klar	"	"
"	0,4	0,6	"	"	deutl. getrübt	mäßig getrübt	bissh. getrübt	"
"	0,5	0,5	"	"	"	"	getrübt	etwas trüb
"	0,6	0,4	"	"	"	"	"	getrübt
"	0,7	0,3	"	"	"	"	"	"
"	0,8	0,2	"	"	"	"	"	"
"	0,9	0,1	"	"	"	"	"	"
"	1,0	0	"	"	"	"	"	"

Tabelle XII. Gelatineprobe mit dem Serum vom Urämiker.

Pepsin- lösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalz- lösung	ⁿ / ₁₀ -Salz- säure	5%ige Gelatine- lösung	Resultate nach dem Aufenthalt zuerst 6 Std. im Brutfen und dann 20 Std. im Eisschrank
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	
0,4	0	1,0	0,5	2,0	flüssig
"	0,1	0,9	"	"	"
"	0,2	0,8	"	"	halbflüssig
"	0,3	0,7	"	"	weich geronnen
"	0,4	0,6	"	"	"
"	0,5	0,5	"	"	"
"	0,6	0,4	"	"	"
"	0,7	0,3	"	"	fest geronnen
"	0,8	0,2	"	"	"
"	0,9	0,1	"	"	"
"	1,0	0	"	"	"

Wenn Carminfibrin resp. Ricin, resp. Gelatine, Serum, Pepsin und Salzsäure gleichzeitig zugesetzt werden, so bemerkt man eine etwaige Verzögerung der Verdauung, aber schließlich tritt eine Verdauung nach einigen Stunden ein, wie folgende Tabelle zeigt. Man erhält also mit dem neuen Verfahren viel größere Ausschläge als mit den früheren Methoden. Es wird sich daher auch empfehlen, die Immunisierungsversuche mit

Pepsin, die durch H. Sachs angebahnt sind, wieder aufzunehmen. Denn es ist möglich, daß man heute viel bessere Erfolge erzielt.

Versuch mit dem Serum vom Urämiker.

Tabelle XIII.

Pepsin- lösung (1:1000)	Serum (1:10)	0,85%ige Kochsalz- lösung	$\frac{n}{10}$ - Salz- säure	Ricin- lösung (1:500)	Nach 30 Min.	Nach 1 Stunde	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm				
0,4	0	1,0	0,5	2,0	klar	klar	klar	klar
0,4	0,1	0,9	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	0,2	0,8	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	0,3	0,7	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	0,4	0,6	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	0,5	0,5	0,5	2,0	fast klar	"	"	"
0,4	0,6	0,4	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	0,7	0,3	0,5	2,0	mäßig aufgehellt	Spur Trübung	"	"
0,4	0,8	0,2	0,5	2,0	"	schwach getrübt	bisphen trüb	fast klar
0,4	0,9	0,1	0,5	2,0	"	"	"	"
0,4	1,0	0	0,5	2,0	"	trüb	etwas trüb	Spur Trübung

Mit meiner eben beschriebenen ziemlich einfachen und leicht ausführbaren Methode kann ich also das Antipepsin im Serum des Menschen und der Tiere qualitativ sowie quantitativ sicher und fein nachweisen. Zugleich habe ich in Übereinstimmung mit Jacoby und Morgenroth bewiesen, daß das Antipepsin im Serum bei Anwendung eines zweckmäßigen Verfahrens nicht so unwesentlich ist, wie einige Autoren behaupten, sondern daß es sogar ziemlich bedeutend zu sein scheint.

Die vorliegenden Tabellen haben gezeigt, daß Antipepsin beim Pferdeserum etwas stärker als beim Kaninchenserum ist und daß dasselbe beim Menschen, und zwar beim erkrankten, in den von uns untersuchten Fällen im großen und ganzen beinahe konstant zu sein scheint.

Bisher bin ich nicht imstande, vorauszusehen, ob eine bemerkenswerte Vermehrung oder Verminderung des Antipepsins bei verschiedenen besonderen Erkrankungen eintritt, oder ob es immer gleichwertig bleibt, wie es bei einigen meiner Untersuchungen der Fall ist. Erst nach zahlreichen, eingehenden und statisti-

sehen Untersuchungen wird man vielleicht ein interessantes, wichtiges Resultat erreichen.

Der Zweck dieser Arbeit war, zu zeigen, wie man einfach und sicher Antipepsin im Serum nachweisen kann. Die Untersuchung einiger Krankheitsfälle sollte nur als Beispiel dienen. Ich hoffe, später nach noch eingehenderen Forschungen bei verschiedenen Krankheitsfällen, besonders bei Magenleiden, namentlich Magenkrebs, Gelegenheit zu haben, über das Verhalten des Serum-Antipepsins zu berichten.

Was nun die Auswahl der Methoden — Carminfibrin-, Ricin- und Gelatineprobe — bei quantitativer Bestimmung anbetriift, so ziehe ich die Carminfibrinflocken- und die Ricinprobe vor, weil man bei ersterer die scharfe Grenze des Verdauungsvorganges ganz exakt und genau abmessen, bei letzterer alles quantitativ genau ausführen kann, auch eine ziemlich feine Grenze erhält und die beiden Methoden ohne Umstände auszuführen sind. Die Gelatineprobe ist auch quantitativ und ziemlich leicht ausführbar. Sie gibt auch eine ziemlich scharfe Abgrenzung, aber sie ist etwas zeitraubender und etwas umständlicher.

Über die Wirkung des Pepsins bei niederen Temperaturen.

Von

Y. Oguro aus Saga (Japan).

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit
in Berlin.)

(Eingegangen am 14. September 1909.)

J. P. Pawlow und Parastschuk¹⁾ sowie M. Jacoby²⁾ haben festgestellt, daß bei 42 bis 44° eine parallele Abschwächung der Lab- und Pepsinwirkung eintritt, während bei 50 bis 51° sehr schnell beide Wirkungen aufgehoben werden. Ferner ist bekannt, daß die eigentliche Labwirkung bereits bei 8° erkennbar ist. Hierauf beruht ja die fast allgemein angewandte Morgenrothsche Methode der Labprüfung. Wenn nun auch natürlich schon bekannt ist, daß auch das Pepsin bei Temperaturen, welche unter der Brutschranktemperatur liegen, Wirkungen entfalten kann, so schien doch eine eingehendere Untersuchung dieser Seite der Frage in Hinblick auf die Beziehungen der Labwirkung und der Pepsinwirkung von Interesse. Für diese Versuche ist die Ricinmethode sehr geeignet, da Herr Professor Jacoby, auf dessen Anregung ich diese Untersuchung ausgeführt habe, sich schon früher davon überzeugt hat, daß man auf diese Weise direkt im Eisschrank die Pepsinwirkung erkennen kann.

Die Pepsinprüfungen wurden nach den im hiesigen Laboratorium ausgearbeiteten Vorschriften von Solms³⁾ durchgeführt; nur verwandte ich 0,2% ige anstatt 1% iger Ricinaufschwemmungen. Bei allen Versuchen wurde immer zunächst das Pepsin und alle Lösungen sowie die Versuchsgläser auf die betreffende Temperatur erwärmt oder abgekühlt und dann nach dem Zusammenmischen während der Versuchsdauer bei der Temperatur erhalten. Z. B. wurden für die Versuche bei 0° die einzelnen Lösungen und Reagensgläser zunächst 15 Minuten in Eiswasser getaucht, die Lösungen schnell mittels Pipetten in die vorgekühlten Reagensgläser eingegossen und während der ganzen Versuchsdauer in Eiswasser auf 0° gehalten.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 1904.

²⁾ Diese Zeitschr. 1, 1906.

³⁾ Zeitschr. f. klin. Med. 64, 1907.

Stets wurden 2 ccm Ricin ($\frac{1}{500}$) und 0,5 ccm $\frac{n}{10}$ -Salzsäure benutzt und mit Wasser die gleiche Verdünnung und dasselbe Volumen (4,5 ccm) hergestellt. Um Raum zu ersparen, habe ich das in der Tabelle nicht besonders vermerkt. Versuche, welche nur in einer Tabelle geschildert werden, geben ein Beispiel von mehreren gleichsinnig ausgefallenen Versuchen wieder.

Tabelle I. Bei 38°.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Nach 5 Minuten	Nach 10 Minuten	Nach 20 Minuten	Nach 30 Minuten	Nach 50 Minuten
0	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	„	ein bißchen getrübt	Spur Trübung	Spur Trübung	fast klar
0,01	schwach getrübt	Spur Trübung	beinahe klar	fast klar	klar
0,2	„	beinahe klar	klar	klar	„
0,3	Spur Trübung	klar	„	„	„
0,4	„	„	„	„	„
0,5	fast klar	„	„	„	„
0,6	„	„	„	„	„
0,7	klar	„	„	„	„
0,8	„	„	„	„	„
0,9	„	„	„	„	„
1,0	„	„	„	„	„

Tabelle II. Bei 20 bis 21°.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Nach 5 Min.	Nach 15 Min.	Nach 25 Min.	Nach 30 Min.	Nach 50 Min.	Nach 1 Stunde
0	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	schwach getrübt	ein bißchen getrübt	nicht besonders fortgeschritten gegen 15 Min.	Spur Trübung	beinahe klar	beinahe klar
0,1	ein bißchen getrübt	beinahe klar		fast klar	klar	klar
0,2	„	„		„	„	„
0,3	Spur Trübung	„		„	„	„
0,4	beinahe klar	„		„	„	„
0,5	„	„		„	„	„
0,6	„	„		„	„	„
0,7	„	„		„	„	„
0,8	„	„		„	„	„
0,9	„	„		„	„	„
1,0	„	„	„	„	„	

Tabelle III. Bei 8°.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Nach 15 Min.	Nach 30 Min.	Nach 1 Stunde	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden
0	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	schwach getrübt	schwach getrübt	schwach getrübt	ein bißchen getrübt	ein bißchen getrübt
0,1	"	"	etwas getrübt	Spur Trüb.	Spur Trüb.
0,2	"	ein bißchen getrübt	ein bißchen getrübt	"	"
0,3	ein bißchen getrübt	"	"	klar	beinahe klar
0,4	"	Spur Trübung	fast klar	"	klar
0,5	"	"	"	"	"
0,6	beinahe klar	fast klar	"	"	"
0,7	"	"	"	"	"
0,8	"	"	"	"	"
0,9	"	"	"	"	"
1,0	"	"	"	"	"

Tabelle IV. Bei 5°.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Nach 5 Min.	Nach 10 Min.	Nach 20 Min.	Nach 30 Min.	Nach 45 Min.	Nach 1 Stunde	Nach 1 1/2 Std.	Nach 2 Stunden
0			getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05			"	"	schwach getrübt	schwach getrübt	etwas getrübt	ein bißchen getrübt
0,1			"	ein bißchen aufgehellt	"	"	ein bißchen getrübt	Spur Trübung
0,2	kein Unterschied	auch kein Unterschied	nur ein bißchen aufgehellt	"	deutlich aufgehellt	ein bißchen getrübt	Spur Trübung	beinahe klar

Tabelle V. Bei 0°.

Pepsinlösung (1:1000) ccm	Nach 1 Stunde	Nach 1 1/2 Std.	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Nach 8 Stunden	Nach 24 Std.
0		getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	kein Unterschied	nur ein bißchen aufgehellt	nichts besonders	etwas fortgeschritten	Spur Trübung	fast klar
0,1		"	"	"	fast klar	klar

Tabelle VI. Bei 0°.

Pepsin- lösung (1:1000) ccm	Nach 1 Stunde	Nach 1½ Std.	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Nach 8 Stunden	Nach 24 Std.
0	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	kein deut- licher Unter- schied	„	ein bißchen aufgehellt	schwach getrübt	nur etwas getrübt	beinahe klar
0,1		„	„	„	beinahe klar	klar

Tabelle VII. Bei 0°.

Pepsin- lösung (1:1000) ccm	Nach 1 Stunde	Nach 1½ Std.	Nach 2 Stunden	Nach 3 Stunden	Nach 8 Stunden	Nach 24 Std.
0	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt	getrübt
0,05	„	ein bißchen aufgehellt	ein bißchen aufgehellt	sehr deut- lich auf- gehellt	Spur Trü- bung	fast klar
0,1	„	„	„	„	„	„

Es findet also auch bei 8°, 5° und — was besonders bemerkenswert ist — auch bei 0° eine Ricinaufhellung statt, die man wohl ohne weiteres auf eine Pepsinwirkung beziehen darf. Daß bei niederer Temperatur die Wirkung langsamer eintritt, ist nicht verwunderlich. Die Feststellung der Wirkung bei Temperaturen von 8° und darunter ist zunächst für die Pepsin-Labfrage von Bedeutung. Aber auch abgesehen davon ist die Wirkung bei 0° eine interessante Tatsache. Möglicherweise beschränkt sich diese auffallende Unabhängigkeit des Zustandekommens der Pepsinwirkung von der Temperatur nur auf die Ricin- und ihr nahestehende Reaktionen. Die Erklärung hierfür würde nicht sehr schwer sein. Man müßte annehmen, daß die Veränderung der anderen Eiweißkörper an und für sich eine höhere Temperatur erfordert, so daß die katalytische Beschleunigung durch das peptische Ferment auch erst bei höheren Temperaturen deutlich werden kann. Im Gegensatz dazu würde bei der Ricin-Gruppe die Eiweißumbildung und daher auch die

fermentative Beeinflussung durch Pepsin schon bei sehr niederen Temperaturen möglich sein.

Erweist sich diese Auffassung bei weiteren Versuchen als berechtigt, so würde man zu dem Ergebnis gelangen, daß unter Umständen maßgebender ist, bei welcher Temperatur das Substrat sich umbilden kann, als bei welcher das Ferment die Wirkung katalytisch beeinflußt. Auf jeden Fall aber weisen die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, daß man diese beiden Faktoren stets getrennt betrachten muß.

Zur biologischen Wirkung der Salze.

II. Mitteilung.

Einfluß der Salze auf den Stoffwechsel und die Beziehung der Stoffwechselfvorgänge zu den klinischen Symptomen.

Von

Ernst Schloß.

(Aus dem Großen Friedrichs-Waisenhaus der Stadt Berlin, Rummelsburg.)

(Eingegangen am 21. September 1909.)

In der ersten Mitteilung¹⁾ wurde über einige Symptome — von denen die Störung des Wärmegleichgewichts das auffälligste war — berichtet, die beim Säugling durch die Darreichung bestimmter Salze hervorgerufen werden. Wenn dabei auch mancherlei widersprechende Resultate vorlagen, so konnte doch zwischen pharmakologischer Wirkung und Art der verwendeten Salze eine gesetzmäßige Beziehung statuiert werden, wonach die zweiwertigen zu den einwertigen — oder doch wenigstens die Ca-Verbindungen zu den Na- und K-Verbindungen in einem antagonistischen Gegensatz standen.

War schon diese Beziehung für den Einfluß auf die Körpertemperatur nicht in allen Fällen nachweisbar, — mußte doch z. B. für die K-Verbindungen eine Hilfshypothese aufgestellt werden, die sich aber späterhin vollauf bestätigte —, so fügten sich andere Symptome, so die durch die Salze hervorgerufenen, oft recht erheblichen Gewichtsschwankungen, diesem Rahmen nur sehr ungenau ein, so daß ihre Bedeutung nur erwähnt, aber noch keine Regel für das scheinbar widersprechende Verhalten gegeben werden konnte. Mit großer Wahrscheinlichkeit mußte sich diese bei den Stoffwechseluntersuchungen ergeben, die zur

¹⁾ Diese Zeitschr. 18, 15, 1909.

Klarlegung der durch die Salze hervorgerufenen Funktionsstörungen in Angriff genommen waren.

Über diese soll nun hier kurz berichtet werden; die ausführliche Darstellung erscheint demnächst.

Die Versuche sollten einmal ganz grob die Tatsache der Stoffwechselbeeinflussung zeigen, dann aber so gründlich wie nur möglich dem allmählichen Eintreten und Verschwinden dieser Vorgänge, die parallel mit den klinischen Erscheinungen verlaufen, nachspüren. Für erstere Absicht reichte die übliche Technik der Stoffwechseluntersuchungen (Zusammenfassung von größeren Zeitabschnitten) aus; für die letzteren, weit wichtigeren Zwecke mußte eine andere Methode eintreten — die Untersuchung des Stoffumsatzes in vierstündigen Perioden, ein Verfahren, dessen Berechtigung a. a. O. dargetan wird. Aus dieser Versuchsanordnung und der erforderlichen großen Anzahl der Versuche (zwölf im ganzen) ergab sich die Notwendigkeit, auf Gesamtstoffwechselversuche zu verzichten und sich mit der Ermittlung einzelner Komponenten zu begnügen. Es wurden also nur der Wasser-, Stickstoff- und Halogenumsatz bestimmt, was für die erste Orientierung völlig ausreichte.

Was nun die Ergebnisse meiner Versuche anlangt, so möchte ich zunächst betonen, daß sich die Vorgänge wohl kaum im organischen Stoffwechsel abspielen mögen und dieser nur sekundär von der Salzwirkung in Mitleidenschaft gezogen werden dürfte.

Für den N-Stoffwechsel ist dies in acht verschiedenen Fällen mit kleinen und großen Dosen aller in Betracht kommenden Salze wohl einwandfrei erwiesen. Weder wurde die Resorption gestört noch wurde die Retention in dem einen oder anderen Sinne beeinflusst; nur bei starker Wasserverhaltung war auch eine deutlichere Zurückhaltung von N durch die vierstündliche Untersuchung der Ausscheidung nachweisbar, und auch die glich sich sofort wieder aus. Besonders wichtig ist, daß auch für das Chlornatrium in sechs Fällen niemals eine direkte Einwirkung auf den N-Stoffwechsel konstatiert werden konnte.

Eine Bestimmung des Fett- und Kohlenhydratumsatzes ist, wie oben erwähnt, in meinen Versuchen nicht gemacht worden; trotzdem möchte ich eine Mitbeteiligung dieser Komponenten für wenig wahrscheinlich halten, da die Erscheinungen so schnell wieder schwanden und besonders die Gewichtsschwankungen sich sofort wieder ausglich. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Gewichtskurve in den Fällen, wo die Rückbildung der Erscheinungen abgewartet wurde, genau den aus der N-Retention erwarteten Verlauf nahm.

Demnach müssen wir die Hauptveränderungen im anorganischen Stoffwechsel erwarten, und da finden wir auch einige Unterlagen für die Verschiedenheit in der Wirkung der Salze, obwohl auch hier die Untersuchung nur fragmentarisch blieb.

In der Hauptsache waren meine Bemühungen darauf gerichtet, das Schicksal der eingeführten Salze zu erforschen. Als Maßstab hierfür diente mir das leichter bestimmbare Halogen, und wenn damit auch nur ein Faktor ermittelt wurde, so gestattet sein Verhalten doch wohl die Schlüsse zu ziehen, wie sie hier nun folgen. Die Resorptionsgeschwindigkeit konnte nicht direkt ermittelt werden, doch scheint die Verschiedenheit darin bei den verwendeten Salzen kaum wesentlich zu sein, da der Eintritt der Reaktion bei fast allen Salzen mit beinahe mathematischer Gleichmäßigkeit erfolgte. Auch die Resorptionsgröße scheint in wohl allen Fällen die gleiche gewesen zu sein, nämlich eine fast totale, wie aus meinen Analysen hervorgeht. Dagegen verläuft die Ausfuhr der Salze (resp. des einen Anteils) sehr verschieden schnell, und die Feststellung dieser Tatsachen ist wohl das wichtigste Ergebnis meiner Untersuchungen. Die Ausscheidung des Anions richtet sich danach ganz nach der Art des mit ihm verbundengewesenen Kations. Die Salze bilden somit, was die Geschwindigkeit der Ausscheidung angeht, eine Reihe, bei der NaCl und KCl die Endglieder sind; dazwischen gruppieren sich die anderen Salze ein. Beim NaCl beginnt die Ausscheidung langsam und erstreckt sich in geringer Höhe über längere Zeit, meist 1 bis 2 Tage, um dann langsam abzufallen; beim KCl haben wir sofort einsetzende stürmische Ausscheidung, die in kürzester Zeit alles eingeführte Salz heraus schafft. Das CaCl₂ nimmt eine Mittelstellung ein; hier setzt die Ausscheidung auch langsam ein, verläuft aber dann viel schneller als beim NaCl. Über die genaue Stellung der anderen Salze in der Reihe möchte ich nichts Sicheres sagen, da meine Ausscheidungskurven doch nicht zahlreich genug sind und von verschiedenen Individuen stammen. Denn auch hier spielen die individuellen Verhältnisse, besonders aber das Alter eine sehr wichtige Rolle. Alle diese Feststellungen gelten nur für den jüngeren Säugling, beim älteren Kind (jenseits des 3. Lebensmonats) verläuft, wie es scheint, die Ausscheidung aller Salze

viel schneller. Die leicht zersetzlichen Verbindungen (Carbonate, Acetate usw.) des Natriums halten, wie es scheint, Chlor zurück, während diese Verbindungen mit K und Ca dem Körper Chlor entziehen.¹⁾

Als interessanten Nebenbefund möchte ich noch erwähnen, daß in einzelnen Fällen das eingeführte Salz, besonders das NaCl, als Reiz dergestalt wirkte, daß nicht nur die eingeführte Menge, sondern auch noch ein Überschuß vom eigenen Körper abgegeben wurde, so daß eine geringe Demineralisation mit entsprechenden klinischen Symptomen auftrat; also analoge Vorgänge, wie sie in der Säuglingsdiätetik öfters beobachtet werden und auch in der allgemeinen Pathologie (Immunitätslehre) bekannt sind.

Die eben mitgeteilten Tatsachen der verschiedenen Salzausfuhr lassen schon a priori vermuten, daß wir hier auch den Grund für die Gewichtsschwankungen haben werden, da doch notwendigerweise eine starke Salzretention eine entsprechende Wasserretention und umgekehrt eine schnelle Salzausfuhr eine vermehrte Wasserabgabe zur Folge haben müsse. Und in der Tat finden wir einen gewissen Parallelismus dieser Vorgänge; aber sonderbarerweise nicht immer. In seltenen Fällen finden wir auch das Gegenteil, so plötzlich einsetzende starke Wasserausschwemmung, wenn das betreffende Salz schon fast völlig den Körper verlassen hat. Die Gewichts- resp. Wasserschwan- kungen bieten überhaupt recht komplizierte Verhältnisse dar, so daß es ziemlich schwer ist, Klarheit hinein zu bringen.

Sie kommen zum weitaus größten Teil durch Schwankungen der Urinsekretion, weniger durch Änderung der Perspiration zustande, und zwar scheint der Einfluß der letzteren bei der Retention noch ins Gewicht zu fallen, bei der vermehrten Ausfuhr aber eher im entgegengesetzten Sinne zu wirken, wie aus einem Versuche mit vierstündlicher Berechnung der Perspiration hervorgeht.

¹⁾ Hier ist Gelegenheit, einen sinnstörenden Druckfehler zu verbessern, der sich in der ersten Mitteilung bei Besprechung der Kaliumsalze eingeschlichen hat. Seite 19, Zeile 4 von unten muß es statt: „bestimmten Verbindungen“ — „weniger festen Verbindungen“ heißen, wodurch der ganze Satz seinen richtigen Sinn erhält.

Zur Ergänzung meiner Stoffwechselversuche, die zu wenig zahlreich sind, um die Beziehungen aller in Betracht kommenden Salze zum Wasserhaushalt zu ermitteln, mußte noch eine Methode zu Hilfe genommen werden, die in viel bequemerer Weise gestattet, diese Frage zu studieren; diese findet sich in den häufigen, hier stets vierstündlichen Wägungen direkt vor den in denselben regelmäßigen Zwischenräumen gereichten Mahlzeiten; — die täglichen Wägungen geben, besonders bei großen Dosen und bei Berücksichtigung der Ausfuhrverhältnisse in einzelnen Fällen, ebenfalls sichere Resultate, sind aber für unsere Zwecke zu ungenau.

Ausgehend von der Tatsache, daß 0,5 bis 0,75 g NaCl in allen Fällen beim jungen Säugling einen Gewichtsanstieg von 60 bis 120 g oder, was sicherer ist, eine Verschiebung des Gewichtsniveaus (das Mittel aus den sechs Wägungen) um mindestens 40 bis 100 g hervorrufen — eine Verschiebung, die bei knapper Nahrung absolut eindeutig ist —, wurden die verschiedenen Salze in knappster Dosierung bezüglich ihres Einflusses auf das Körpergewicht geprüft.

Das Resultat meiner zahlreichen Versuche über die Beeinflussung des Wasserstoffwechsels ist kurz folgendes:

Alle drei in Betracht kommenden Metalle machen Wasserretention. Von den Natriumverbindungen das Chlorid stets und am stärksten, das NaBr ähnlich, aber nicht so intensiv, das Jodid noch geringer; bei den beiden letzteren aber bei Gaben von 1,2 bis 1,5 g in einzelnen Fällen ganz einwandfreie Wirkungen.

Von den K-Verbindungen macht das Chlorid zunächst meist Wasserausschwemmung, dann aber deutliche Retention, so daß in vielen Fällen ein deutlicher Gewichtsanstieg resultiert, auch hier folgt das Bromid und dann wohl das Jodid.

Das CaCl₂ macht zunächst Retention, dann folgt bei größeren Dosen starke Wasserausfuhr.

Die Nicht-Halogen-Verbindungen dieser Metalle folgen zum Teil ihrer Gruppe, doch machen sich bei ihnen auch wohl andere, durch ihre erleichterten Umsetzungen hervorgerufene Wirkungen bemerkbar.

Bei größerer Dosierung tritt bei sämtlichen Verbindungen, mit Ausnahme des NaCl, früher oder später Gewichtsverlust resp. Wasserabgabe ein.

Dieses scheinbar widersprechende Verhalten läßt sich wohl am einfachsten erklären, wenn man folgende Auffassung zugrunde legt:

Die Wasserretention ist wohl hauptsächlich eine allgemeine Ionenwirkung der Salze, indem dadurch die molekulare Konzentration der Säfte erhöht und daher Wasser zurückgehalten wird.

Diese Wirkung wird aber bei den relativ giftigen K- und Ca-Salzen dadurch paralytisiert, daß der größte Teil des eingeführten Salzes mit entsprechendem Lösungswasser möglichst schnell ausgeschieden wird, der Rest kann noch eine Retention machen; bei größeren Dosen tritt aber noch das Gegenteil ein; nur das relativ ungiftige NaCl wird noch in größeren Dosen toleriert.

Neben dieser allgemeinen Ionenwirkung ist noch eine spezifische möglich, die auch hier einen Antagonismus der Ca-Verbindungen zu den anderen begründen würde, wie er für die anderen klinischen Symptome ja zweifellos besteht.

Die verschiedene Höhe der Dosierung, besonders bei den Na-Verbindungen, braucht nicht auf den relativ geringeren Gehalt an Na bei den Br- und J-Verbindungen bezogen zu werden, sondern kann ebenso gut mit der Verminderung des osmotischen Druckes desselben Salzquantums von NaBr und NaJ (in ihren Lösungen) gegenüber dem NaCl erklärt werden.

Daraus ergibt sich auch von selbst die überragende praktische Bedeutung des NaCl als Oedembildner, da es hohe osmotische Konzentration seiner Lösungen mit relativer Ungiftigkeit vereint; daneben käme das CaCl₂ als wirksamster Antagonist auch praktisch in Betracht.

Es erhebt sich nun die Frage, ob man imstande ist, aus den gefundenen Tatsachen eine Erklärung für das pharmakologische Verhalten der Salze zu geben. Wenn man diese Frage so allgemein betrachtet, wird man vielleicht meinen, sie bejahen zu können. Wir finden in den obigen Feststellungen ein überraschendes Zusammenfallen von Salz- resp. Wasserretention und Fieber einerseits — von Salz- resp. Wasserauschwemmung und Untertemperatur andererseits, daß man an einen ätiologischen Zusammenhang denken könnte, der sich ungefähr so formulieren ließe: „Plötzlich eintretende starke Salz- oder Wasserbindung führt zu Fieber, plötzlich erfolgende starke Wasser- oder Salzentziehung macht Untertemperatur.“

Wir fänden dann erklärt, warum die Na-Verbindungen, besonders das Chlorid, so stark temperaturerhöhend wirken und warum bei deren Ausscheidung oft Untertemperaturen auftreten; ferner warum die K-Verbindungen relativ unwirksam sind, das Fieber meist spät kommt und die Untertemperaturen häufiger auftreten; wir verstünden auch das den Untertemperaturen öfters vorausgehende Fieber bei den Ca-Verbindungen.

Nimmt man aber spezielle Fälle an, so wird dieser Kausalnexus entschieden undeutlicher. Ich habe, um diese Vergleichung zu erleichtern, den vierstündlichen Stoffwechselablauf mit den wichtigsten klinischen Daten kurvenmäßig zusammengefaßt, und da zeigt sich wohl in einer Reihe von Fällen dieser Parallelismus, aber es finden sich daneben viele einzelne Abweichungen, daß man doch zögert, sich mit dieser Erklärung ganz zufrieden zu geben.

Und damit wäre immerhin auch erst ein Schritt in der Erkenntnis der Salzwirkung getan; das Zustandekommen der Störung des Wärmeleichgewichts wäre dann noch weiter eine offene Frage. Eine zentrale Ursache anzunehmen, liegt kein Grund vor und hieße die Schwierigkeit ohne Grund zurückschieben; sie mit den gewöhnlichen Fiebertheorien erklären zu wollen, ist kaum angängig.

Ich glaube, auch hier läßt sich auf rein physikalisch-chemischer Grundlage eine Erklärung finden, und will in der nächsten Mitteilung des näheren darauf einzugehen versuchen.

Physikalisch-chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung.

Der osmotische Druck bei der Entwicklung von *Rana temporaria*.

Vorläufige Mitteilung.

Von

E. Louis Backman und J. Runnström.

(Aus der anatomischen Abteilung des Karolinischen Institutes, Stockholm.)

(Eingegangen am 22. September 1909.)

Wie die Zellenlehre die Grundlage für die morphologische Forschung ist, so muß sich auch das Studium der physikalisch-chemischen Faktoren bei den Lebenserscheinungen auf die cellulären Vorgänge richten.

Ein physikalisch-chemischer Faktor von wichtiger Bedeutung für das Zellenleben im allgemeinen ist der osmotische Druck. Kleinere Schwankungen desselben können zwar von der Zelle ertragen werden, ohne daß ihre Funktionsfähigkeit geschädigt wird; im allgemeinen kann man jedoch sagen, daß bei Tieren die Zellen, um am Leben zu bleiben, Isotonie des in dem Organismus befindlichen Mediums mit ihrer eigenen Substanz und in vielen Fällen auch eine solche mit der des äußeren Mediums verlangen.

Ein hypertonisches Medium verursacht eine Schrumpfung der Zelle infolge Wasserentziehung, bzw. eventuales Hineindiffundieren der diffusiblen Stoffe, die in stärkerer Konzentration in der Umgebung als in der Zelle vorhanden sind. Daneben werden sowohl durch die Wasserentziehung und die dadurch hervorgerufene Vergrößerung der osmotischen Konzentration in der Zelle als durch das Hineindiffundieren von Krystalloiden die Lösungsverhältnisse der in der Zelle vorhan-

denen Kolloide, der Sole, verändert. Durch die Bildung von Gelen und Gallerten werden Krystalloide durch Adsorption oder evtl. durch Eingehen in die Gallerte in fester Lösungsform mit niedergerissen, und infolgedessen wird bei Überschreitung eines gewissen Maßes die Lebensfähigkeit der Zelle vernichtet.

Ähnlich sind die Ergebnisse bei einem Medium, das hypotonisch im Verhältnis zu der Zelle ist; durch Aufnahme von Wasser in die Zelle und durch die Abnahme der Konzentration von cellulären Krystalloiden, die teils durch die Wasseraufnahme, teils durch eventuelles Hinausdiffundieren hervorgerufen wird, wird die Wirkung hinsichtlich des Verhältnisses der cellulären Kolloide der Hauptsache nach die gleiche, wie wir sie als Folge der Hypertonie der Umgebung schilderten. Hinsichtlich der Krystalloide wird eine absolute Abnahme der Konzentration erreicht. Eine Zelle, die sich in einem hypotonischen Medium befunden hat, muß folglich einen geringeren osmotischen Druck zeigen. Die Konzentrationsveränderung der Krystalloide ruft zudem, wie erwähnt, eine Gel- und Gallertumwandlung der Sole hervor, die der Lebensfähigkeit der Zelle verhängnisvoll werden kann. Geschieht der Austritt der Krystalloide nicht schnell genug, so kann eine Zersprengung der Zelle durch den Wassereintritt bewirkt werden, was wohl öfters die Ursache des Todes der Zelle in einem hypotonischen Medium ist.

Diejenigen Tiere, deren Zellen in der oben geschilderten Weise für Veränderungen des osmotischen Druckes des Mediums empfindlich sind und die also mit diesem isotonisch sein müssen, sind von Höber poikilosmotisch genannt worden. Bei der Ausgleichung des osmotischen Druckes zwischen der Zelle und dem umgebenden Medium verhält sich die Hautschicht der Zelle nicht wie eine permeable Membran, sondern sie hat eine auslesende Fähigkeit hinsichtlich der hineindiffundierenden Salze, welche zum Teil durch die verschiedene Löslichkeit derselben in der Hautschicht bedingt wird. Mehrfach dürften osmotisch wirksame Umsatzprodukte zum Gleichgewicht beitragen. So wird nach Baglioni¹⁾ bei Selachiern Harnstoff in der Körper-

¹⁾ S. Baglioni, Einige Daten zur Kenntnis der quantitativen Zusammensetzung verschiedener Körperflüssigkeiten von Seetieren (Fischen und einigen Wirbellosen). Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 50, 1906.

flüssigkeit und in dem Blute zurückgehalten, so daß diese einen Gehalt von ca. 2% Harnstoff haben. In diesem Falle und in ähnlichen muß man vielleicht von einer regulativen Fähigkeit der Zelle bzw. des Organismus sprechen, die gegen die giftige Einwirkung zu starker Konzentrationen von gewissen Salzen, zum Beispiel von NaCl, schützt.

Diejenigen Tiere dagegen, die einen konstanten, von dem Medium unabhängigen, osmotischen Druck besitzen, sind von Höber¹⁾ homoiosmotisch genannt. Die untenstehende Tabelle zeigt den osmotischen Druck von Körperflüssigkeit und Blutserum verschiedener Tierspezies.

		Δ	Untersucher
Coelenterata:	Alcyonium palmatum	— 2,196°	Bottazi
Echinodermata:	Astropecten aurantiacus	— 2,312	„
Vermes:	Sipunculus nudus	— 2,31	„
Crustacea:	Maja squinado	— 2,36	„
Selachii:	Torpedo marmorata	— 2,26	„
Teleostii:	Cerna gigus	— 1,035	„
	Box Salpa	— 0,82 bis — 0,88	„
Amphibia:	Salamandre maculata	— 0,479	Höber
	Rana esculenta	— 0,465	„
Reptilia:	Emys europea	— 0,475	„
	Thalossochelys caretta	— 0,61	Bottazi
Mammalia:	Ovis aries	— 0,619	Hamburger
	Lepus cuniculus	— 0,592	„
	Felis domestica	— 0,638	„
	Canis familiaris	— 0,571	„
	Homo sapiens	— 0,526	„

Aus der Tabelle sieht man, daß die untersuchten Teleostier, die Meeresbewohner sind, einen osmotischen Druck haben, der niedriger ist als derjenige der vor ihnen in der Tabelle genannten Tiere und auch niedriger als derjenige des Seewassers. Sie scheinen also unabhängig vom osmotischen Drucke des Mediums zu sein. Andererseits zeigt der Aal beim Versetzen aus Seewasser in Süßwasser eine bedeutende Abnahme des osmotischen Druckes um etwa 30 bis 40%. Der Aal bleibt jedoch heterotonisch im Verhältnis zum Medium, und zwar hyperotonisch. Wenn man diese Angaben verallgemeinern darf, so ist der osmotische Druck der Teleostier verschieden von dem des

¹⁾ R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle u. der Gewebe. Leipzig 1906.

Mediums, jedoch gewissen Schwankungen unterworfen, und zwar bewegen sich dieselben in der gleichen Richtung, wie die des Druckes im Medium, aber innerhalb engerer Grenzen. Man kann also sagen, daß sie auf dem Übergange zwischen Poikilosmose und Homoiosmose stehen. Die autoregulatorischen Vorgänge, die das Vermögen, den osmotischen Druck bei konstantem Niveau zu erhalten, bedingen, treten ausgeprägt erst bei den Landtieren auf, und diese haben auch unter sich einen sehr übereinstimmenden osmotischen Druck.

* * *

Seit einiger Zeit sind wir mit Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Lösungen auf die embryonale und larvale Entwicklung von *Rana temporaria* beschäftigt. Diese Untersuchungsreihe ist noch nicht vollständig abgeschlossen, aber die Beobachtungen, die wir dabei gemacht haben, ebenso wie einige Angaben der Literatur haben uns zu einer jene Versuche vervollständigenden Untersuchung über den osmotischen Druck des Froscheies und des Froschembryos auf verschiedenen Stufen der Entwicklung geführt. In großen Zügen kann man sagen, daß eine Lösung von der Konzentration äq.-m./3 von unorganischen Salzen (in Leitungswasser) nicht die Erreichung des Gastrulastadiums erlaubt. Die Konzentration äq.-m./5 gibt eine verspätete und in verschiedenen Hinsichten abnorme Entwicklung, äq.-m./10 dagegen eine normale, jedoch ein wenig verspätete. In der Konzentration äq.-m./50 dagegen ist die Entwicklungsdauer völlig die normale. Es war auch nicht möglich, eine physiologische Entwicklung für den Frosch in Göthlins Salzlösung zu erhalten. Die Entwicklung war nämlich auch hier bedeutend verspätet und hörte vollständig in 7 bis 8 Tagen auf, trotzdem die Salzlösung Göthlins nicht nur isotonisch mit dem Serum des Frosches ist, sondern auch NaCl, KCl, CaCl₂ und NaHCO₃ in demselben Verhältnisse wie dieses enthält. Ihre Zusammensetzung ist nämlich die folgende:

NaCl	0,65%
KCl	0,01%
CaCl ₂	0,0065%
NaHCO ₃	0,10%
Aqua dest.	

Auch mit $\frac{3}{4}$ Aqua dest. verdünnt, zeigte sie sich nicht als ein geeignetes Medium. Die Entwicklung war immer bedeutend verspätet.

Aqua destillata ist dagegen ein für das Froschei geeignetes Medium. Die Entwicklung findet hier in einer völlig normalen Weise statt, nur mit einer unbedeutenden Verlangsamung. Die Embryonen haben fast die Metamorphose erreicht.

Da, wie aus dem Gesagten hervorgeht, die Lösungen von äq.-m./50 sich als die Entwicklung nicht verlangsamend zeigten, während dagegen die Göthlinsche Lösung $\frac{1}{4}$ n, äq.-m./10 und Aqua dest. dieselbe verspäteten, war es offenbar, daß das befruchtete Froschei, ebenso wie die früheren Embryonalstufen, ein bedeutend niedrigeres Δ als das entwickelte Tier haben muß, das aber höher als Aqua dest., niedriger als Göthlin/4 und äq.-m./10 ist. Wahrscheinlich würde es in der Nähe von Δ für äq.-m./50 liegen.

Um eine genauere Auffassung von dem osmotischen Drucke in dem Froschei und den Embryonen zu erhalten, haben wir eine Reihe Gefrierpunktsbestimmungen an solchen in einigen verschiedenen Entwicklungsstufen mittels des Beckmannschen Gefrierpunktbestimmungsapparates gemacht. Außerdem haben wir den Gefrierpunkt von dem Wasser des Tümpels, wo die Frösche und die Eier gefangen worden sind, von dem Wasserleitungswasser, von verschiedenen Lösungen und endlich von den Gallerthüllen bestimmt.

An den Eiern, Embryonen und den Gallerthüllen wurden die Bestimmungen drei- bis viermal und regelmäßig an verschiedenen Partien gemacht; mit dem Wasser und den Lösungen wurden 2 bis 3 Bestimmungen angestellt. Die Ziffern in der Tabelle sind Durchschnittszahlen. Bei jeder Bestimmung wurde etwa $\frac{1}{3}^{\circ}$ unterkühlt. Die Versuchsfehler belaufen sich auf 0,00 bis 0,02 $^{\circ}$.

	Δ	
Fertige Ovarialeier	— 0,48 $^{\circ}$	(1)
Ungefurchte, befruchtete Eier	— 0,045 $^{\circ}$	(2)
Embryonen, 5 Tage alt	— 0,23 $^{\circ}$	(3)
Kaulquappen, 20 bis 25 Tage alt	— 0,405 $^{\circ}$	(4)
Serum des gewachsenen metamorphosierten		
Frosches	— 0,465 $^{\circ}$	(5)
Gallerthüllen	— 0,015 $^{\circ}$	(6)
Wasser des Tümpels, aus dem die Eier ge-		
holt wurden	— 0,06 $^{\circ}$	(7)
Wasserleitungswasser	— 0,015 $^{\circ}$	(8)
äq.-m./50-NaCl Lösung	— 0,05 $^{\circ}$	(9)
äq.-m./3-NaCl Lösung	— 0,61 $^{\circ}$	(10)
Lösung von Göthlin	— 0,445 $^{\circ}$	(11)

Die ungefurchten Eier wurden von den Hüllen bis auf die Dottermembran befreit. Hierbei kann sich natürlich eine Fehlerquelle ergeben dadurch, daß möglicherweise an dieser Gallerte haften bleibt, die bei der Bestimmung ein zu hohes Δ für die Eier verursachen würde. Eine leichte Überlegung an Hand der Angaben der Tabelle über das Δ der Gallerte beweist jedoch, daß diese Fehlerquelle die Resultate nicht beträchtlich beeinflussen kann. Die Embryonen von 5 Tagen wurden sowohl von der Gallerthülle als von der Dottermembran befreit. Die also von den Hüllen befreiten Eier und Embryonen wurden während 30 bis 40 Minuten zerstoßen und zerpreßt. Hierbei ist Anlaß zur Entstehung einer anderen Fehlerquelle gegeben, die sich jedoch in entgegengesetzter Richtung bemerkbar macht, nämlich die von postmortalen Zersetzungen, der Autolyse. Diese dürfte jedoch während einer so kurzen Zeit nicht besonders beträchtlich sein, wozu noch kommt, daß der Teil der Masse, der zu den übrigen Δ -Bestimmungen einer Serie benutzt war, während jeder Bestimmung in Eis eingebettet wurde. Die Veränderungen, die durch autolytische Vorgänge hervorgerufen werden, gehen jedenfalls in der Richtung, daß von größeren Molekülkomplexen kleinere gebildet werden, mit anderen Worten, daß die osmotischen Konzentrationsgrade der Masse vergrößert und folglich ihr Gefrierpunkt erniedrigt wird. Die postmortale Autolyse dürfte also dahin wirken, daß die Δ der Bestimmungen 1, 3 und 4 ein wenig zu niedrig sind, während sie dagegen in der Bestimmung 2 vielleicht die dort schon vorhandene Fehlerquelle neutralisiert.

Unsere Δ -Bestimmungen bestätigen völlig die Betrachtungen bezüglich des osmotischen Druckes des Froscheies, zu denen wir durch das Studium der Entwicklung desselben in verschiedenen Konzentrationsgraden von Krystalloiden und in Aqua destillata veranlaßt wurden. Wie aus den Bestimmungen 2 und 9 zu ersehen ist, liegt dieser Druck wirklich in der Nähe von dem von äq.-m./50-NaCl.

Die Tabelle zeigt, daß das befruchtete aber noch ungefurchte Froschei einen osmotischen Druck zeigt, der nur $\frac{1}{10}$ von dem des ausgewachsenen Frosches und dem des Ovarialeies ist. Man sieht auch, daß jener Druck in einer einleuchtenden Weise mit dem des Mediums übereinstimmt, in das die Eier gelegt sind (Bestimmung 7), schwach hypertensisch dagegen im Verhältnis zu der Gallerthülle (Bestimmung 6) ist. Im Laufe der Entwicklung steigert sich der osmotische Druck wieder und der Embryo von 5 Tagen besitzt schon ein Δ , das etwa 50% von der Größe desselben bei dem metamorphosierten Tier und folglich stark hypertensisch im

Verhältnis zum Medium ist. Bei Embryonen von 25 bis 30 Tagen ist der Druck nur unbedeutend niedriger als derjenige des metamorphosierten Tieres.

* * *

Es drängt sich daher die Frage auf: Welche Faktoren haben die Erniedrigung des osmotischen Druckes in dem Ovarialei bis auf den im befruchteten, ungefurchten Ei von uns konstatierten Wert bewirken können?

A priori dürfte man von der Eventualität absehen können, daß das Ei während der Passage durch den Eileiter durch „einen inneren Trieb“ seinen osmotischen Druck, z. B. durch eine Gel- und Gallertbildung, erniedrigen konnte. Dazu fehlt jeder bekannte physikalische oder chemische Faktor. Wenn die Eier gelegt sind, befinden sie sich in einem hypotonischen Medium. Die Wirkung der Hypotonie haben wir schon auseinanderzusetzen versucht. Wir sehen, daß die Zelle dadurch einen erniedrigten osmotischen Druck erhält. Die Frage ist nun, ob diese Erklärung für den vorhandenen Fall genügt. Kann, mit anderen Worten, die Verdünnung durch Wasseraufnahme bzw. Auswanderung der Krystalloide eine 10fache Erniedrigung des osmotischen Druckes bewirken? Der Frosch ist während der Embryonalentwicklung bezüglich der wichtigen, anorganischen Ionen auf seine eigenen Vorräte angewiesen, was durch die Lebensfähigkeit des Froscheies in aqua destillata bewiesen wird. Wenn man zudem bedenkt, daß diese Ionen in bestimmten Konzentrationen vorhanden sein müssen, muß ein Hinausdiffundieren auch in geringen Mengen höchst unwahrscheinlich sein. Der anderen der beiden Alternativen muß man mehr Rücksicht widmen. Tatsächlich quillt das Froschei beim Ablegen zufolge Wasseraufnahme auf. Diese Quellung genügt jedoch nicht allein, die beobachtete Erniedrigung des osmotischen Druckes zu erklären, da in solchem Falle das Ei das 8- bis 10fache Volumen gegen das ursprünglich vorhandene erhalten müßte. Es ist schon a priori unwahrscheinlich, daß die Zelle eine so starke Ausspannung erfahren könnte; die Beobachtung bestätigt nun, daß die Volumzunahme bei der Quellung einen weit niedrigeren Wert hat.

Es scheint folglich nur die Möglichkeit übrig zu bleiben, daß die Erniedrigung des osmotischen Druckes zum größten Teil durch eine Zustandsänderung der Kolloide in der Eizelle, durch eine Gel- und Gallertbildung, wobei die Krystalloide adsorbiert werden, hervorgerufen wird. Es bietet sich uns also jetzt die Aufgabe, einen Faktor herauszufinden, der einen solchen Vorgang verursachen könnte. Wir haben dabei vielleicht mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Veränderung des Mediums die Ursache ist. An anderer Stelle haben wir schon auf diese Möglichkeit hingewiesen (Seite 1). Es ist jedoch schwer anzunehmen, daß das Ei nach einem so heftigen Eingriffe noch das Vermögen haben sollte, sich selbst zu restituieren. Da vorläufig noch Anhaltspunkte fehlen, so kann man sich über diese Sache noch nicht definitiv äußern.

Die letzte Erklärungsmöglichkeit sehen wir in dem Befruchtungsmomente. Wir gehen dabei von der Voraussetzung aus, daß die Befruchtung diejenige Zustandsänderung der Kolloide mit folgender Adsorption der Krystalloide möglicherweise hervorrufen könnte, die man nach obigem als einen physiologischen Erstarrungsprozeß der Eizelle bezeichnen könnte — ev. durch die Veränderung des Mediums unterstützt, die ja ohnehin durch die Wasseraufnahme des Eies einen Teil der Herabsetzung des osmotischen Druckes verursacht. Wir hoffen durch fortgesetzte und erweiterte Untersuchungen sowohl beim Frosche als auch bei anderen Tieren über diese schwierigen Fragen Licht verbreiten zu können.

Das Sinken des osmotischen Druckes ist reversibel, was durch die biophysikalischen und biochemischen Vorgänge, die mit der Entwicklung verbunden sind, veranlaßt wird. Nach unserer Auffassungsweise muß die Erhöhung des osmotischen Druckes wenigstens teilweise von der Entbindung der Krystalloide verursacht sein. Dazu tritt die Zersetzung des Dottermaterials zu osmotisch wirksameren Vereinigungen.

Wir haben im vorhergehenden das Verhalten des osmotischen Druckes bei verschiedenen Tieren behandelt und dabei gesehen, daß man poikilosmotische und homoiosmotische Tiere unterscheiden kann. Wir haben auch gesehen, daß die Teleostier in einem Übergangszustand zwischen diesen beiden Gruppen stehen. Aus unserer Untersuchung geht jetzt hervor,

daß der Frosch während seiner ersten Entwicklungsstufen möglicherweise als relativ poikilosmotisch anzusehen ist, d. h. einen osmotischen Druck zeigt, der mit dem der Umgebung übereinstimmt. 5 Tage alte Embryonen sind jedoch schon ausgeprägt homoiosmotisch — wenn man damit nur das Vermögen ausdrückt, den eigenen osmotischen Druck verschieden von dem der Umgebung zu halten,

Der osmotische Druck ist aber in stetiger Zunahme, und bei Kaulquappen von 25 bis 30 Tagen ist der osmotische Druck fast der des metamorphosierten Tieres. Den biogenetischen Satz auf diesen Fall zu beziehen, wäre wohl nur eine Redensart. Vielmehr haben wir hier einen autoregulatorischen Prozeß von lebenswichtiger Bedeutung vor uns, dessen physikalisch-chemische Bedingungen nicht unerforschbar sein dürften.

Beitrag zur Chemie der Krebsgeschwülste.

Von

S. Yoshimoto aus Tokio (Japan).

(Aus dem Institut für Krebsforschung und der chemischen Abteilung
des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 24. September 1909.)

Die Chemie der Krebsgeschwülste und der Stoffwechsel der Krebskranken sind schon vielfach bearbeitet worden, ohne daß indessen in allen Punkten Übereinstimmung erzielt worden wäre.

Der erste, der die chemische Zusammensetzung von Krebsgeschwülsten studierte, war Petry¹⁾. Als konstanten Befund hob er eine ansehnliche Vermehrung der Nucleoproteide hervor. Dieselben betragen etwa 50% des Gesamteiweißes, während dieser Wert in der Mamma, dem Sitz der Geschwülste, unter 30% ausmachte. Petry bezog diese Vermehrung auf den Kernreichtum des üppig wuchernden Gewebes. Im Gegensatz dazu fand er Sarkome sehr arm an Nucleoproteiden. Er beobachtete auch schon die Autolyse der Carcinome.

Neuberg und Ascher²⁾ und gleichzeitig und unabhängig davon Blumenthal und Wolff³⁾ fanden im Krebsgewebe ein proteolytisches Ferment, welches als heterolytisches auf das Eiweiß anderer Gewebe einwirkt. Blumenthal ist der Meinung, daß dieses Ferment, ebenso wie das autolytische, wahrscheinlich intracellulär ist und nur bei regem Stoffwechsel im Krebsgewebe frei wird. Daher sei anzunehmen, daß es bei derben, abgeschlossenen Carcinomen nicht in die Zirkulation gerate, sondern nur bei weichen Tumoren. Es liegt nahe, die Krebskachexie mit diesem Ferment, das auch nach Art eines Toxins wirken könnte, in Verbindung zu bringen, indessen sind Beweise dafür noch nicht geliefert.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 398.

²⁾ Arbeiten aus dem pathologischen Institut zu Berlin 1906, 593.

³⁾ Zeitschr. f. klin. Med. 16.

Man könnte wohl als Wirkung eines solchen Fermentes die bedeutenden Abweichungen des Stickstoff-Stoffwechsels ansehen, welche nach den wichtigen Beobachtungen von Friedrich Müller¹⁾, die übrigens schon lange vor den erwähnten Autolysenversuchen gemacht sind, bei Krebskranken bestehen. Fr. Müller fand, daß die Stickstoffausscheidung bei Krebskranken stets größer war als die Stickstoffeinfuhr, so daß es trotz reichlicher Ernährung nicht gelang, die Schwelle des Stickstoffgleichgewichts zu erreichen. Allein es zeigte sich, daß dieses Verhalten nicht konstant und etwa typisch ist für den Stoffwechsel des Krebskranken. Blumenthal¹⁾ konnte sogar bei einem Mammacarcinom einen erheblichen Stickstoffansatz erzielen. Blumenthal ist daher der Ansicht, daß es ein spezifisches, von der Krebszelle abgesondertes Toxin, welches einen vermehrten Eiweißzerfall und damit Kachexie bewirkt, nicht gibt. Er bezieht diese vielmehr auf die verminderte Nahrungsaufnahme und die sekundäre Erkrankung von solchen Organen, welche für den Stoffwechsel von Wichtigkeit sind, sowie auf vermehrte bakterielle Prozesse.

Andererseits konnten Gärtig²⁾ und Klemperer³⁾ in ihren Stoffwechselversuchen an Krebskranken die Beobachtungen von Fr. Müller bestätigen.

Durch die Güte von Exzellenz von Leyden, für die ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche, bot sich mir Gelegenheit, Autolysenversuche an Krebsgeschwülsten anzustellen. Auch Herrn Dr. Brahn bin ich für die Überlassung mehrerer von ihm angesezierter Versuche zu Dank verpflichtet. Die anatomische Diagnose der Tumoren ist durch Herrn Prof. Beitzke sichergestellt.

Im ganzen habe ich 9 metastatische Leberkrebsse und ein Mammacarcinom untersucht. Zu Kontrollversuchen dienten 3 gesunde Lebern und eine Mamma.

Allgemeine Versuchsanordnung.

Die Tumoren wurden möglichst kurze Zeit nach dem Tode aus den Organen herauspräpariert. Das gelingt in den Fällen, in welchen die Krebsgeschwülste derb und von der Umgebung mehr oder weniger scharf abgegrenzt sind — das ist meistens der Fall — ohne Schwierigkeit, während bei weicheren Tumoren die Abgrenzung allerdings nicht so scharf zu machen ist.

Die Tumoren wurden fein zerhackt, 100 g des Breies mit 1 l gesättigten Chloroformwassers in ein breithalsiges Glasstöpselgefäß gebracht und 72 Stunden im Thermostaten bei

¹⁾ Festschrift für E. Salkowski. 1904, S. 75.

²⁾ Inaugural-Dissertation Berlin, 1890.

³⁾ Charité-Annalen 16.

39° digeriert. Nachdem behufs Kontrolle bezüglich der Anwesenheit von Bakterien eine Impfung auf Nährgelatine stattgefunden hatte, wurden die Flaschen entleert, die Autolysenflüssigkeit aufgekoocht und nach völligem Erkalten im Meßzylinder auf 1 l (einschließlich der festen Substanz) aufgefüllt, alsdann durch ein trocknes Filter filtriert. 800 ccm dieses Filtrates wurden auf dem Wasserbad auf weniger als 400 ccm eingedampft. Nach dem Erkalten füllte man sie wiederum auf 400 ccm auf und filtrierte durch ein trocknes Filter. So wurde eine von koagulierbaren Eiweißkörpern freie verdünnte Lösung erhalten.

Um eine Vorstellung von dem Gehalt dieser Lösung an Monoaminosäuren, Albumosen und Purinbasen zu erhalten, wurde das von E. Salkowski angegebene, zuerst von Drjewezki¹⁾, später vielfach im hiesigen Laboratorium u. a. auch von mir²⁾ in früheren Versuchen angewendete Verfahren benutzt. Man erhält dabei durch die Analyse:

1. Gesamtstickstoff, 2. Monaminosäurenstickstoff³⁾, 3. Albumosenstickstoff, 4. Purinbasenstickstoff.

Die Differenz zwischen Gesamtstickstoff und der Summe von 2, 3 und 4 ergibt den Stickstoff von Diaminosäuren + Peptonen + Ammoniak.

Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren:

1. Gesamt-N. — In 20 ccm der Lösung unter Anwendung von Quecksilberoxyd nach Kjeldahl doppelt ausgeführt.

2. Monoaminosäurenstickstoff: 50 ccm der Lösung mit 5 ccm Salzsäure von 1,124 D angesäuert, mit 10%iger Phosphorwolframsäure völlig ausgefällt, die Mischung auf 100 ccm (samt Niederschlag) aufgefüllt, durch ein trocknes Filter filtriert, vom Filtrat 20 ccm zur Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl.

3. Albumosenstickstoff: 50 ccm mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit gepulvertem Zinksulfat gesättigt nach Baumann und Bömer. Das Gemisch nach den Angaben von E. Rosenberg⁴⁾ 24 Stunden lang stehen gelassen, filtriert, der Niederschlag mit angesäuerter

¹⁾ Diese Zeitschr. 1, 229, 1906.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 341, 1909.

³⁾ Dieser Ausdruck ist hier, wie in den früheren Arbeiten in dieser Richtung, nur in dem Sinne gebraucht, daß in dieser Kategorie die Monoaminosäuren sehr überwiegen; es fällt darunter auch Harnstoff und Allantoin, wenn vorhanden.

⁴⁾ Zeitschr. f. klin. Med. 76, 1.

Zinksulfatlösung gut ausgewaschen und trocken gelassen, dann im Kjeldahlkolben mit Schwefelsäure erhitzt. Diese Erhitzung läßt sich gut zu Ende führen.

4. Purinbasenstickstoff: 100 ccm wurden mit Ammoniak leicht alkalisiert, von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltriert und nachgewaschen, das Filtrat unter weiteren Zusatz von Ammoniak mit 3%iger ammoniakalischer Silbernitratlösung gefällt. Nach 10 bis 12stündigem Stehen im Dunkeln wurde abfiltriert, der Niederschlag mit ammoniakalischem Wasser so lange ausgewaschen, bis im Waschwasser keine Silberreaktion mehr vorhanden ist, trocken gelassen und dann samt Filter kjeldahlisiert.

Drei gesunde Lebern (1 bis 3) und zwei Krebslebern (4 und 8) wurden genau nach dieser Angabe untersucht.

In den übrigen Versuchen, wo das Material nicht genügend war, wurde der Carcinomgewebsbrei immer in gewissen Bruchteilen der Vorschriften genommen.

Tabelle I.
Autolyse der gesunden Leber.

Nr. des Versuches	Leberbrei g	Chloroformwasser ccm	Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Autolyseflüssigkeit	N in g auf 1 kg Leber berechnet	% des Gesamt-N
1	100	1000	1. Gesamt-N	4,536	
			2. Monoaminosäuren-N	2,480	54,68
			3. Albumosen-N	0,944	20,81
			4. Purinbasen-N	0,672	14,82
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	0,440	9,71
2	100	1000	1. Gesamt-N	4,760	
			2. Monoaminosäuren-N	2,632	55,30
			3. Albumosen-N	0,963	20,24
			4. Purinbasen-N	0,560	11,77
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	0,6051	12,71
3	100	1000	1. Gesamt-N	5,1521	
			2. Monoaminosäuren-N	2,8560	55,44
			3. Albumosen-N	1,0531	20,44
			4. Purinbasen-N	0,8960	17,39
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,1181	12,13
Mittelzahlen der Versuche 1 bis 3			1. Gesamt-N	4,8160	55,14
			2. Monoaminosäuren-N	2,6580	20,48
			3. Albumosen-N	0,9871	14,71
			4. Purinbasen-N	0,7091	
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	0,7111	14,97

In den nachfolgenden vier Versuchen (4 bis 7) wurden zwei Mischungen aus ein und derselben Krebsleber hergestellt, nämlich in

der Mischung A ein Geschwulstanteil, in der Mischung B ein anscheinend normaler Anteil derselben Leber.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.
Autolyse der Krebsleber.

Nr. des Versuches	Leberbrei g	Chloroform- wasser ccm	Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Autolyseflüssigkeit	A.		B.	
				Geschwulstanteil der Krebsleber		Angewöhnlich. Normalanteil derselb. Krebsleber.	
				N in g auf 1 kg be- rechnet	‰ des Ge- samt-N	N in g auf 1 kg be- rechnet	‰ des Ge- samt-N
4	100	1000	1. Gesamt-N	7,280		7,280	
			2. Monoaminosäuren-N	3,750	51,51	3,840	50,00
			3. Albumosen-N	0,9856	13,54	1,568	21,54
			4. Purinbasen-N	0,3584	4,92	0,728	10,00
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	2,1860	30,03	1,3440	18,46
5	50	500	1. Gesamt-N	7,2800		7,6160	
			2. Monoaminosäuren-N	4,0320	55,39	3,6960	48,53
			3. Albumosen-N	1,5232	20,92	1,1200	14,71
			4. Purinbasen-N	0,2160	2,97	0,4480	5,88
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,5078	21,72	2,3520	30,88
6	20	200	1. Gesamt-N	7,0560		7,0560	
			2. Monoaminosäuren-N	2,8000	50,00	2,9120	41,27
			3. Albumosen-N	1,6632	23,56	2,5760	36,42
			4. Purinbasen-N	0,5824	8,25	1,0336	14,65
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	2,0104	28,40	0,5344	7,61
7	50	500	1. Gesamt-N	6,0480 ¹⁾		7,6160	
			2. Monoaminosäuren-N	2,6880	44,44	3,6960	48,53
			3. Albumosen-N	0,9856	16,30	2,6880	35,29
			4. Purinbasen-N	0,1568	2,59	0,3136	4,12
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	2,2176	36,66	0,9184	12,06
Mittelzahl der vier Versuche 6 bis 7			1. Gesamt-N	7,2320		7,3920	
			2. Monoaminosäuren-N	3,5273	48,75	3,4860	47,15
			3. Albumosen-N	1,3906	19,23	1,9880	26,89
			4. Purinbasen-N	0,3856	5,33	0,6308	8,53
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,9014	26,29	1,2872	17,42

Beim Betrachten der Tabelle II sieht man sofort die beiden bemerkenswerten Tatsachen, nämlich, daß die beiden Gesamtstickstoffmengen in A und B bei jedem Versuche (aus-

¹⁾ Dieser zu kleine Wert wird wahrscheinlich ein technischer Fehler sein, er ist bei der Bildung der Mittelzahlen nicht berücksichtigt.

genommen Versuch 7 A) ganz gleich oder fast ganz gleich sind und daß die Abbauprodukte bei jedem Versuche (ihrer Stickstoffmenge nach) fast immer in derselben Reihenfolge stehen, nämlich Monoaminosäurenstickstoff; Diaminosäuren + Pepton + Ammoniakstickstoff; Albumosenstickstoff und Purinbasenstickstoff. Aus beiden vorliegenden Tabellen habe ich Tabelle III kombiniert.

Tabelle III.

Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Auto- lysenflüssigkeit	Krebsleber, Mittelzahl der vier Versuche		Gesunde Leber, Mittelzahl der drei Versuche
	A.	B.	C.
	Geschwulst- anteil	Augenscheinlich normaler Anteil derselb. Leber	
	N in g auf 1 kg Leber berechn.	N in g auf 1 kg Leber berechn.	N in g auf 1 kg Leber berechnet
1. Gesamt-N	7,2320	7,3920	4,8160
2. Monoaminosäuren-N	3,5273	3,4860	2,6560
3. Albumosen-N	1,3906	1,9880	0,9866
4. Purinbasen-N	0,3856	0,6308	0,7086
5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,9014	1,2872	0,7211

$$\text{Gesamt-N } \frac{A}{C} = 1,5020; \frac{B}{C} = 1,5350.$$

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß der Eiweißzerfall sowohl bei Geschwulstanteilen als auch den augenscheinlich normalen Anteilen einer Krebsleber im Vergleich zur gesunden auffallend gesteigert ist: 7,2320; 7,3920 gegen 4,8160 N.

Es ist also entweder der Gehalt der carcinomatösen Leber an proteolytischem Ferment an sich ein erhöhter — und zwar sowohl in den Geschwulstteilen selbst, als auch in den scheinbar gesunden Partien — oder die Carcinomleber produziert einen die Autolyse steigernden Körper; wir kennen ja derartige Körper, z. B. Säuren, selbst Kohlensäure.

Ferner ergeben sich Unterschiede hinsichtlich der Zerfallsprodukte zwischen den Geschwulstknoten selbst und anscheinend normalen Partien. In den Geschwulstknoten selbst ist der durch die Autolyse erhaltene Anteil des Albumosen-N geringer, der Anteil des Diaminosäuren- usw. N vermehrt. Dies entspricht einem gesteigerten Zerfall. Im Gegensatz dazu ist auffallenderweise der Purinbasen-N vermindert. Dies kann ent-

Tabelle IV.

Autolyse der Krebsleber (bei verschiedenen Digestionsdauern).

Nummer der Versuche	Leberbrei g	Chloroform-wasser cem	Dauer der Digestion	Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Autolyseflüssigkeit	N in g auf 1 kg Leber berechnet	%
8	100	1000	72 Std.	1. Gesamt-N	7,1600	
				2. Monoaminosäuren-N	3,2200	44,98
				3. Albumosen-N	1,0048	14,04
				4. Purinbasen-N	0,1120	1,56
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	2,7232	38,04
9	20	200	4 $\frac{1}{2}$ Mon.	1. Gesamt-N	10,080 ¹⁾	
				2. Monoaminosäuren-N	5,0455	50,06
				3. Albumosen-N	2,5088	25,67
				4. Purinbasen-N	0,488	4,44
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,9777	19,62
10	20	200	5 Mon.	1. Gesamt-N	7,8400	
				2. Monoaminosäuren-N	3,8080	48,46
				3. Albumosen-N	1,6128	20,57
				4. Purinbasen-N	0,4480	5,72
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,9712	25,14
11	20	200	5 $\frac{1}{2}$ Mon.	1. Gesamt-N	9,0720	
				2. Monoaminosäuren-N	4,3680	48,15
				3. Albumosen-N	1,5680	19,40
				4. Purinbasen-N	0,4480	4,94
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	2,6880	29,64
12	15	150	6 Mon.	1. Gesamt-N	8,2880	
				2. Monoaminosäuren-N	4,0320	48,64
				3. Albumosen-N	2,0168	24,32
				4. Purinbasen-N	0,3584	4,32
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	1,8716	27,58
Mittelzahlen der Versuche 8 bis 12				1. Gesamt-N		
				2. Monoaminosäuren-N		48,06
				3. Albumosen-N		20,80
				4. Purinbasen-N		4,19
				5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N		27,00

weder davon herrühren, daß die Quantität der Nucleoproteide, im Gegensatz zu Petry, vermindert ist oder davon, daß die Geschwulstknoten eine geringere Quantität von Nuclease enthält. In späteren Versuchen wird auf diesen Punkt zu achten sein. Auch aus den scheinbar normalen Anteilen der Krebs-

¹⁾ Bei diesem Versuche betrug die Temperatur des Brutschrankes 42 bis 46°.

leber wurde weniger Purinbasen-N erhalten als aus gesunder Leber. Übrigens scheint der Gehalt an Nucleoproteiden nicht notwendig mit dem Kernreichtum parallel zu gehen. Fand doch auch Petry in einem sehr kernreichen Sarkom sehr wenig Nucleoproteid.

Weiterhin verarbeitete ich die Autolysemischungen von 5 Carcinomlebern, die von Herrn Dr. Brahn, damaligen chemischen Assistenten am Krebsinstitut, angesetzt und mir freundlichst überlassen waren. Die Zeitdauer der Autolyse war verschieden, meistens sehr lang. Die Verarbeitung geschah wie früher. Bei der Verschiedenheit der Digestionsdauer ist ein Vergleich der absoluten Zahlen nicht zulässig, ein Vergleich der Prozentzahlen für die Spaltungsprodukte scheint mir dagegen berechtigt zu sein.

Es sei hier noch eine kombinierte Tabelle wiedergegeben, in der die Stickstoffverteilung bei einer autolytischen Eiweißspaltung der Krebsgewebe im Vergleich zu dem normalen Gewebe zusammengestellt ist.

Tabelle V.

Prozentige Mittelzahlen aus je 4 Versuchen bei A und B, aus 5 Versuchen bei C und aus 3 Versuchen bei D.

Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Autolyse- flüssigkeit	Krebsleber			Gesunde Leber D.
	Ge- schwulst- anteil	Augenscheinlich normaler Anteil derselben Leber wie A	Geschwulst- anteil bei ver- schiedener Digestionsdauer (s. Tabelle IV)	
1. Gesamt-N	100,00	100,00	100,00	100,00
2. Monoaminosäuren-N .	48,75	47,15	48,06	55,15
3. Albumosen-N	19,23	26,89	20,80	20,48
4. Purinbasen-N	5,33	8,53	4,19	14,71
5. Diaminosäuren-, Pep- ton- und NH ₃ -N	26,29	17,42	27,00	14,97

Wenn man einen Blick auf die Tabelle V wirft, so ersieht man, daß die Zahlen in Rubrik A, B und C bei Krebsgeweben einander ziemlich nahe sind und daß diese Zahlen im Vergleich mit den entsprechenden in Rubrik D bei der gesunden Leber im großen und ganzen bezüglich des Monoaminosäurenstickstoffs und Albumosenstickstoffs einander ziemlich nahe sind, der Purinbasenstickstoff dagegen bei dem Carcinomgewebe entschieden geringer, der Diaminosäuren- usw. Stickstoff entschieden höher ist.

Zwei Versuche (einer mit Carcinommma, ein anderer mit gesunder Mamma) wurden in ganz derselben Weise wie vorher angestellt. Man sieht das Resultat in der Tabelle VI.

Tabelle VI.
Krebsmamma.

Nummer der Versuche	Mamma-breig	Chloroform-wasser ccm	Spaltungsprodukte des Eiweißes in der Autolyseflüssigkeit	N in g auf 1 kg Mamma berechnet	% des Gesamt-N
13	30	300	1. Gesamt-N	5,0400	
			2. Monoaminosäuren-N	2,6880	53,33
			3. Albumosen-N	1,4156	28,10
			4. Purinbasen-N	0,3360	6,67
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	0,6004	11,91
Gesunde Mamma.					
14	80	800	1. Gesamt-N	2,0160	
			2. Monoaminosäuren-N	1,0080	50,00
			3. Albumosen-N	0,473	23,49
			4. Purinbasen-N	0,2240	11,11
			5. Diaminosäuren-, Pepton- und NH ₃ -N	0,3240	14,97

$$\frac{\text{Gesamt-N der Krebsmamma}}{\text{Gesamt-N der gesunden Mamma}} = \frac{5,0400}{2,0160} = 2,5.$$

Was den Mammakrebs betrifft, so kann man aus zwei vereinzeltten Versuchen natürlich keinen bindenden Schluß ziehen, indessen weisen doch die beiden Gesamtstickstoffmengen (5,0400 gegen 2,0160) entschieden darauf hin, daß der Eiweißzerfall bei der Carcinommma ebenso wie bei der Carcinomleber viel stärker ist als bei der gesunden Mamma, wie auch Petry l. c. angibt. Was die Stickstoffverteilung anbelangt, so ergibt sich kein großer Unterschied zwischen den beiden Versuchen 13 und 14 (Krebs- und gesunde Mammagewebe), mit anderen Worten: bei der Autolyse der Carcinommma und der gesunden Mamma geht der proteolytische Prozeß nur quantitativ bedeutend verschieden, qualitativ ziemlich in gleicher Weise vor sich.

Zusammenfassung.

1. Die proteolytische Fermentwirkung bei der Autolyse des Geschwulstanteils einer Carcinomleber ist viel stärker als die der gesunden Leber (7,2320 N gegen 4,8160; siehe Tabelle III).

2. Diese Steigerung der proteolytischen Fermentwirkung bei einer Autolyse gilt bei Mammakrebs ebenso wie bei Leberkrebs, sogar bei ersterem relativ viel stärker (5,04 gegen 2,016; siehe Tabelle VI).

3. Diese Steigerung der proteolytischen Fermentwirkung bei der Autolyse des Krebsgewebes bezieht sich nicht nur auf die Geschwulstmasse selbst, sondern auch auf die anscheinend normalen Anteile derselben Leber. Sie beruht entweder auf einem von dem Carcinom produzierten, die Autolyse steigernden Giftstoff, der sich auch in die noch gesunden Partien ausbreitet, oder auf abnorm hohem Gehalt an Ferment.

4. Die Verteilung des Stickstoffs in der Autolyseflüssigkeit differiert beim Lebercarcinom gegenüber dem normalen Gewebe namentlich in 2 Punkten: Der Purinbasenstickstoff ist bei der Carcinomleber gegenüber der normalen Leber vermindert, der Stickstoff von Diaminosäuren, Ammoniak und Pepton vermehrt (siehe Tabelle V).

Über quantitative Bestimmung des Aminosäuren-N im Harn mittels Formoltitrierung.

Von

Walther Frey und Alfred Gigon.

(Aus der Medizin. Klinik zu Basel.)

(Eingegangen am 24. September 1909.)

1. Da wir für fortlaufende Untersuchungen am Krankenbett eine bequeme Bestimmung des Aminosäuren-N im Harn brauchten, versuchten wir, wie es bereits Ronchèse¹⁾ und Soerensen²⁾ getan haben, eine Methode auszuarbeiten, ausgehend von den Angaben von Schiff³⁾. Letzterer wies nach, daß der Formaldehyd mit den Ammoniumsalzen Hexamethylen-tetramin, mit den Aminosäuren Methylenverbindungen bildet. Die Säurekomponente der letzteren kommt dann zur Geltung und kann mittels Alkali titriert werden. Diese Formolwirkung suchte Ronchèse bei NH_3 -Bestimmungen im Harn zu verwerten; infolge der Anwesenheit der Aminosäuren haftet aber dieser Methode ein Fehler an, den Ronchèse selbst auf 2 bis 4% schätzt. Soerensen will mit der Formoltitrierung eine quantitative Messung proteolytischer Spaltungen gefunden haben. Wir hatten nun bereits einige Versuche zur Bestimmung des NH_3 - und Aminosäuren-N im Harn mittels Formoltitrierung angestellt, als die Arbeit von Henriques⁴⁾ erschien.

¹⁾ Ronchèse, Sur le dosage de l'ammoniaque. *Compt. rend. Soc. Biol.* 1, 867, 1907 und *Méthodes de dosage de quelques composés azotés. Inaug.-Diss., Paris* 1908.

²⁾ Soerensen, Enzymstudien. *Diese Zeitschr.* 7, 45, 1907.

³⁾ Schiff, Trennung von Amin- und Säurefunktion mittels Formaldehyd. *Annalen der Chemie* 319, 59 u. 287, 1900 und 325, 348, 1902.

⁴⁾ Henriques, Über quantitative Bestimmung der Aminosäuren im Harn. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 60, 1, 1909.

Wir glauben uns aber doch berechtigt, auch unsere Untersuchungen mitzuteilen, da wir einige abweichende Ergebnisse zu verzeichnen haben.

Wir hatten uns als Aufgabe gestellt, in der gleichen Lösung Ammoniak- und Aminosäuren-N zu titrieren; wir gingen davon aus, daß gewisse Indicatoren, z. B. Rosolsäure, Lackmus, die durch Aminosäuren bedingte Acidität nicht angeben, während Phenolphthalein gegen dieselbe empfindlich ist, und hofften in diesem Unterschied ein Mittel zu besitzen, um den Amino-N neben dem NH_3 -N mittels Formol titrieren zu können. Unsere Versuche ergaben aber, daß eine genaue Bestimmung damit nicht erzielt werden kann. Wir versuchten dann, in einer Ammoniumsalze haltigen Flüssigkeit den Amino-N zu bestimmen und gingen folgendermaßen vor.

2. Es wurden wässrige oder leicht alkalische Lösungen von bestimmtem Gehalte an Ammonsulfat, Glykokoll, Alanin und anderen untersuchten Substanzen hergestellt. Diese vorerst neutralisierten Lösungen wurden mit neutralisierter Formaldehydlösung versetzt. Trat dabei eine Acidität auf, so wurde die Flüssigkeit mit $\frac{n}{5}$ -NaOH titriert. Ein Vergleich zwischen dem erhaltenen und dem berechneten Wert gestattete, die entsprechenden Schlußfolgerungen zu ziehen. Auf Grund der Überlegungen von Soerensen und von Ronchère haben wir sowohl zur Neutralisation als bei der Endtitrierung Phenolphthalein als Indicator angewandt und der sauer gewordenen Lösung Alkali bis zur rot-violetten Farbe zugesetzt (drittes Stadium Soerensens). Wir erhielten damit aber etwas zu geringe Werte. Genauere Resultate gab folgende Versuchsanordnung.

3. Eine Probe der zu untersuchenden Lösung wurde, wenn sie nicht bereits alkalisch war, mit einem geringen Überschuß von Natronlauge oder Baryt alkalisch gemacht und mit $\frac{n}{5}$ -Salzsäure und Rosolsäure als Indicator genau neutralisiert; es war dabei mehr Säure zur Neutralisierung erforderlich, als bei der Anwendung von Phenolphthalein.¹⁾ Die gefundene Säuremenge wurde einer zweiten, genau gleichen Probe hinzugefügt, neutralisiertes Formol in Überschuß zugegeben und die daraufhin ein-

¹⁾ Die Lösungen wurden alkalisch gemacht, weil man bei den Harn-titrationsen mit Vorteil von alkalischer Reaktion ausgeht.

getretene Acidität mit $\frac{2}{5}$ -NaOH und Phenolphthalein als Indicator genau bis zur rot-violetten Farbe titriert. Das Phenolphthalein hat sich für Harnuntersuchungen besser bewährt als das von Soerensen empfohlene Thymolphthalein. Der kürzlich von Malfatti¹⁾ gegen die Anwendung von zwei verschiedenen Indicatoren erhobene Einwand besteht hier nicht zu Recht; die Aciditätsgrenze bei den zwei Titrationen wird in diesem Falle durch verschiedene Körper bedingt, das erstemal durch die schwach sauer reagierenden Aminosäuren, das zweitemal durch ihre Methylenverbindungen, welche bedeutend stärker saure Eigenschaften besitzen. Zur Titration verwendeten wir $\frac{2}{5}$ -Lösungen; der Farbumschlag ist dabei schärfer als mit $\frac{2}{10}$ -Lösungen. Baryt als Titrierflüssigkeit hat vor der Natronlauge keine wesentlichen Vorteile, dagegen aber manche Nachteile.

Die Ergebnisse Soerensens mittels seiner Formolmethode können wir bestätigen; außerdem haben wir einige von ihm nicht geprüfte Körper untersucht. Einfache Lösungen von Ammonsulfat, Glykokoll, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Asparaginsäure lassen sich mittels der Formolmethode genau titrieren.

Tyrosin ergibt, wie Soerensen bereits beobachtete, einen zu hohen Wert; dagegen läßt sich merkwürdigerweise das Glycyltyrosin glatt wie eine einbasische Säure titrieren.

Während das Guanin (als Aminooxypurin) sich auch titrieren läßt, verhält sich Xanthin als Dioxypurin völlig indifferent gegenüber Formolzusatz; ebenso Kreatin, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure, Phenol.

4. Die Wirkung des Formaldehyds wurde nun bei Lösungen geprüft, welche Ammonsulfat und Aminosäuren zugleich enthielten. Da konnten wir nun aber gleich bemerken, daß eine Formoltitrierung zur Bestimmung des Aminosäuren-N in Gegenwart von NH_3 , also Verhältnisse, wie sie im Harn vorliegen, keine genauen Werte liefert; die zur Titration gebrauchte Menge $\frac{2}{5}$ -NaOH ist geringer, als es dem berechneten Säuregrad entspricht. Wie aus dem experimentellen Teile ersichtlich ist, trifft

¹⁾ Malfatti, Die Formoltitration der Aminosäuren im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 499, 1909. Unsere Versuche waren schon abgeschlossen, als die Arbeit von Malfatti erschien.

dies vor allem bei Verwendung von Glykokoll zu¹⁾; geringere Fehler erhält man mit Phenylalanin, Alanin, Asparaginsäure. Tyrosin, welches allein zu hohe Werte gibt, läßt sich hingegen mit Ammoniumsalzen gemischt, fast genau titrieren. Da man nun gerade mit Glykokoll im Harn selbst zu rechnen hat,²⁾ ist diese Bestimmungsweise eben unzulässig.

5. Die Ammoniumsulfat und Aminosäuren enthaltenden Lösungen wurden nun folgendermaßen behandelt: Das Ammoniak wird mittels der von Spiro³⁾ angegebenen Modifikation der Folinischen Methode bestimmt und dabei ausgetrieben, die zurückbleibende Flüssigkeit filtriert und das Filtrat für die Formoltitrierung verwendet. Nach diesem Vorgang erhielten wir exakte Werte. Hierauf führten wir auch Bestimmungen im Harn aus, mit oder ohne Aminosäurezusatz und kamen zu ganz befriedigenden Resultaten.

Methode zur Aminosäurenbestimmung im Harn.

25 oder 50 ccm Harn werden in einem hohen, schmalen Standgefäß mit 10 bis 20 ccm einer gesättigten Barytlösung und 10 bis 15 ccm Alkohol versetzt. Das Ammoniak wird nach Spiros Vorschrift durch einen kräftigen Luftstrom ausgetrieben, in $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ aufgefangen und bestimmt. Nach Ablauf von etwa 3 bis 4 Stunden fängt die Flüssigkeit an zu schäumen, ein Beweis dafür, daß der Alkohol zum größten Teil entfernt ist; zur völligen Austreibung des Ammoniaks genügen schon 2 Stunden. Die im Standgefäß zurückgebliebene Lösung wird quantitativ in einen Meßkolben herübergespült und auf 100 ccm, wenn nötig 200 ccm, mit dest. Wasser aufgefüllt. Das Spülwasser braucht vorher nicht frisch gekocht zu sein. Nach

¹⁾ Diese Lösungen geben die Biuretreaktion nicht; dies spricht gegen die Annahme, daß bei der Reaktion Glycinimid sich gebildet haben könnte. (Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 1095, 1902. — Schiff, Annal. d. Chem. 319.)

²⁾ Embden und Marx, Über das Glykokoll des normalen Harnes. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 308, 1908. — Abderhalden und Schittenhelm, Über den Gehalt des normalen Menschenharns an Aminosäuren. Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 340, 1906.

³⁾ Spiro, Zur Methodik der Ammoniak- und Harnstoffbestimmungen im Harn. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 481, 1907.

gründlichem Durchschütteln läßt man die Lösung kurze Zeit stehen, bis der Niederschlag sich gesetzt hat, und filtriert. Vom klaren Filtrat werden je zwei Proben von 40 ccm resp. 90 ccm entnommen. Die erste Probe, die mit einigen Tropfen einer alkoholischen Rosolsäurelösung versetzt wird, dient zur Bestimmung der für die Neutralisierung nötigen Menge $\frac{n}{s}$ -HCl.

Der Umschlag ist am deutlichsten erkennbar, wenn zuerst ein geringer Überschuß von Säure zugegeben wird, und man dann mit $\frac{n}{s}$ -NaOH zurücktitriert, bis 1 Tropfen Lauge wieder eine rote Farbnuance hervorruft. Der zweiten Probe wird diese nun bekannte Menge $\frac{n}{s}$ -HCl zugesetzt und dann 10 ccm einer 40%igen, mit Phenolphthalein und NaOH neutralisierten Formollösung hinzugefügt. Die wieder sauer gewordene Flüssigkeit titriert man mit Phenolphthalein und $\frac{n}{s}$ -NaOH bis zu rotvioletter Farbe. Die gebrauchten ccm $\frac{n}{s}$ -NaOH geben durch eine einfache Berechnung die Menge des Aminosäuren-N an.

Etwas genauer ist es noch, wenn man das erhaltene Resultat mit einer Kontrollprobe von Aq. dest. + Formol vergleicht.

Die Formollösung muß vor jedem Versuch wieder genau neutralisiert werden.

Experimenteller Teil.

Der Raumersparnis wegen geben wir nur vereinzelte unserer Bestimmungen wieder. Sie wurden alle meist mehrfach mit dem gleichen Resultat ausgeführt. Unsere ersten Untersuchungen lassen wir weg, da sie kein befriedigendes Ergebnis hatten.

ad 2. Die mit einer Pipette abgemessene Lösung von bekanntem Substanzgehalt¹⁾ wird in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben gebracht, genau neutralisiert (Phenolphthalein)

¹⁾ Ammonsulfat, Glykokoll, Hippursäure, Asparaginsäure sind Präparate von Kahlbaum. — Kreatin, Guanin stammen von Merck. — Alanin, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Glycyl-l-tyrosin wurden von dem einen von uns nach den von Fischer und seinen Mitarbeitern angegebenen Methoden dargestellt. Dieselben Präparate wurden schon von Abderhalden und Gigon angewendet. Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 251, 1907. — Xanthin wurde uns freundlichst von Dr. Bloch zur Verfügung gestellt.

und mit 10 ccm neutralem Formol versetzt. — Kontrolle: entsprechende Menge Aq. dest. + 10 ccm Formol + Phenolphthalein.

		ccm $\frac{1}{5}$ -NaOH	
		berechnet	erhalten
20 ccm $\frac{1}{10}$ -Ammonsulfatlösung	. . . 20,0	19,7	Spur rosa 19,75 rot 19,80 rot-violett
30 " " " "	. . . 30,0	29,5	erhalten durch Titra-
40 " " " "	. . . 40,0	39,5	tion bis zu rot-vio-
			letter Farbe
10 " " Glykokollösung 5,0	4,35	
20 " " " " 10,0	9,7	
30 " " " " 15,0	14,2	

ad 3. 2 Proben: erste Probe in alkalischer Lösung mit Rosolsäure und $\frac{1}{5}$ -HCl neutralisiert (= x ccm $\frac{1}{5}$ -NaCl); zweite Probe + x ccm $\frac{1}{5}$ -HCl + 10 ccm Formol neutr. mit Phenolphthalein titriert.

		ccm $\frac{1}{5}$ -NaOH	
		berechnet	erhalten
10 ccm $\frac{1}{10}$ -Ammonsulfat ¹⁾	10,0	10,0
20 " " " "	20,0	19,95
5 " " Glykokoll	2,5	2,5
10 " " " "	5,0	4,90
20 " " " "	10,0	10,0
30 " " " "	15,0	14,7
5 " " Alanin	2,5	2,5
10 " Alanin (= 38,228 mg)	2,14	2,15
20 " " (= 73 mg)	4,06	4,0
20 " Leucin (36,7 mg)	1,30	1,25
5 " Phenylalanin (1% alk.)	1,51	1,45
5 " Asparaginsäure (1% alk.)	1,80	1,90
10 " " "	3,59	3,50 Fehler
5 " Tyrosinlösung (0,2624 % alk.)	0,36	0,50 + 0,14
10 " " " "	0,72	0,85 + 0,13
20 " " " "	1,44	1,70 + 0,26
10 " Glycyl-l-tyrosin 0,5 %	1,04	1,0
25 " " " "	2,6	2,55
10 " Guanin (60,4 mg) alk.	2,0	1,95

10 ccm alkal. Xanthinlösung ($0,025\frac{1}{100}$) nachträglich neutralisiert, gibt mit Formolzusatz keine Veränderung der Reaktion; wie Xanthin verhalten sich Harnsäure, Hippursäure, Kreatin, Harnstoff, Carbonsäure.

ad 4. Bestimmungsmethode wie bei 3.

¹⁾ Ebenfalls gute Resultate erhält man mit Chlorammonium.

		ccm $\frac{2}{5}$ -NaOH		
		berechnet	erhalten	
20 ccm $\frac{2}{10}$ -Ammonsulfat	+ 10 $\frac{2}{10}$ -Glykokoll	25,0	22,9	
5 " "	" + 20 " "	15,0	13,9	
40 " "	Schwefelsäure + 10 " "	25,0	25,2	Fehler
10 " "	Ammonsulfat + 10 ccm Alaninlösg.	12,1	11,6	- 0,5
5 " "	" + 10 " Leucinlösg.	5,65	5,55	
5 " "	" + 5 " Asparin säurelösg.	6,8	6,45	- 0,35
5 " "	" + 10 " Tyrosinlösg.	5,5	5,5	
5 " "	" + 20 " "	6,0	5,95	
5 " "	" + 30 " "	6,5	6,60	
10 " "	" + 5 " Phenylalaninlösg. 1 $\frac{0}{10}$	11,5	10,9	- 0,6
10 " "	" + 10 " "	13,0	11,8	- 1,2
10 " "	" + 20 " "	16,06	13,7	- 2,36
10 " "	" + 10 " Glycyltyrosin	11,0	10,5	- 0,5
5 " "	" { + 10 " Guaninlösg.	7,0	6,6	- 0,4
5 " "	" { + 10 " Xanthin	5,0	4,95	
5 " "	Glykokoll + 5 " $\frac{2}{10}$ -Alanin	5,5	4,6	
10 " "	Phenylalanin			

ad 5.

		NH ₃ in ccm $\frac{2}{10}$ -H ₂ SO ₄		Aminosäure in ccm $\frac{2}{5}$ -NaOH	
		be-rechnet	er-halten	be-rechnet	er-halten
10 ccm $\frac{2}{10}$ -Ammonsulfat	+ 15 ccm $\frac{2}{10}$ -Glykokoll	20,0	20,0	7,5	7,6
10 " "	Ammonsulfat + 10 ccm Alaninlösung	20,0	20,0	11,4	11,4
10 " "	Ammonsulfat + 10 ccm Asparaginsäure 1 $\frac{0}{10}$	20,0	20,7	3,59	3,62
5 " "	Ammonsulfat + 10 ccm Phenylalanin	10,0	9,8	3,03	3,00
5 " "	Ammonsulfat { + 30 ccm Leucin	10,0	9,0	2,21	2,25
	{ + 10 " Alanin				

Aminosäure in ccm $\frac{2}{5}$ -NaOH
Harn + Aminosäure
Harn allein berechnete erhalten

25 ccm Harn	+ 10 ccm $\frac{2}{10}$ -Glykokoll	3,0	8,0	8,0
10 " "	+ 15 " Alaninlösg.	1,15	3,22	3,2
10 " "	+ { 30 " Leucin	0,75	2,96	3,12
	{ 10 " Alanin			
20 " "	+ 25 " Leucin	1,50	2,17	2,12
	5 " Ammonsulfat			
25 " "	+ 10 " $\frac{2}{10}$ -Alanin	0,50	10,5	10,0
	10 " " Glykokoll			

Zur Kenntnis der Placentaenzyme.

Von

Walther Löb und Shigeji Higuchi.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 26. September 1909.)

Bei der Bedeutung, welche die Placenta für das Gedeihen des Foetus und den Stoffwechsel zwischen ihm und dem mütterlichen Organismus besitzt, ist es verständlich, daß der Aufklärung ihrer Funktionen eingehende wissenschaftliche Arbeit gewidmet worden ist. Im Anschluß an die Entwicklung der Enzymchemie ist zumal in der letzten Zeit versucht worden, durch chemische Methodik die Rollen der einzelnen, in der Placenta wirksamen Enzyme zu erkennen. Eine solche Untersuchung ist durch die drüsige Beschaffenheit des Organs in Analogie zu andern drüsigen, enzymreichen Organen besonders geboten und von mehreren Forschern ausgeführt worden. Von dem Plane ausgehend, die einzelnen Enzyme bzw. ihre Wirkungen auf chemischem Wege voneinander zu trennen, mußten wir zuerst die bisherigen Angaben, die sich zum Teil widersprechen, einer eingehenden und einwandfreien Prüfung unterziehen. Sie hat einen größeren Umfang angenommen, als wir zuerst beabsichtigten, und eine Reihe neuer Resultate ergeben, so daß sie als Grundlage für die eben erwähnte speziellere chemische Aufgabe angesehen werden kann. Derselben paßten wir insofern sogleich die Methodik unserer Versuche an, als wir die letzteren stets mit frischem Placentabrei und einem nach der noch zu beschreibenden Methode gewonnenen, trocknen Placentapulver ausführten. Die Bearbeitung des frischen Placentabreies machte für uns die gesonderte Prüfung von Preßsaft der

Placenta oder ihrem Glycerinextrakt unnötig, da in dem Organbrei zweifellos sämtliche Placentaenzyme, die in den Preßsaft oder den Extrakt gelangen können, vorhanden sind.

Aus den Befunden mit dem trocknen Placentapulver gewannen wir einerseits ein Bild über die Widerstandsfähigkeit der einzelnen Enzymarten gegenüber chemischen Eingriffen, andererseits bedeuteten sie einen Schritt auf dem Wege, die Enzymwirkungen durch chemische Trennungsmethoden voneinander zu scheiden.

Die Enzyme, auf deren Gegenwart wir Placentabrei und Placentapulver untersuchten, sind die folgenden:

Katalasen und Oxydasen, Kohlenhydrat-, Eiweiß-, Fettspaltende Enzyme, Urease, Desamidase. Unsere Versuche, die Tätigkeit synthetisch wirkender Enzyme festzustellen, verliefen resultatlos.

Deshalb wollen wir schon hier kurz bemerken, daß wir vergeblich die Synthese der Hippursäure aus Glykokoll und Benzoesäure einerseits und, nach den Angaben von Abelou und Ribaut¹⁾, aus Glykokoll und Benzylalkohol andererseits versucht haben.

In einer zweiten Mitteilung wird Higuchi noch über den Nachweis eines Fibrin- und Labenzym in der Placenta berichten. An dieser Stelle sei eine Beobachtung erwähnt, die für die Aufgabe der Enzymtrennung Interesse verdient. Aus dem alkoholischen Extrakt der blutfreien Placenta lassen sich durch alkoholische Mangan- und Eisenchlorürlösungen mehr oder weniger aktive Niederschläge erzielen. Die Manganfällung besitzt ein deutliches hämolytisches Vermögen, das den Eisenfällungen abgeht.

Bezüglich der prinzipiellen Anordnung ist noch folgendes zu erwähnen:

Es ist wahrscheinlich, worauf Higuchi²⁾ schon früher hingewiesen hat, daß das die Placenta durchströmende Blut in seinem Enzymgehalt von dem normalen Blut abweicht und in seinen Enzymwirkungen im Zusammenhang mit den Wirkungen der Placenta steht. Es wird also zweifellos eine Untersuchung des Placentablutes auf seine Enzyme sowohl für sich

¹⁾ *Malys Tierchemie* 30, 977, 1900.

²⁾ *Diese Zeitschr.* 15, 95, 1908.

als auch im Zusammenwirken mit den Placentaenzymen zur Klärung der Frage erforderlich sein. Für unsere Aufgabe aber war es wesentlich, um zunächst ein klares Bild über die Funktionsmöglichkeiten der Placenta zu gewinnen und die Untersuchung nicht vorzeitig zu komplizieren, das Blut vollständig auszuschließen. Wir verkennen dabei nicht, daß das Blut auch ohne Rücksicht auf seine eigenen Enzyme lediglich als „Medium“ für die Placentaenzyme von großer Bedeutung sein kann. In einzelnen Versuchen haben wir, um der Rolle des Blutes als Reaktionsmedium nahe zu kommen, mit Lösungen, die etwa die Blutalkalescenz besaßen, gearbeitet, und bei der Prüfung auf Urease und Desamidase auch das Placentablut berücksichtigt.

Experimenteller Teil.

A. Herstellung von Placentabrei.

Die normalen Placenten, von denen für die vorliegende Untersuchung über 130 verbraucht wurden,¹⁾ gelangten unmittelbar nach der Geburt, unter Beobachtung peinlichster Sterilität, in sterilen Schalen zur Bearbeitung. Sie wurden sofort mit steriler 0,9%iger Kochsalzlösung, der 1 Vol.-% Toluol zugesetzt war, überschichtet und unter der Flüssigkeit von Nabelschnur, Eihäuten und den an der Oberfläche anhaftenden Blutcoagula befreit. Sodann brachten wir die Placenten unter fortwährender Spülung mit Toluolkochsalzlösung durch eine sterilisierte Fleischhackmaschine und mischten den resultierenden Brei in einer großen, starkwandigen Glasflasche mit etwa der fünffachen Menge der Toluolkochsalzlösung. Durchschnittlich lieferte eine Placenta 300 ccm Brei, auf den 1500 ccm der Lösung verwandt wurden. Zur Entfernung des trotz des Waschens noch vorhandenen Blutes, dessen Gegenwart sich durch die typischen Blutreaktionen verriet, schüttelten wir den Brei viermal je ca. 30 Minuten auf der Schüttelmaschine

¹⁾ Herrn Prof. Koblanok, dem dirigierenden Arzt der gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses, möchten wir auch an dieser Stelle unsern herzlichsten Dank aussprechen für das Interesse an unserer Arbeit, das er durch wertvolle Anregung und durch die bereitwillige Überlassung des Materials bekundete.

mit nach jedesmaliger Schüttelung erneuerter Toluolkochsalzlösung. Bei den zwischen den einzelnen Schüttelungen stattfindenden Filtrationen durch ein feines Sieb wurden kleine, noch vorhandene Blutcoagula sorgfältig mit der Pinzette mechanisch entfernt. Nach dieser Behandlung zeigte der Brei eine nahezu weiße Farbe.

Von diesem so möglichst blutfrei gemachten Brei wurden sofort nach beendigter Bearbeitung, nachdem er auf dem Sieb durch Aufdrücken mittels Spatels von der anhaftenden Toluolkochsalzlösung, die fast wasserklar ablief, befreit war, 50 g abgewogen und verwandt, so daß die Versuche stets wenige Stunden nach der Geburt der Placenta angesetzt waren. Ältere Placenten wurden nicht gebraucht, weil keine Sicherheit gegen das Auftreten autolytischer Vorgänge besteht und, wie die Versuche zeigten, bei auch nur kurze Zeit aufbewahrten Placenten (z. B. von Nachtgeburten) eine vollständige Befreiung von Blut unausführbar wurde.

Für die einzelnen Versuche wurden stets 50 g Placentabrei (ungefähr 50 ccm) mit wechselnden Mengen 0,9%iger Kochsalzlösung unter Zusatz von 1 Vol.-% Toluol (auf das Volumen der ganzen Mischung bezogen) und der zur Untersuchung gewählten Substanz mit etwa 3 g reinem Quarzsand in einer Porzellanreischale gründlich zu einem möglichst homogenen Brei zerrieben und in einem geeigneten Gefäß bei Brutttemperatur während bestimmter Zeiten in den Thermostaten gebracht.

Diese Vorbehandlung blieb bei den einzelnen Versuchen die gleiche, so daß ihre jedesmalige Beschreibung in der Mitteilung der Resultate unterbleiben kann.

B. Herstellung von Placentapulver.

Zur Darstellung des blutfreien Placentapulvers wurde der durch die Hackmaschine getriebene, nach den obigen Angaben behandelte Brei viermal mit Toluolkochsalzlösung und zweimal mit Toluolwasser (1 Vol.-%) in der Schüttelmaschine je eine halbe Stunde geschüttelt. Im Gegensatz zu dem bei der Gewinnung des Placentabreies benutzten Verfahren, bei welchem alle Prozeduren bei Zimmertemperatur vorgenommen wurden, erwies es sich bei der sehr mühevollen Darstellung des Pulvers

als notwendig, alle diese Schüttelungen mit eiskalten Flüssigkeiten in Eispackung vorzunehmen. Der nach jeder Schüttelung auf dem Sieb abgepreßte und von Blutcoagula mechanisch mittels der Pinzette befreite Brei wurde nach der letzten Schüttelung mit Toluoleiswasser und dem Abpressen von letzterem in einer starkwandigen Glasflasche mit 1 l gewöhnlichem Alkohol (für eine Placenta) übergossen und bei Zimmertemperatur 6 Stunden auf der Maschine geschüttelt. (Die Zeit, z. B. nachts, während welcher der Schüttelapparat nicht arbeitete, wurde nicht in Rechnung gebracht.) Sodann wurde nach der Filtration der Alkohol durch Aceton ersetzt und diese Mischung gleichfalls 6 Stunden geschüttelt. Die nunmehr nahezu weiße, vom Aceton filtrierte Substanz unterwarfen wir schließlich einer etwa 3 Stunden währenden Extraktion mit Äther im Soxhlet. Der Rückstand wurde nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur sorgfältig mit dem Mörser zerrieben und durch ein feines Sieb (Universalsieb Nr. 5) gebracht. Das durchgesiebte nahezu weiße Pulver, das frei von Blut ist, kam in abgewogenen Mengen, suspendiert in Toluolwasser, zum Versuche.

Bezüglich der allgemeinen Anordnung der Versuche sei noch erwähnt, daß stets unter Zusatz von 1 Vol.-% Toluol gearbeitet wurde, da nach S. Higuchi¹⁾ Prüfung der Antiseptica diese Menge für 48 Stunden eine sichere Sterilität gewährleistet. Bei länger dauernder Digerierung wurde täglich 0,1 Vol.-% Toluol — bezogen auf die Gesamtmenge der Versuchsflüssigkeit — hinzugefügt.

Versuche.

1. Katalase und Oxydase.

Bekanntlich enthält Blut Katalasen und Oxydasen, so daß bei der Prüfung der Placentaenzyme nur solche Substanz verwendet werden durfte, die sich chemisch und spektroskopisch als vollkommen blut- und hämoglobinfrei erwies.

Zu dem Zweck wurde der nach der mitgeteilten Vorschrift erhaltene Placentabrei noch mehrmals mit der Toluol-Kochsalzlösung gründlich ausgewaschen.

¹⁾ Diese Zeitschr. 17, 21, 1909.

Der frische, weiße, blutfreie Placentabrei zersetzt eine H_2O_2 -Lösung momentan unter Schaumbildung, die aber etwas geringer ist als die durch bluthaltige Placentastückchen erzeugte.

Auch das Placentapulver zersetzt unter ziemlich lebhafter Gasentwicklung H_2O_2 , so daß wir den Wirkungswert der in ihm enthaltenen Katalasen bzw. Oxydasen in dem von Löb¹⁾ angegebenen Druckapparat zur Wertbestimmung der Katalasen messen konnten. In 10 ccm 3 vol.-%iger H_2O_2 -Lösung erzeugten 0,04 g Pulver in 2 Stunden einen Maximaldruck von 8,3 bis 8,5 mm Quecksilber.

Die positiven Angaben von Charrin und Goupil²⁾, Savaré³⁾ und Ferroni⁴⁾ über das Vorkommen von Oxydasen in der Placenta können wir bestätigen. Sowohl Brei wie Pulver rufen sofortige Bläuung der Wasserstoffperoxydlösung in Gegenwart von Guajac oder essigsäurem Benzidin hervor.

Die Oxydasenreaktion des Placentapulvers wird durch dreistündiges Trocknen bei 100° nicht zerstört, wohl aber die Katalasenreaktion. Nach zwölfstündigem Trocknen bei 100° tritt auch die erstere nicht mehr auf. Kochen des Pulvers mit Wasser vernichtet nach 5 Minuten die H_2O_2 -zersetzenden Enzyme, während Kochen mit Alkohol nur die Katalase unwirksam macht.

Bezüglich der Isolierung der Katalasen bemerken wir nur, daß auch der im Vakuum getrocknete Alkoholextrakt des blutfreien Placentabreies, der bei der Darstellung des trocknen Pulvers gewonnen wird, so wie die aus dem Alkoholextrakt durch alkoholisches Manganchlorür entstehende Fällung die Zersetzung von Wasserstoffperoxyd herbeiführen.

Kocht man Placentabrei mit Wasser 10 Minuten über freiem Feuer, so hat der Filtrerrückstand der Abkochung sein katalytisches Vermögen gegenüber der H_2O_2 -Lösung verloren, während die Bläuung nach Zusatz von Guajac oder Benzidin die Wirksamkeit von Oxydasen noch anzeigt.

Die Placenta enthält also — frei von Blut — im frischen und trocknen Zustand Katalasen und Oxydasen. Dieselben bleiben bei der wiederholten Vorbehandlung mit Kochsalzlösung bzw. Wasser in der Organsubstanz, so daß sie derselben entweder sehr fest anhaften oder in Wasser schwer löslich sind.

Die Katalasen werden von Alkohol leicht aufgenommen und lassen sich mittels Manganchlorürs in Form manganhaltiger Niederschläge aus der alkoholischen Lösung ausfällen. Diese Fällungen zeigen, wie bereits erwähnt, hämolytische Eigenschaften.

1) Diese Zeitschr 18, 339, 1908.

2) Compt. rend. 142, 595, 1903.

3) Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141, 1907.

4) Jahresber. f. Geburtsh. u. Gynäkol. 20, 617, 1906.

2. Kohlenhydrate abbauende Enzyme.

a) Diastatische Enzyme.

I. Spaltung der Stärke.

Das Vorhandensein eines diastatischen Enzyms in der Placenta ist bereits von einer ganzen Reihe von Forschern — Cramer und Lochhead¹⁾, Charrin und Goupil²⁾, Nattan-Larrier und Ficaï³⁾, Liepmann und Bergell⁴⁾, Savaré⁵⁾ — festgestellt worden. Wir konnten auch in mehreren Versuchsanordnungen mit frischem Brei und trockenem Pulver die positiven Resultate bestätigen.

Wir verfahren dabei in der Weise, daß wir Pulver und Brei in den aus den Tabellen ersichtlichen Mengenverhältnissen mit 0,5%iger Stärkelösung 24 Stunden im Brutschrank digerierten und gleichzeitig Kontrollversuche, einmal unter Ersatz der Stärkelösung durch Wasser, dann bei Fehlen der Placentasubstanz gleichzeitig unter gleichen Bedingungen machten. Die Zuckerbildung ließ sich polarimetrisch mit Sicherheit konstatieren. Trotzdem wurde auch das Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung quantitativ ermittelt; bei den Versuchen mit Brei wurde lediglich die letztere Bestimmung ausgeführt.

Die Verarbeitung zur Polarisation geschah hier, ebenso wie in allen späteren Fällen, in denen nichts besonders erwähnt ist, in der folgenden Weise:

15 ccm der filtrierten Reaktionslösung wurden nach beendigtem Versuch in ein Maßkölbchen von 25 ccm pipettiert, und nach dem Vorschlag von Michaelis und Rona⁶⁾ mit etwa 5 ccm kolloidaler Eisenhydroxydlösung und einigen Tropfen einer 10%igen Magnesiumsulfatlösung versetzt und mit destilliertem Wasser auf 25 ccm aufgefüllt. Das wasserklare Filtrat gelangte in einem 9,47 cm langen Rohr, das bei unserem auf $\frac{1}{100}^{\circ}$ genau ablesbaren Halbschattenapparat im Drehungswert sogleich die Hälfte des Prozentgehaltes an Traubenzucker angibt, zur Polarisation. Bei der Eindeutigkeit der Resultate beschränken wir uns auf die Wiedergabe der direkt abgelesenen Daten.

Für die Reduktionsversuche verwandten wir bei Anwendung des Pulvers 40 ccm des Filtrates und versetzten es mit 5 ccm der kolloidalen Eisenhydroxydlösung und 1 ccm der Magnesiumsulfatlösung. 20 ccm des wasserklaren Filtrates wurden mit 40 ccm Fehlingscher Lösung 6 Minuten über freiem Feuer gekocht und das ausgeschiedene Kupferoxydul im Tiegelfilter über Asbest in der üblichen Weise ausgewaschen,

¹⁾ Journ. of Physiol. 34, 24, 1906.

²⁾ Compt. rend. soc. biol. 142, 595, 1906.

³⁾ Bioch. Centralbl. 7, 398, 1909.

⁴⁾ Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 46.

⁵⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141, 1907.

⁶⁾ Diese Zeitschr. 7, 329; 13, 121; 14, 476, 1908.

bei 110° im Toluolbad bis zum konstanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Bei den mit Placentabrei ausgeführten Versuchen ermöglichte die größere Flüssigkeitsmenge die Verarbeitung eines größeren Volumens des Filtrats. 100 ccm desselben befreiten wir mit 20 ccm Eisenhydroxydlösung und 2 ccm Magnesiumsulfatlösung vom Eiweiß und benutzten 20 ccm des Filtrats zur Bestimmung des Reduktionswertes in der eben geschilderten Weise.

In den Tabellen sind die Wägungsergebnisse ohne weitere Umrechnung angegeben. Dieselbe erübrigt sich bei der Eindeutigkeit der Resultate und dem Umstand, daß es uns zunächst nicht auf die Feststellung von Reaktionsgeschwindigkeiten ankam.

Die für die analytische Bearbeitung nicht benutzten Reste der Filtrate wurden zur weiteren qualitativen Sicherstellung der Resultate zur Darstellung der Osazone benutzt. Je 20 ccm der Filtrate versetzten wir mit 0,5 g Phenylhydrazinchlorhydrat und 1 g Natriumacetat, filtrierten nach der Lösung und erwärmten die Proben genau 1 Stunde im siedenden Wasserbade. Nach der Abkühlung gab die Osazonbildung ein deutliches, auch quantitativ abschätzbares Bild für die diastatische Wirksamkeit.

Alle Versuche wurden stets in genau gleicher Weise doppelt ange stellt und ausgeführt. Die Daten der Tabelle I geben vier voneinander unabhängige Versuchsreihen wieder.

Tabelle I.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Polarisationswerte in Grad			
1.	0,5% ige Stärkelösung	50 ccm	0,25	0,23	0,28	0,25
	Pulver	0,5 g				
	Toluol	0,5 ccm				
2.	Aq. dest.	50 ccm	0,00	0,00	0,00	0,00
	Pulver	0,5 g				
	Toluol	0,5 ccm				
3.	0,5% ige Stärkelösung	50 ccm	0,08	0,08	0,08	0,05
	Toluol	0,5 "				

Tabelle II.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Cu ₂ O in g	Osazonbildg.
1.	0,5% ige Stärkelösung	50 ccm	0,0306	reichlich
	Pulver	0,5 g	0,0304	"
	Toluol	0,5 ccm		
2.	Aq. dest.	50 ccm	0,0024	Spur
	Pulver	0,5 g	0,0022	"
	Toluol	0,5 ccm		
3.	0,5% ige Stärkelösung	50 ccm	0,0020	nichts
	Toluol	0,5 "	0,0024	"

Tabelle III.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu ₂ O in g	Osazonbildg.	
1.	Brei	50 g	0,0324	reichlich
	0,5%ige Stärkelösung	50 ccm	0,0332	"
	0,9%ige NaCl-Lösung	150 "		
	Toluol	2,5 "		
2.	Brei	50 g	0,0020	Spur
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 ccm	0,0032	"
	Toluol	2,5 "		
3.	0,5%ige Stärkelösung	50 "	0,0012	nichts
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 "	0,0010	"
	Toluol	2,5 "		

Aus den Versuchsergebnissen, die keiner weiteren Erläuterung bedürfen, geht das Vorhandensein eines Stärke hydrolysierenden Enzymes im blutfreien Placentabrei und im blutfreien Pulver unzweideutig hervor.

II. Spaltung von Glykogen.

Higuchi¹⁾ hat vor kurzem in der Placenta die Gegenwart von Glykogen, die von mehreren anderen Autoren bereits beobachtet worden ist, bestätigt. Bei der Rolle des Glykogens als des Reservematerials für Kohlenhydrate, die durch seine Spaltung entstehen, ist es wahrscheinlich, daß ein Organ, das Glykogen enthält, auch das diastatische Enzym besitzt, um es als Zucker für den Organismus nutzbar zu machen. Die bisherigen Angaben über das Vorkommen eines glykogenspaltenden Enzyms in der Placenta lauten widersprechend. Cramer und Lochhead²⁾ fanden positive, Savaré³⁾ negative Resultate.

Nach dem Nachweis des stärke-spaltenden Enzyms konnte aber mit Sicherheit geschlossen werden, daß das Glykogen gleichfalls hydrolysiert werden würde, da nach Musculus' und v. Mehrings⁴⁾ Versuchen die Diastasen sich gegenüber Stärke und Glykogen gleich verhalten. Doch schien es uns wegen der

¹⁾ Diese Zeitschr. 15, 95, 1908.

²⁾ Moscati, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 386, 1907. — Bot-tazzi, Biochem. Centralbl. 2, 568, 1904. — Cramer und Lochhead, Journ. of Physiol. 34, 24, 1906.

³⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141, 1907.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 403, 1879.

Verschiedenheit der bisherigen Resultate wünschenswert, durch den direkten Versuch den Nachweis der Glykogenspaltung zu bringen.

Die Prüfung, die genau nach den für die Stärkespaltung gegebenen Vorschriften ausgeführt wurde, erstreckte sich auf die Bestimmung des Reduktionsvermögens und die Osazondarstellung. Die Ergebnisse beweisen unzweideutig das Vorhandensein eines Glykogen hydrolysierenden Enzyms, gleichzeitig auch die früheren Angaben über das Vorkommen von Glykogen in der Placenta. Dasselbe geht aus dem gegenüber den pulver- und breifreien Kontrollproben erhöhten Reduktionsvermögen und der Menge des erhältlichen Osazons — Erscheinungen, die auch bei den in den Tabellen II und III mitgeteilten Versuchen über die Stärkespaltung beobachtet wurden — hervor. Glykogen sowie die es zerlegende Diastase, die mit der Stärkediastase identisch sein dürfte, sind nicht nur im Brei, sondern auch im trockenen Placentapulver zugegen.

Tabelle IV.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Cu ₂ O in g	Osazonbildg.
1.	Glykogen	0,2 g	0,0148	reichlich
	Pulver	0,5 "	0,0150	"
	Aq. dest.	50 ccm		
	Toluol	0,5 "		
2.	Pulver	0,5 g	0,0022	wenig
	Aq. dest.	50 ccm	0,0028	"
	Toluol	0,5 "		
3.	Glykogen	0,2 g	0,0012	nichts
	Aq. dest.	50 ccm	0,0014	"
	Toluol	0,5 "		

Tabelle V.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Cu ₂ O in g	Osazonbildg.
1.	Brei	50 g	0,0124	reichlich
	Glykogen	0,2 "	0,0138	"
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 ccm		
	Toluol	2,5 "		
2.	Brei	50 g	0,0028	wenig
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 ccm	0,0020	"
	Toluol	2,5 "		
3.	Glykogen	0,2 g	0,0016	nichts
	0,9%ige NaCl-Lösung	250 ccm	0,0022	"
	Toluol	2,5 "		

b) Spaltung des Inulins (Inulase).

Das Inulin gehört zu den schwer spaltbaren Kohlenhydraten, wie die Untersuchungen von Komanos¹⁾, Richaud²⁾, Portier und Bierry³⁾ u. a. zeigen. Enzymwirkungen auf Inulin hat Kobert⁴⁾ bei wirbellosen Tieren festgestellt. Unsere Versuche zeigten uns, daß auch die Placenta eine Inulase enthält, daß es aber nicht gelingt, dieselbe in wirksamer Form in das trockene Placentapulver überzuführen. Eine größere Anzahl von Versuchen, in denen wir das Pulver wiederholt bei wechselnder Zeitdauer einwirken ließen, gaben stets übereinstimmend negative Resultate. Bei Anwendung des Placentabreies erhielten wir regelmäßig eine beträchtliche Erhöhung des Reduktionsvermögens. Die Osazonprobe gab uns das gleiche positive Ergebnis.

Die Technik der Ausführung blieb die bei den diastatischen Versuchen geübte; nur mußte wegen der Schwerspaltbarkeit des Inulins die Einwirkungsdauer, um sichere Resultate zu gewinnen, auf 3 und 4 Tage ausgedehnt werden. Jedoch wurde in den letzten 24 Stunden eine Zunahme der Spaltung nicht mehr beobachtet. Die Erhöhung der Versuchsdauer war auch durch die Schwerlöslichkeit des Inulins geboten.

Tabelle VI.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		Cu ₂ O in g				Osa- zonbil- dung
			nach 3 Tagen		nach 4 Tagen		
1.	Brei	50 g	0,0092	0,0090	0,0078	0,0082	stets reich- lich
	Inulin	1 "					
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 ccm					
	Toluol	2,5 "					
2.	Brei	50 g	0,0022	0,0020	0,0024	0,0018	stets Spu- ren
	0,9%ige NaCl-Lösung	200 ccm					
	Toluol	2,5 "					
3.	Inulin	1 g	0,0020	0,0026	0,0024	0,0020	stets nichts
	0,9%ige NaCl-Lösung	250 ccm					
	Toluol	2,5 "					

¹⁾ Über die Verdauung des Inulins und seine Verwendung beim Diabetes mellitus. Dissert., Straßburg 1875.

²⁾ Compt. rend. soc. biol. 52, 416, 1900.

³⁾ Compt. rend. soc. biol. 53, 810, 1901.

⁴⁾ Pflügers Archiv. 99, 116, 1903.

c) Invertase.

Die Angaben über das Vorkommen einer Invertase in der Placenta rühren von Liepmann und Bergell¹⁾, Savaré²⁾ und Raineri³⁾ her. Alle lauten übereinstimmend negativ.

Tabelle VII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu ₂ O in g und Osazonbildung					
		nach 2 Tagen		nach 3 Tagen		nach 4 Tagen	
1.	Brei 50 g	0,0232	reichlich	0,0174	reichlich	0,0130	reichlich
	Rohrzucker 1 g	0,0152	"	0,0132	"	0,0144	"
	0,9%ige NaCl-Lösung 200 ccm Toluol 2,5 "						
2.	Brei 50 g	0,0022	Spur	0,0024	Spur	0,0026	Spur
	0,9%ige NaCl-Lösung 200 ccm Toluol 2,5 "	0,0018	"	0,0014	"	0,0018	"
3.	Rohrzucker 1 g	0,0032	fast nichts	0,0032	fast nichts	0,0036	fast nichts
	0,9%ige NaCl-Lösung 250 ccm Toluol 2,5 "	0,0025	"	0,0030	"	0,0038	"

Wir konnten in zahlreichen Versuchen mit stets dem gleichen Resultat nachweisen, daß im Placentabrei eine Invertase wirksam ist, während sie im trockenen Pulver fehlt. Auf die Wiedergabe der negativen Versuche, die durchgängig keine Erhöhung des Reduktionsvermögens gegenüber den Kontrollversuchen ergaben, verzichteten wir. Bei den mit Brei ausgeführten Versuchen haben wir uns auf die Mitteilung der direkt gefundenen Kupferoxydumengen ohne Umrechnung auf die Gesamtmenge der Mischung begnügt, da dieselbe zur Entscheidung der hier vorliegenden Frage ausreicht. Die Daten sind um so mehr beweisend, als beim Kochen der Kontrolllösungen mit Fehlingscher Lösung aus nicht erkannten Gründen geringe Mengen eines unlöslichen blauen Kupferhydroxyds ausfielen, die sich mit $\frac{1}{2}$ l heißen Wassers nicht auswaschen ließen. Wir haben ihre Menge durch einen besonderen Versuch zu etwa 0,001 g festgestellt, so daß das Reduktionsvermögen der

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 46.

²⁾ l. c.

³⁾ Biochem. Centralbl. 4, 428, 1906.

mit Brei behandelten Rohrzuckerlösung gegenüber sowohl der brei-freien als auch der rohrzuckerfreien, aber Brei enthaltenden Flüssigkeit etwa um das 8fache gestiegen ist. Außerdem konnten wir durch die Osazonprobe mit Sicherheit in allen Versuchen das Vorhandensein einer Invertase im Placentabrei feststellen.

Bezüglich der in der letzten Horizontalreihe der Tabelle angegebenen Kupferoxydmengen bemerken wir, daß der von Kahlbaum bezogene Rohrzucker Spuren von Substanzen enthielt, die Fehlingsche Lösung reduzierten.

d) Spaltung des Milchzuckers (Lactase).

Liepmann und Bergell¹⁾ glauben aus dem Auftreten eines in heißem Wasser schwer löslichen Osazons nach der Einwirkung eines Placentabreies auf verdünnte Milchzuckerlösung auf die Gegenwart eines nicht sehr starken, wie Lactase wirkenden Enzyms schließen zu müssen. Nach unseren Versuchen ist weder im blutfreien Placentabrei noch im Pulver eine Lactase vorhanden.

Wir konnten mit Sicherheit nachweisen, daß die Polarisationswerte der Mischungen nach den längere und wechselnde Zeiten durchgeführten Digerierungen keine Änderung erleiden, vorausgesetzt, daß man das Schwinden der Multirotation der Milchzuckerlösung bis zum konstanten Endwert abgewartet hat. Diese negativen Ergebnisse wurden durch Gärungsversuche bestätigt. Es entsteht kein Zucker, der nach Ent-eiweißung der Versuchsmischung durch äußerst wirksame Hefenreinzucht zur alkoholischen Gärung zu bringen ist. Die Versuche mit den durch Kochen unwirksam gemachten Placentastoffen verliefen genau so, wie die mit dem frischen Brei bzw. dem Pulver angestellten.

e) Das glykolytische Enzym.

Die Feststellung der Gegenwart oder des Fehlens eines glykolytischen Enzyms, das Hexosen zum Verschwinden bringt, bietet besonderes Interesse. Santi und Acconci²⁾, Raineri³⁾ und Mirto⁴⁾ fanden keine Anzeichen für sein Vorhandensein, während Liepmann und Bergell⁵⁾ zu der Annahme seines Vorkommens in der Placenta neigen.

Da unsere Versuche mit Pulver und Brei sichere negative Resultate gaben, so sei hier nochmals darauf hingewiesen, daß

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 46.

²⁾ Biochem. Centralbl. 3, 192, 1905.

³⁾ Biochem. Centralbl. 4, 428, 1906.

⁴⁾ Nach Angabe von Savaré, l. c.

⁵⁾ l. c.

ein vollständiges Bild über die Tätigkeit der Placenta nur bei gleichzeitiger Berücksichtigung des Placentablutes, der in ihm vorhandenen Enzyme und des durch das Blut geschaffenen Mediums für die Placentaenzyme gewinnbar ist. Jedoch ist es experimentell notwendig, das Zusammenwirken der äußerst komplizierten Funktionen zunächst nach Möglichkeit zu vermeiden und ihre experimentell sicher definierbaren Bestandteile gesondert zu prüfen.

Nachdem die Versuche mit Placentapulver und Traubenzucker vollkommen negative Resultate ergeben hatten, versuchten wir, ob durch Änderung des Mediums durch Zusatz einer der Blutalkalescenz entsprechenden Menge Alkali, oder, um oxydative Zerstörung des Zuckers herbeizuführen, durch Zugabe von Wasserstoffperoxyd mit und ohne Alkali sich ein sicheres Ergebnis konstatieren ließ. Das war nicht der Fall. Da außerdem der eine von uns (Löb¹) durch besondere Versuche gefunden hatte, daß selbst ganz verdünnte Alkalien (3/100) Traubenzucker weitgehend zu spalten vermögen, mußten die letzterwähnten Versuche bis zur Klarstellung der rein chemischen Verhältnisse zurückgestellt werden.

Wir haben deshalb die Versuche mit Placentabrei ohne Zusatz von Alkalien und Wasserstoffperoxyd ausgeführt und konnten unter diesen Bedingungen mit Sicherheit das Fehlen eines glykolytischen Enzyms feststellen.

50 g Placentabrei wurden mit 2,5 g Traubenzucker in 200 com 0,9% iger Kochsalzlösung unter Zugabe von 2,5 com Toluol 6 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen. Sodann wurde ein Teil der Flüssigkeit filtriert, 25 com des Filtrates durch 10 com kolloidaler Eisenhydroxydlösung und 1 com 10% iger Magnesiumsulfatlösung enteiweißt, auf 50 com aufgefüllt und von dem Filtrat 20 com zur Bestimmung des Reduktionswertes in der geschilderten Weise verwandt. Den noch im Versuchsgefäß verbleibenden Rest der Mischung ließen wir nun bestimmte Zeiten (s. d. Tabelle) im Thermostaten bei 37,5° digerieren und ermittelten die Kupferoxydulmenge genau so, wie vor der Digestion. In allen Fällen fanden wir nach Beendigung der Versuche eine geringe Zunahme des Kupferoxyduls, die mit großer Wahrscheinlichkeit — wofür auch die Größe der Zunahme spricht — auf die hydrolytische Spaltung des in der Placenta vorhandenen Glykogens zurückzuführen ist. Da auch die Polarisation der enteiweißten Lösung, die zur Bestimmung des Reduktionsvermögens diente, keinerlei Abnahme des Traubenzuckergehaltes er-

¹) Diese Zeitschr. 20, 516, 1909.

kennen ließ, so müssen wir schließen, daß ebensowenig, wie im trockenen Placentapulver, im blutfreien, frischen Placentabrei ein glykolytisches Enzym unter den gewählten Bedingungen wirksam ist.

Die Resultate mehrerer Versuche geben wir in der folgenden Tabelle:

Tabelle VIII.

Nummer		Dauer der Digestion:									
		1 Tag		2 Tage		3 Tage		4 Tage		5 Tage	
		Cu ₂ O g	Polarisation Grad	Cu ₂ O g	Polarisation Grad	Cu ₂ O g	Polarisation Grad	Cu ₂ O g	Polarisation Grad	Cu ₂ O g	Polarisation Grad
1.	Vor der Digestion	0,1966	0,27	0,1918	0,24	0,1910	0,26	0,2048	0,25	0,2152	0,25
	Nach d. Digestion	0,2040	0,25	0,1932	0,25	0,1984	0,25	0,2116	0,25	0,2218	0,26
	Differenz . . .	+ 0,0074		+ 0,0014		+ 0,0074		+ 0,0068		+ 0,0066	
2.	Vor der Digestion	0,2218	0,26	0,2142	0,28	0,2210	0,27	0,2111	0,25	0,2086	0,28
	Nach d. Digestion	0,2294	0,27	0,2200	0,30	0,2244	0,27	0,2194	0,25	0,2156	0,27
	Differenz . . .	+ 0,0076		+ 0,0058		+ 0,0034		+ 0,0083		+ 0,0070	
3.	Vor der Digestion			0,2388	0,30	0,2418	0,31	0,2404	0,30	0,2350	0,28
	Nach d. Digestion			0,2440	0,29	0,2504	0,29	0,2492	0,28	0,2384	0,29
	Differenz . . .			+ 0,0052		+ 0,0086		+ 0,0088		+ 0,0034	

Ebenso fielen alle Versuche über ein auf Lävulose glykolytisch wirksames Enzym negativ aus, ein Ergebnis, das bei der bekannten, weit leichteren Angreifbarkeit der Lävulose im Vergleich zur Dextrose nicht ohne weiteres vorauszusehen war.

Fassen wir die Ergebnisse über die Kohlenhydrate abbauenden Enzyme der Placenta kurz zusammen, so können wir folgendes feststellen:

1. Eine Stärke und Glykogen hydrolysierende Diastase ist sowohl im trocknen Placentapulver als auch im frischen, blutfreien Placentabrei sicher vorhanden.

2. Eine Spaltung des Inulins (Inulase) konnten wir mit Sicherheit mit Placentabrei, nicht aber mit dem Placentapulver erzielen.

3. Eine Invertase ist im Placentabrei vorhanden, nicht im Pulver.

4. Ein Milchzucker invertierendes Enzym ist im Placentapulver und Placentabrei nicht vorhanden.

5. Ein glykolytisches (Dextrose oder Lävulose zerstörendes) Enzym ließ sich weder im Placentabrei noch im Pulver nachweisen.

3. Fettspaltende Enzyme (Lipasen).

Auch die Angaben über das Vorkommen einer Lipase in der Placenta sind widersprechend. Nattam-Larrier und Ficai¹⁾ und Savaré²⁾ behaupten ihre Gegenwart, Raineri³⁾ sowie Liepmann und Bergell⁴⁾ bestreiten sie.

Zur Prüfung wurde Butter in Äther gebracht und die klare ätherische Schicht getrocknet. Von dem noch flüssigen Butterfett brauchten wir 2 ccm mit 1 g Placentapulver und 0,5 ccm Wasser im Reagenzglas zusammen, verrieben die Mischung mittels Glasstabes und setzten einige Tropfen Toluol zu. Nach 24 bis 48 stündiger Digestion bei 37,5° wurde die neutrale Mischung zunächst mit Äther extrahiert. Das nach Verdunsten des Äthers zurückbleibende Fett erteilte beim Schütteln mit Wasser demselben keine saure Reaktion. Auch die Ausätherung der vom Neutralfett befreiten, mit Salzsäure angesäuerten Mischung lieferte keine Spur einer Fettsäure.

Ebenso negativ verliefen die Versuche mit frischem Placentabrei, von dem 50 g mit 10 ccm Butter, 200 ccm Kochsalzlösung und 2,5 ccm Toluol 1 bis 2 Tage digeriert wurden. Die Prüfung auf Fettsäuren war die gleiche wie bei Verwendung des Pulvers.

Wir müssen also schließen, daß weder im Pulver noch im Placentabrei eine Lipase enthalten ist.

4. Eiweißspaltende Enzyme.

Auch über die wichtige Frage, ob in der Placenta proteolytische Enzyme sind, haben die bisherigen Untersuchungen keine sichere Entscheidung gebracht. Liepmann und Bergell, Raineri, Savaré und Ascori⁵⁾ behaupten ihre Gegenwart ebenso sicher, wie Charrin und Goupil, Nattan-Larrier und Ficai, Cramer und Lochhead⁶⁾ sie bestreiten.

Wir haben Pulver und Brei auf den Gehalt an peptisch wirkendem Enzym — Spaltung von Albuminen zu Albumosen —, an tryptisch wirkendem Enzym — Spaltung von Pepton zu Tyrosin — und auf Erepsinwirkung geprüft.

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ Biochem. Centralbl. 4, 428, 1906.

⁴⁾ l. c.

⁵⁾ Centralbl. f. Physiol. 16, 124, 1903.

⁶⁾ Die hier nicht bezeichneten Literaturstellen sind bereits erwähnt.

Zum Nachweis der Pepsinwirkung benutzten wir nur das Pulver, da der positive Ausfall der Versuche eine Wiederholung mit Placentabrei überflüssig machte. Als Eiweißkörper diente uns reinstes Casein, das wir in den in der Tabelle angegebenen Mengenverhältnissen in vier Versuchsreihen mit den Kontrollproben 24 Stunden bei 37° der Einwirkung des Pulvers aussetzten.

Nach beendiger Digestion reagierte das Filtrat des Hauptversuches stets deutlich sauer, 10 ccm gebrauchten zur Neutralisation 0,5 ccm $\frac{2}{10}$ -NaOH. Das Filtrat des caseinfreien Versuches war neutral, während das der ohne Placentapulver angesetzten Probe für 10 ccm nur 0,05 ccm $\frac{2}{10}$ -NaOH verlangte. Das erste Filtrat zeigte nach 10facher Verdünnung ausgeprägte, die beiden anderen Filtrate in gleicher Verdünnung kaum merkliche Biuretreaktion. Zur quantitativen Bestimmung wurden je 10 ccm der Filtrate nach Kjeldahl auf den Gehalt an gelösten Stickstoffverbindungen geprüft. Die Resultate zeigt die folgende Tabelle, in welcher die durch das Ammoniak verbrauchte $\frac{2}{10}$ -Schwefelsäure direkt angegeben ist.

Tabelle IX.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Verbrauchte $\frac{2}{10}$ -H ₂ SO ₄ ccm			
1.	Pulver 0,5 g Casein 0,5 g Aq. dest. 50 ccm Toluol 0,5 ccm	8,0	8,3	7,5	7,9
2.	Pulver 0,5 g Aq. dest. 50 ccm Toluol 0,5 ccm	1,0	0,8	0,9	0,8
3.	Casein 0,5 g Aq. dest. 50 ccm Toluol 0,5 ccm	1,1	1,0	1,1	1,2

Durch diese Versuche ist die peptische Wirksamkeit der Placenta erwiesen, ein Ergebnis, das mit der Angabe von Ascori übereinstimmt, dergelunden hat, daß blutfreie Placenta am stärksten in saurer Lösung proteolytisch wirksam sei. Auch seine weiteren Beobachtungen, daß in neutraler Lösung eine Eiweißspaltung nur in geringem Umfange, in alkalischer Lösung kaum stattfindet, entsprechen den folgenden Resultaten unserer Versuche.

Zur Feststellung einer tryptischen Wirkung verwandten wir die Bildung von Tyrosin aus Wittepepton. Da Versuche mit dem Placentapulver nicht zum Ziele führten, beschränken wir uns auf die Wiedergabe der mit Placentabrei ausgeführten Prüfungen.

50 g Placentabrei wurden mit 2 g Wittepepton in 100 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung unter Zusatz von 1,5 ccm Toluol gleichzeitig mit einer ebenso zusammengesetzten Kontrollprobe, aber ohne Pepton, in den Thermostat bei 37,5° gestellt.

Nach 24 Stunden wurden beide Proben in genau gleicher Weise behandelt. Nach der Filtration fällten wir durch Aufkochen unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure, filtrierten, fügten Bleiessig bis zur vollendeten Fällung hinzu und befreiten das Filtrat mittels Schwefelwasserstoffs vom gelösten Blei. Das klare Filtrat vom Bleisulfid wurde auf ein kleines Volumen eingedampft und 24 Stunden bei Eistemperatur aufbewahrt.

Der unter Zusatz von Pepton ausgeführte Versuch lieferte eine reichliche Krystallisation von Tyrosin, dessen Identität durch seine Eigenschaften sichergestellt wurde, während die Kontrollprobe nur eine sehr geringe Tyrosinabscheidung ergab. Dieselbe ist nach den Versuchen von Bassow¹⁾ auf isogene Bildung durch Autolyse, welche außer Albumosen und Purinbasen auch Tyrosin und Leucin erzeugt, zurückzuführen.

Die Wirkung eines Erepsins, das durch sein peptonspaltendes Vermögen in alkalischer Lösung ausgezeichnet ist, hat Savaré in der Placenta beobachtet, während Cramer und Lochhead nach gründlicher Prüfung die Gegenwart eines solchen Enzyms bestreiten. Wir haben, uns Savarés Angaben anschließend, nach der Vorschrift von Jacoby²⁾ und Rosell³⁾ die Erepsinlösung dargestellt, konnten aber mit Pulver und vollständig blutfreiem Brei nur die negativen Ergebnisse von Cramer und Lochhead bestätigen. Wir verfahren in der folgenden Weise:

300 g des sorgfältig vom Blut befreiten Placentabreies (aus einer Placenta) wurden mit 300 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung in einem Porzellanmörser mit Quarzsand innig zu einer gleichmäßig feinen Emulsion verrieben. Nach 2stündigem Schütteln auf der Maschine wurde der Brei durch ein Koliertuch gepreßt und die abgelaufene, noch trübe Flüssigkeit durch Filtrieren mittels Faltenfilters geklärt. Nach 12stündigem Stehen im Kühlraum fällten wir die nochmals filtrierte Lösung mit Uranacetat durch tropfenweisen Zusatz, solange noch ein Niederschlag entstand. Der letztere wurde auf einem glatten Filter durch ganz allmähliche Zugabe von 160 ccm einer 0,2%igen Sodalösung gelöst und das abtropfende Filtrat nach 12stündigem Stehen nochmals filtriert. 100 ccm des Filtrates wurden in der folgenden Weise zu den Versuchen benutzt, die nicht nur nach Savarés Angabe auf 12 Stunden, sondern auf 24 Stunden ausgedehnt wurden. 50 ccm versetzten wir mit 1 ccm

¹⁾ Arch. f. Gynäkologie 76, 162, 1905.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 135, 1900.

³⁾ Über Nachweis u. Verbreitung intracellulärer Fermente. Dissertation, Straßburg 1901.

einer 1^o/₁₀igen Wittepeptonlösung, verteilten sie gleichmäßig auf 5 Reagensgläser, die in den Thermostaten bei 37,5° gebracht wurden. Die restierenden 50 ccm wurden gleichfalls auf 5 Reagensgläser verteilt, aber ohne Zusatz der 1^o/₁₀igen Peptonlösung.

Im Laufe der 24stündigen Versuchsdauer entnahmen wir in geeigneten Intervallen je ein Reagensglas dem Thermostaten, fügten bestimmte Volumina konzentrierter Natronlauge und sehr verdünnter Kupfersulfatlösung hinzu und stellten gleichzeitig in je einem der Reagensgläser, welche die peptonfreie Flüssigkeit enthielten, in genau derselben Weise die Biuretreaktion an, nachdem unmittelbar vorher die entsprechende Menge Wittepepton — d. h. für jedes Reagensglas 0,2 ccm der 1^o/₁₀igen Lösung — zugesetzt war. Der so ermöglichte unmittelbare Vergleich der Intensität der Biuretreaktionen in der Versuchsflüssigkeit und den Kontrollösungen, in denen die ganze Menge des Peptons unverändert zugegen sein mußte, ließ während der ganzen Versuchsdauer keine Spur einer Erepsinwirkung erkennen. In allen Fällen war die Intensität der Biuretreaktion genau die gleiche.

Zusammenfassend läßt sich daher über die eiweißspaltenden Enzyme der Placenta sagen, daß solche von der Wirkungsform des Pepsins im Pulver und im frischen Brei enthalten sind, daß im letzteren ein das Eiweiß bis zum Tyrosin abbauendes Enzym wirksam ist, während irgend ein Anzeichen für die Gegenwart eines Enzyms vom Typus des Erepsins im blutfreien Brei nicht beobachtet werden konnte.

5. Urease und Desamidase.

Savaré¹⁾ gibt an, in der Placenta ein aus Aminverbindungen Ammoniak abspaltendes Enzym gefunden zu haben. Er verwandte zu seinen Versuchen Glykokoll, Asparagin und Glykosaminchlorhydrat und bestimmte nach 10- bis 30tägiger Digestion die Menge des gebildeten Ammoniaks. Wir haben unsere Versuche unter Anwendung von Harnstoff und Glykokoll mit vollständig blutfreiem und mit bluthaltigem Placentabrei 3 bis 7 Tage durchgeführt unter besonderer Kontrolle der vollständigen Sterilität der Mischung.

Um diese zu erreichen, war außer dem ersten Zusatz von Toluol beim Ansetzen der Versuche ein täglich zu erneuernder Zusatz von je $\frac{1}{10}$ Vol.-Prozent der Mischung an Toluol erforderlich. So gelang es, bei der täglich vorgenommenen Prüfung eines Tropfens des Gemisches auf

¹⁾ l. c.

Bouillonagar nach 3tägigem Verweilen im Brutschrank ein vollständiges Ausbleiben einer Bakterienentwicklung zu erzielen.

Bei Anwendung des blutfreien Breies setzten wir 150 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung zu. Die bluthaltige Placenta wurde für die zweite Versuchreihe nicht gewaschen, sondern nach dem Abpräparieren der Eihäute durch die sterilisierte Fleischhackmaschine getrieben und sogleich zum Versuche verwandt. Wir wählten in diesem einen Falle die Gegenwart des Blutes, um jedes Auswaschen der Placenta und den Einwurf zu vermeiden, daß die vielleicht leicht lösliche Urease bzw. Desamidase durch die Entblutungsprozesse entfernt worden ist. Der bluthaltige Placentabrei wurde mit 250 ccm der Kochsalzlösung im Versuch angesetzt.

Nach Beendigung der Digerierung filtrierten wir die mit blutfreiem Brei angesetzten Mischungen, versetzten 100 ccm des Filtrates mit 25 ccm kolloidaler Eisenhydroxydlösung und 2 ccm Magnesiumsulfatlösung, filtrierten abermals und wählten 50 ccm des klaren Filtrates zur Analyse; Nach Zusatz von noch 50 ccm Wasser und 2 g Magnesia usta wurde bei 15 mm Quecksilberdruck aus einem Wasserbad von 43° bis zur Trockne destilliert und im Destillat das Ammoniak bestimmt.

Die Analysen bei den mit bluthaltigem Brei ausgeführten Versuchen wurden genau in der gleichen Weise ausgeführt. Nur gelangten entsprechend der größeren Menge Kochsalzlösung 200 ccm des ersten Filtrates zur Entweißung und 100 ccm des klaren Filtrates zur Destillation.

Die Ammoniakbestimmungen wurden für je einen Tag der beiden Versuchsreihen nach der Schloesingschen¹⁾ Methode mit genau den gleichen Resultaten wiederholt.

Tabelle X.

Versuche mit blutfreiem Brei.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	ccm $\frac{n}{10}$ -H ₂ SO ₄ verbraucht zur Neutralisation des Ammoniaks nach					
		3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.	
1	Brei	50 g	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
	0,9%ige NaCl-Lösung	150 ccm					
	Toluol	2 ccm					
2	Brei	50 g	1,1	0,8	0,8	0,8	0,9
	Harnstoff	0,5 g					
	0,9%ige NaCl-Lösung	150 ccm					
	Toluol	2 ccm					
3	Brei	50 g	0,9	1,1	0,8	0,8	0,8
	Glykokoll	0,5 g					
	0,9%ige NaCl-Lösung	150 ccm					
	Toluol	2 ccm					

¹⁾ Fränkel, Descriptive Biochemie, S. 572.

Tabelle XI.
Versuche mit bluthaltigem Brei.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	ccm $\frac{2}{10}$ -H ₂ SO ₄ , verbraucht zur Neutralisation des Ammoniaks nach				
		3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	6 Tag.	7 Tag.
1	Brei	50 g				
	0,9%ige NaCl-L6sung	250 ccm	1,4	2,1	2,5	2,4
	Toluol	3 ccm				1,9
2	Brei	50 g				
	Harnstoff	0,5 g				
	0,9%ige NaCl-L6sung	250 ccm	1,5	2,2	2,5	2,1
	Toluol	3 ccm				2,4
3	Brei	50 g				
	Glykokoll	0,5 g				
	0,9%ige NaCl-L6sung	250 ccm	1,7	2,0	2,6	2,4
	Toluol	3 ccm				2,3

Aus den Ergebnissen dieser Versuche und der Kontrollproben glauben wir schließen zu m6ssen, da6 die bakterienfreie Placenta weder eine Urease noch eine Desamidase enth6lt.

Zusammenfassung.

Die blutfreie Placenta enth6lt im frischen und im trocknen Zustande Katalase und Oxydase sowie St6rke und Glykogen spaltende Diastase.

Inulase und Invertase sind hingegen nur im frischen Placentabrei wirksam, nicht im trocknen Pulver. Lactase, glykolytische und lipolytische Enzyme sind im frischen Brei und im trocknen Pulver nicht vorhanden. Enzyme von der Wirkungsart des Pepsins sind im Brei und im Pulver, solche, die Eiwei6 bis zum Tyrosin abbauen, nur im ersteren enthalten, w6hrend Enzyme vom Typus des Erepsins, der Urease und Desamidase fehlen.

Zur Kenntnis des Fibrinenzym der Placenta.

Von

Shigeji Higuchi.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses
zu Berlin.)

(Eingegangen am 26. September 1909.)

Die Zunahme des Fibrins im mütterlichen Blute während der Schwangerschaft ist seit längerer Zeit¹⁾ bekannt. Vor kurzem hat Arneth²⁾ die Leukocytenvermehrung (Hyperleukocytose) bestätigt. Als Bottazzi³⁾ einem Kaninchen Nucleoproteid der Placenta injizierte, trat Blutgerinnung ein. Im Zusammenhang mit diesen Befunden hat man zur Pathogenese der Eklampsie eine Blutgerinnung erregende Substanz herangezogen, zumal seit Schmorl⁴⁾ bei der Sektion zahlreicher Eklampsieleichen stets multiple Thrombose gefunden hat. Eine bedeutende Vermehrung an Fibrinogen im eklampsischen Blut hat neuerdings Dienst⁵⁾ nachgewiesen; Lewinski⁶⁾ glaubt während der Gravidität eine regelmäßige Steigerung des Fibrinogengehaltes annehmen zu müssen. Alle diese Beobachtungen und Anschauungen legen es nahe, die Placenta selbst im normalen und pathologischen Zustand auf die Gegenwart eines Fibrinenzym zu untersuchen. Die Ergebnisse von

¹⁾ Winkel, Handbuch der Geburtshilfe 1, 1. Hälfte, S. 341.

²⁾ Arch. f. Gynäkol. 74, 143.

³⁾ Biochem. Centralbl. 2, 568, 1904.

⁴⁾ Verhdl. d. Deutsch. Ges. f. Gynäk. 1901, 303 und Centralbl. f. Gynäk. 1905, 129.

⁵⁾ Arch. f. Gynäk. 86, 314, 1908.

⁶⁾ Pfügers Archiv 100, 611, 1903.

Savaré¹⁾, der diese Prüfung mit positivem Resultat ausgeführt hat, besitzen nach seinen eigenen Angaben nur relativen Wert, da der wichtige Umstand, daß die Placenta vollständig blutfrei sein muß, nicht genügend berücksichtigt wurde.

Ich habe deshalb mit dem Placentapulver und dem vollständig blutfreien Placentabrei, die nach den Vorschriften von Löb und Higuchi²⁾ gewonnen waren, Versuche über die Wirkung eines Fibrinenzym angestellt und auch das Placentablut gesondert in den Kreis der Untersuchung gezogen.

Die Gerinnungsversuche wurden an einer aus Pferdeblut gewonnenen Fibrinogenlösung angestellt. Zur Herstellung dieser Lösung habe ich gleiche Mengen von Oxalatplasma des Pferdeblutes und gesättigter Kochsalzlösung gemischt, das ausgeschiedene Fibrinogen in 0,8%iger NaCl-Lösung gelöst, durch das gleiche Volum gesättigter Kochsalzlösung wieder ausgeschieden und diese Auflösung und Fällung viermal wiederholt.

Das schließlich erhaltene Fibrinogen war rein weiß. Nach dem Abpressen zwischen Fließpapier stellte ich für die Gerinnungsversuche eine etwa 10%ige Fibrinogenlösung in 0,8%iger NaCl-Lösung her.

Sie zeigt geringe Opalescenz und gerinnt innerhalb 48 Stunden bei 37,5° weder allein noch nach Vermischung mit je 1 bis 2 g Glaspulver, Asbest oder Kieselgur.

Setzt man aber zu 10 ccm der Lösung 2 ccm Serum von Placentablut und 2 Tropfen Chlorcalcium-Lösung, so ist nach 10 bis 15 Min. vollständige Gerinnung eingetreten. Diese Beobachtung zeigt, daß man der Entfernung des Blutes bei der Herstellung des Placentapulvers und des Placentabreies die größte Sorgfalt zuwenden muß.

Meine Resultate, die alle bei Bruttemperatur gewonnen wurden, sind die folgenden:

1. Mischt man 10 ccm der Fibrinogenlösung mit 0,1 g des blutfreien Placentapulvers, so tritt nach 30 bis 60 Minuten — die aus verschiedenen Placenten gewonnenen Pulver beanspruchen etwas verschiedene Dauer — Gerinnung ein; nach 1 bis 2 Stunden ist die Mischung vollständig koaguliert. Beim Eintritt der Gerinnung ziehen sich deutlich sichtbare feine Fäden von den einzelnen Pulverpartikelchen aus durch die Flüssigkeit.

2. 0,02 g Pulver rufen nach 3 bis 4 Stunden in 10 ccm Fibrinogenlösung noch Gerinnung hervor.

3. Wurden 10 g Pulver mit 100 ccm Wasser oder 100 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung 2 Stunden geschüttelt, so erzeugen die Filtrate (10 ccm Filtrat + 10 ccm Fibrinogenlösung) nach 2 bis 3 Stunden Gerinnung der Fibrinogenlösung. Jedoch zeigten sich die auf dem Filter bleibenden Rückstände ebenso wirksam wie die Filtrate.

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 141, 1907.

²⁾ Diese Zeitschr., 22, 316, 1909.

Das Fibrinenzym läßt sich also mit Wasser und physiologischer Kochsalzlösung extrahieren, jedoch haftet es dem Pulver so fest an, daß die in den Versuchen erreichte Extraktion sehr unvollständig ist.

4. Wird das Placentapulver 3 Stunden bei 100° getrocknet, oder 5 Minuten mit Wasser über freiem Feuer gekocht, so verliert es seine Gerinnung erregende Wirkung.

5. Erwärmt man bei der Darstellung des Placentapulvers den Brei mit Alkohol auf dem Wasserbad, statt ihn mit Alkohol von gewöhnlicher Temperatur zu schütteln,¹⁾ so resultiert ein wirkungsloses Pulver.

6. Ebenso besitzt Pulver, das durch Trocknen der direkt zerkleinerten Placenta bei niedriger Temperatur hergestellt ist, also Blut und Extraktivstoffe enthält, nach dem Kochen mit Alkohol auf dem Wasserbad keine Wirkung.²⁾

7. Vollständig blutfreier, frischer Placentabrei (2 g auf 10 ccm Fibrinogenlösung) erzeugt nach 1 bis 2 Stunden Gerinnung.

Die geringste Spur Blut beschleunigt den Prozeß un-
gemein.

8. Durch Kochen des Placentabreis mit Wasser (5 Minuten) wird das Fibrinenzym zerstört.

9. Die aus Eklampsie- und Luesplacenten hergestellten Präparate verhalten sich bezüglich der Gerinnung erzeugenden Eigenschaft und ihrer Zerstörung genau so wie die aus normalen Placenten gewonnenen Präparate.

10. Schließlich verwandte ich die nach 3stündigem Schütteln von 10 g Pulver mit 0,9%iger Kochsalzlösung und nach zweimaliger Filtration gewonnene, noch etwas trübe, das Fibrinenzym enthaltende Flüssigkeit zu einigen Tierversuchen. Ein Kaninchen (2700 g), dem 35 ccm des Filtrates ganz langsam — eine wesentliche Versuchsbedingung — in die Ohrenrandvene mittels Spritze injiziert wurden, blieb ganz gesund. Das Resultat war dasselbe, als einem Kaninchen (2620 g) 35 ccm des in gleicher Weise aus Eklampsieplacentapulver hergestellten Filtrates und 3 Tage später 25 ccm eines aus Luesplacentapulver gewonnenen Filtrates injiziert wurden.

Zusammenfassend muß ich aus meinen Versuchen schließen, daß die Placenta ein Fibrinenzym enthält, das sich mit Wasser und physiologischer Kochsalzlösung, wenn auch unvollkommen, extrahieren läßt, das noch im trocknen Zustand stark wirksam und gegen höhere Temperatur und heißen Alkohol sehr empfindlich ist, und ferner, daß bezüglich des Fibrinenzyms zwischen

1) Diese Zeitschr. 22, 319, 1909.

2) Dieses Pulver hatte zu den in dieser Zeitschr. 15, 95, 1908, veröffentlichten Aschenanalysen gedient.

normalen, Eklampsie- und Luesplacenten kein Unterschied besteht.

Beiläufig möchte ich an dieser Stelle erwähnen, daß der frische, blutfreie Placentabrei (normal) in frischer Kuhmilch (1 g Brei auf 10 ccm Milch) unter Zusatz von 1 Tropfen 10⁰/₀iger Sodalösung in 2 bis 3 Stunden bei 37° Gerinnung hervorruft. Diese Labwirkung läßt sich aber mit dem Pulver (0,1 g auf 10 ccm Milch) in 24 Stunden nicht erzielen.

Ein Beitrag zur chemischen Zusammensetzung der Placenta.

II. Mitteilung. Aschenbestandteile.

Von
Shigeki Higuchi.

(Aus der biochemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 12. Oktober 1909.)

1. Einleitung und Analysenmethoden.

Nach dem Abschluß der in meiner ersten¹⁾ Mitteilung veröffentlichten Placentaanalysen fand ich alsbald in der chemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin Gelegenheit, die gleichen Placentapulver, welche den bereits publizierten Analysen gedient hatten, auf ihre Aschenbestandteile genauer zu untersuchen.

Eine Untersuchung der Placentaasche hat Gaube²⁾ mit dem Resultat ausgeführt, daß er in den Placenten nach der Geburt von Mädchen alle Bestandteile erhöht fand.

Ich führte die Analysen an 7 verschiedenen, lufttrockenen Placentapulvern aus.

a) Kalium und Natrium. In einer Platinschale wurde eine größere Menge des Pulvers vorsichtig bis zur Beendigung der Rauchentwicklung verkohlt, der Rückstand mehrmals mit heißem Wasser extrahiert und das Ungelöste abfiltriert. Den Filtrerrückstand glühte ich sodann für sich über dem Gebläse, bis er frei von schwarzen Partikelchen erschien, fügte nach dem Erkalten das Filtrat hinzu, dampfte auf dem Wasserbade zur Trockne ein und glühte nach längerem Verweilen des Schaleninhalts im Dampftrockenschrank, bis die Asche rein weiß erschien.

¹⁾ Diese Zeitschr. 15, 95, 1908.

²⁾ *Malys Tierchemie* 31, 582, 1901.

In ihr wurde nach der Vorschrift in Fränkels „Descriptiver Biochemie“¹⁾ zunächst die Summe von NaCl und KCl ermittelt, sodann letzteres in das Platinchloriddoppelsalz übergeführt und dessen Gewicht festgestellt.

b) Calcium und Magnesium. Nach der Veraschung des Pulvers führte ich das als oxalsaures Salz gefällte Ca²⁾ durch Glühen in CaO über. Das Magnesium wurde im Filtrat des oxalsauren Calciums als phosphorsaure Ammoniakmagnesia gefällt und in bekannter Weise als pyrophosphorsaures Mg gewogen.

c) Eisen. Zu seiner Bestimmung wurde das Pulver zunächst nach Neumanns Säuregemischverfahren verbrannt. Nach dem Verdünnen mit der 3fachen Menge Wasser und dem Verjagen der salpetersauren Dämpfe füllte ich die Flüssigkeit im Meßkolben auf 150 ccm mit Wasser auf. Von dieser Lösung wurden genau 20 ccm mit 1% iger Natronlauge neutralisiert, 5 ccm 5% ige Natriumpyrophosphatlösung hinzugefügt und die Flüssigkeit im Maßkölbchen mit Wasser auf 100 ccm gebracht. Zu dieser Lösung setze ich 3 Tropfen einer 5% igen Tanninlösung in 50% igen Alkohol. Die entstehende Färbung wurde im Duboscqschen Colorimeter gegen die einer Vergleichslösung mit bekanntem Eisengehalt ausgewertet. Zur Herstellung der letzteren diente eine reine Eisenchloridlösung, die im Liter 0,1 g Fe enthielt. 1 ccm (0,0001 g Fe) derselben wurde mit 94 ccm Wasser und 5 ccm der Natriumpyrophosphatlösung auf genau 100 ccm gebracht und, wie oben, mit 3 Tropfen der Tanninlösung versetzt.

2. Resultate.

Die Resultate der Analysen habe ich tabellarisch zusammengestellt unter der gleichen Bezeichnung der Pulver, wie in meiner ersten Mitteilung. Außer der Angabe des Prozentgehaltes an Aschenbestandteilen in den frischen Placenten, deren Gewichte ich vor der Herstellung der Pulver bereits ermittelt hatte, gebe ich auch die Umrechnung auf die trockenen Pulver, um die Beziehung der einzelnen anorganischen Substanzen zur Gesamtmenge der festen Substanzen zum Ausdruck zu bringen.

Die in der Tabelle niedergelegten Daten lassen folgende Schlüsse zu:

1. Die Placentaasche enthält am reichlichsten Na, ihm folgen in abnehmender Menge: Ca, K, Fe und Mg. Der Gehalt an letzterem ist regelmäßig der niedrigste.

2. Die mit Kochsalzlösung gewaschenen Placenten zeigen eine Abnahme sämtlicher Aschebestandteile; nur verursacht diese Prozedur natürlich keine Abnahme an Na.

¹⁾ Descriptive Biochemie 1907, 508.

²⁾ Ibid. S. 510, 518.

Tabelle.
 Zusammensetzung der Placenta (Aschenbestandteile).

Geschlecht der Neugeborenen	Placenta nicht mit Kochsalzlösung gewaschen										gewaschen			
	Name der Gebärenden	männlich					Mittel	weiblich				Mittel	Gesamt-Mittel	
		Kuroiwa	Ogawa	Matsui	Matsuoka	Ehara		Ishii						
Gewicht d. frischen Placenta, g	363	418	360	339	393	302	350	339	393	302	345	363	Fuji	421
% in der frischen Placenta	K	0,0323	0,0277	0,0288	0,0444	0,0334	0,0296	0,0444	0,0334	0,0402	0,0393	0,0345	0,0151	
	Na	0,1222	0,1023	0,1236	0,1370	0,1557	0,1167	0,1370	0,1557	0,1507	0,1478	0,1323	0,1390	
	Ca	0,0215	0,0155	0,0178	0,0232	0,0882	0,0183	0,0232	0,0882	0,1429	0,0844	0,0514	0,0131	
	Mg	0,0079	0,0072	0,0080	0,0089	0,0107	0,0077	0,0089	0,0107	0,0083	0,0093	0,0085	0,0039	
	Fe	0,0122	0,0143	0,0139	0,0103	0,0135	0,0135	0,0103	0,0135	0,0144	0,0117	0,0126	0,0018	
Gewicht des Pulvers, g	60,95	71,65	62,00	65,30	75,60	54,70	64,87	65,30	75,60	54,70	65,20	65,04	55,90	
% im Pulver	K	0,1926	0,1613	0,1673	0,2303	0,1734	0,1737	0,2303	0,1734	0,2221	0,2086	0,1912	0,1136	
	Na	0,7294	0,5968	0,7179	0,7113	0,8095	0,6810	0,7113	0,8095	0,8322	0,7843	0,7347	1,0469	
	Ca	0,1283	0,0906	0,1035	0,1208	0,4587	0,1075	0,1208	0,4587	0,7892	0,4562	0,2819	0,0987	
	Mg	0,0473	0,0419	0,0466	0,0461	0,0567	0,0453	0,0461	0,0567	0,0457	0,0459	0,0456	0,0293	
	Fe	0,0732	0,0835	0,0809	0,0533	0,0700	0,0792	0,0533	0,0700	0,0799	0,0677	0,0710	0,0136	

3. K, Na, Ca, Mg sind bei weiblichen Foeten in der Placenta reichlicher vorhanden als bei männlichem, während Fe gerade in der entgegengesetzten Richtung Unterschiede zeigt. Die verschiedenen Placenten zeigen in ihren Daten unerhebliche Schwankungen.

4. Nur das Calcium zeigt größere Unterschiede. Bei den Placenten von Ehara und mehr noch von Ishii beträgt der Ca-Gehalt ein mehrfaches gegenüber den in den andern Placenten gefundenen. Es handelt sich in diesen Fällen um verschiedene Grade von Kalkablagerung im Placentargewebe, die von Ishii¹⁾ bereits makroskopisch bei gleichzeitiger erheblicher Fibrinablagerung festgestellt worden ist.

5. Während der Mittelwert des Eisengehaltes sämtlicher nicht gewaschenen Placenten nach der Überführung in Pulverform 0,071% ist, erniedrigt sich dieser Wert durch Auswaschen im trocknen Pulver auf 0,0136%. Wahrscheinlich entspricht diese Differenz dem Eisengehalt des ausgewaschenen Blutes.

¹⁾ Vgl. diese Zeitschr. 15, 98, 1908, Tabelle I.

Über die Reversibilität der Hämolyse.

Von

Mentz L. von Krogh.

(Aus dem Laboratorium des städtischen Krankenhauses in Christiania.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1909.)

Mit 4 Figuren im Text.

Es ist vielfach darüber gestritten worden, ob die Bindungen zwischen denjenigen Stoffen, die bei den Immunisierungsprozessen gebildet werden, reversibel sind oder nicht.

Wie an anderer Stelle erwähnt¹⁾, geht der Hämolyse eine Bindung von Natronlauge bzw. Komplement voraus, und es lag daher nahe, zu untersuchen, ob diese Bindung auch mittels geeigneter Stoffe zu lösen sei.

Ich habe deswegen die Natronlauge durch die äquivalente Menge Salzsäure, das Komplement durch einen Überschuß von Antikomplement neutralisiert. Diese neutralisierenden Substanzen sind zu verschiedenen Zeitpunkten während der Inkubationszeit zugesetzt worden.

Es hat sich hier ein recht durchgreifender Unterschied zwischen der Hämolyse durch Natronlauge und der amboceptorbeladenen Blutkörperchen durch Komplement gezeigt.

a) Beeinflussung der Hämolyse durch Natronlauge mittels während der Inkubationszeit zugesetzter Salzsäure.

Um nun die Inkubationszeit und die Affinitäten abzustufen zu können, sind Versuche bei verschiedenen Temperaturen ausgeführt worden, indem sowohl bei 0° als bei 8° und 20° gearbeitet worden ist, Einen durchgreifenden Unterschied der Prozesse bei den verschiedenen Temperaturen gibt es zwar nicht, die Verhältnisse sind aber quantitativ recht verschieden.

¹⁾ Diese Zeitschr. 22, 132, 1909.

Behandlung des Blutkörperchensediments.

Zur Anstellung entsprechender Versuche wird, wenn das Blutkörperchensediment in den Zentrifugengläsern von der Flüssigkeit geschieden ist¹⁾, die Flüssigkeit möglichst von den Wänden des Glases abgetrocknet. Dann wird die entsprechende Menge Kochsalzlösung (2 ccm) zugegossen, und es wird untersucht, ob und im Falle eines positiven Ergebnisses wie weit die Blutkörperchen jetzt hämolysiert werden, indem das Verhältnis der Affinitäten sich gegenseitig verschoben hat.

Die Affinität zwischen Salzsäure und Natronlauge oder vielmehr zwischen den H- und OH-Ionen ist bei allen Temperaturen eine sehr große und wird in einem Temperaturintervall von 10° bis 20° nicht allzusehr schwanken; dagegen ist die Affinität der OH-Ionen zu den Blutkörperchen in weitgehendem Maße von der Temperatur abhängig und ein Vergleich der Kurven bei den verschiedenen Temperaturen gibt auch dieser Tatsache einen sehr deutlichen Ausdruck, indem die Kurve bei 0° viel flacher verläuft, als die Kurven bei 8° und bei 20°. Man sollte also erwarten, daß der Einfluß der OH-Ionen ein viel ausgeprägter bei 0° als bei 20° sei.

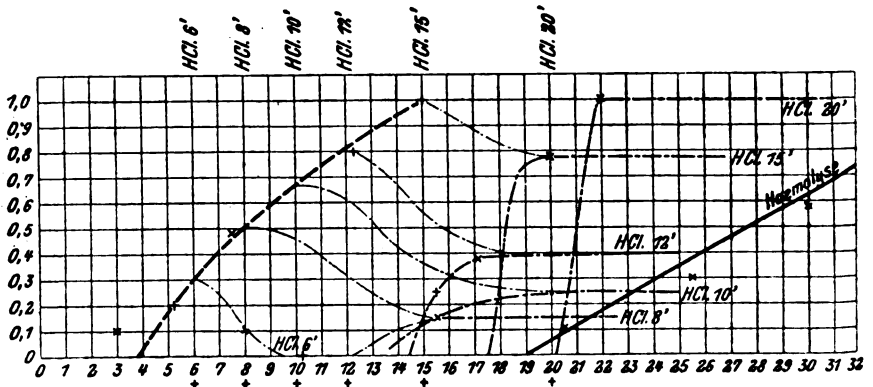


Fig. 1.

Dies ist auch der Fall. Zunächst soll die Kurve bei 8° zugrunde gelegt werden, denn bei dieser Temperatur läßt sich die Sachlage am besten überblicken (Kurve 1). Wenn hier

¹⁾ v. Krogh, Zur Stöchiometrie der Hämolysen. Diese Zeitschr. I. c;

Salzsäure nahe dem Ende der Inkubationszeit zugesetzt wird, wird die Geschwindigkeit der Hämolyse sehr erheblich beschleunigt. Nach dieser Zeit sind hinreichend Hydroxylionen an die Blutkörperchen gebunden, um sie komplett aufzulösen, und die Einwirkung der Salzsäure wird im Innern der Blutkörperchen sehr heftige Diffusionsströme hervorbringen, die wahrscheinlich in analoger Weise wie die Diffusionsströme in hypoisotonischer Salzlösung die Blutkörperchen zum Platzen bringen. Auch werden schon während der Inkubationszeit die Blutkörperchen durch die Einwirkung der OH Ionen so geschädigt sein, daß sie viel leichter platzen als sonst. Inwiefern diese beiden Momente oder nur eines sich hier geltend machen, wird dahinstehen müssen.

Je früher ich nun die Salzsäure in der Inkubationszeit hinzufüge, desto weniger steil wird die Geschwindigkeitskurve verlaufen; sie wird sich aber immer erheblich vor der normalen Kurve halten. Sie läuft aber jetzt nicht (wenigstens nicht während mehrerer Stunden) bis zur kompletten Hämolyse hinauf, sondern macht bei irgendeinem Bruchteil derselben Halt, und zwar ist dieser Bruchteil um so kleiner, je früher die Salzsäure zugesetzt wird. Schließlich hört die Hämolyse ganz auf; die Flüssigkeit bleibt noch nach mehreren Stunden farblos.

Wenn ich aber den auf diese Weise erreichten Hämolysegrad mit demjenigen vergleiche, der in der Bindungskurve der OH-Ionen dem Zeitpunkte entspricht, wo die Salzsäure zugesetzt wird, so zeigt sich, daß tatsächlich in der verstrichenen Zeit viel mehr OH-Ionen an die Blutkörperchen gebunden sind, als dem schließlich erreichten Hämolysegrad entsprechen. Die Salzsäure muß also die Bindung zwischen den Blutkörperchen und den Hydroxylionen gelöst haben und diese Bindung somit eine reversible sein. Ja, wenn die Bindung nicht eine sehr ausgiebige ist, kann sie ganz rückgängig werden, ohne daß die Blutkörperchen dadurch allzusehr geschädigt werden.

Wenn die Salzsäure hinreichend früh zugesetzt wird und die Bindung also keine zu vollständige ist, kann man durch Untersuchung des Blutkörperchensedimentes die Lösung der Hydroxylionen direkt verfolgen. Es zeigt sich, daß während der ersten zwei Minuten die Bindung der normalen Kurve gemäß weitergeht, dann biegt sie um und läuft schräg gegen die Abszisse,

um sich dem schließlichen Wert der endlich erreichten Hämolyse zu nähern. Bei den Versuchen, wo die Salzsäure so früh zugesetzt wurde, daß keine Hämolyse zustande kam, konnte ich anfänglich durch sofortiges Zentrifugieren noch die OH-Ionen an die Blutkörperchen gebunden finden, indem ich durch Zusetzen von Kochsalzlösung noch eine geringe Hämolyse zustande bringen konnte, die allmählich abnahm, um schließlich ganz zu verschwinden.

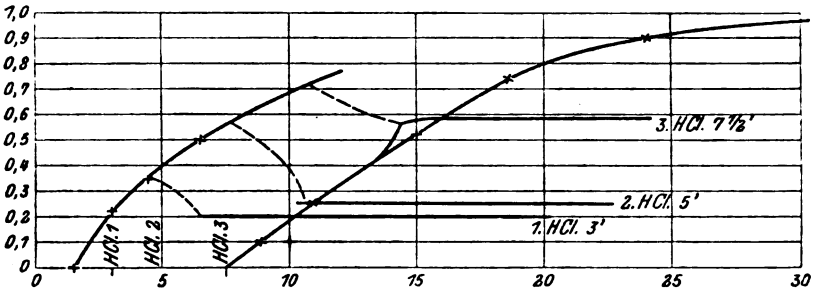


Fig. 2.

Es mag noch erwähnt werden, daß auch hier eine deutliche Inkubationszeit wahrzunehmen ist, nachdem die Salzsäure zugesetzt wird, die aber meistens ziemlich konstant ist und 1 bis 2 Minuten beträgt. Nach dieser Inkubationszeit fängt die Hämolyse an.

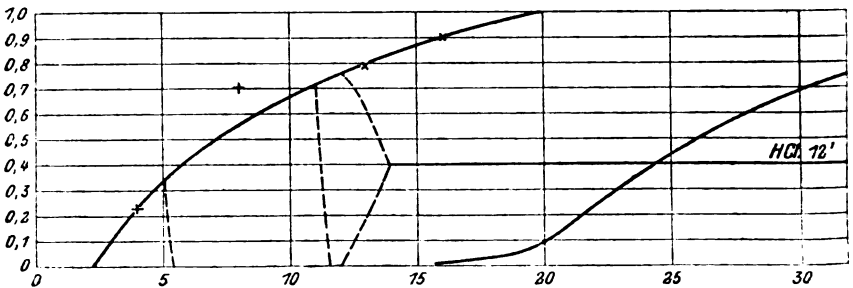


Fig. 3.

Vielleicht mag man diese Inkubationszeit als ein Maß für die Diffusionsgeschwindigkeit der H-Ionen in die Blutkörperchen hinein betrachten. Wenn wir jetzt die Kurven betrachten, die bei 0° bzw. 20° gewonnen sind, werden wir sehen, daß bei 0° (Kurve 2) die Reversibilität eine viel ausgeprägtere ist und die Bindung

der OH-Ionen in einem viel späteren Stadium der Inkubationszeit rückgängig gemacht werden kann als bei 8°. Bei 20° (Kurve 3) ist das Entgegengesetzte der Fall; hier ist die Reversibilität eine kleinere und die Salzsäure muß früher zugesetzt werden, um die Bindung ganz rückgängig zu machen.

b) Einwirkung von Antikomplement auf die Hämolyse der amboceptorbeladenen Blutkörperchen durch Komplement.

Um nun zu untersuchen, in wiefern die Wirkung der erzeugten Immunstoffe analog derjenigen einer Säure auf eine Base ist, wurde versucht, ob man dieselbe Wirkung auf das Komplement durch ein Antikomplement erhalten könnte.

Das Antikomplement wurde erzeugt, indem man einem Kaninchen Komplement, d. h. frisches Meerschweinchenblut intraperitoneal einverleibte. Das von diesem Kaninchen erhaltene Serum wurde, um das in demselben anwesende Komplement zu zerstören, eine halbe Stunde auf 56° erhitzt. Das so erhaltene Serum hemmte in einer Menge von 3 ccm vollständig die Hämolyse, die von 1 ccm Komplement erzeugt wurde. Dieses Verhältnis zwischen Komplement und Antikomplement wurde dann auch in den Versuchen benutzt.

Zunächst wurde auch hier die Bindungskurve während der Inkubationszeit untersucht und ebenso die Kurve der Hämolyse bei einer passenden Konzentration, die die Hämolyse weder zu schnell, noch zu langsam verlaufen ließ.

Es wurden 10 ccm 5%iger Blutkörperchenaufschwemmung angewandt, 0,15 ccm hämolytisches Serum und soviel 0,8%ige Kochsalzlösung, daß die Mischung 16 ccm enthielt. Am Anfang des Versuches wurde nun 1 ccm Komplement zugesetzt und dann in verschiedenen Serien zu verschiedenen Zeiten während der Inkubationszeit 3 ccm Antikomplementserum zugefügt, so daß das Gesamtvolum 20 ccm betrug.

Es zeigte sich nun (Kurve 4), daß es nicht gelang, die Bindung des Komplementes rückgängig zu machen, da die Hämolyse schließlich immer wenigstens den Betrag erreichte, dem die Bindung des Komplementes an die Blutkörperchen zu gegebenem Zeitpunkt entsprach. Ungefähr diesem Werte näherte die Hämolyse sich anfänglich schnell, später immer langsamer, um schließlich einigermassen asymptotisch zu verlaufen. Aber auch hier

wird die Hämolyse schneller verlaufen als bei dem normalen, ungestörten Verlauf der Reaktion. Die Bindung des Komplementes nach Hinzufügen des Antikomplementes verläuft in

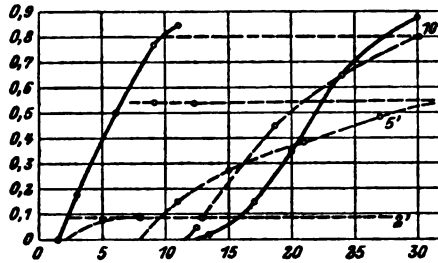


Fig. 4.

einer geraden Linie parallel zu der Abszisse, und verursacht nicht die Biegung nach abwärts, die sie mit NaOH und HCl machte.

Es ist also nicht gelungen, hier eine Reversibilität zu beobachten.

Auch hier kann man aber schließen, daß das Antikomplementserum in irgendeiner Beziehung zu dem Komplement stehen muß und daß nicht das Komplement nur mechanisch aus der Flüssigkeit entfernt wird.

Man erhält natürlich bei der Mischung von Komplement und Antikomplement einen Niederschlag, indem bei der Einverleibung des Meerschweinchenblutes in das Kaninchen auch Präcipitine gebildet werden und man konnte denken, daß das Komplement ganz einfach mechanisch mitgerissen wurde. Dies scheint nicht der Fall zu sein, denn das Antikomplement greift doch in das Mechanische der Hämolyse hinein.

Ehrlich hat bekanntlich angenommen, daß das Antikomplement sich direkt mit dem Komplement verbinde und sich so der cytophilien (oder nach seiner Anschauung amboceptorophilen) Gruppe bemächtige, so daß das Komplement sich nicht mehr mit der Amboceptor-Blutkörperchenverbindung verbinden kann. Dies mag richtig sein und die Beschleunigung des Verlaufes der Hämolyse kann durch Diffusionsströmungen herbeigeführt werden, indem die Bindung von Komplement und Antikomplement wenigstens teilweise innerhalb des Blutkörperchens

sich vollstreckt. Es scheint so zu sein, daß die Diffusionsgeschwindigkeiten sowohl des Komplementes, als der H- und OH-Ionen sehr große sind, indem die Blutkörperchen sowohl für Ionen als für Komplement durchlässig sind.

Weitere Schlüsse über die Natur der hämolytischen Prozesse aus den Reversionsversuchen zu ziehen, scheint mir nicht zulässig zu sein. Vielleicht wird es gelingen, durch ein kräftiges Antikomplement auch die Bindung des Komplementes reversibel zu machen. Irgend etwas Sicheres in dieser Beziehung vorauszusagen, scheint mir jetzt noch nicht zulässig zu sein. Auch wäre es wünschenswert, durch weitere Versuche mit anderen hämolytisch wirksamen Substanzen zu untersuchen, wie sich die Reaktionsgeschwindigkeiten und somit die stöchiometrischen Verhältnisse der Bindungen gestalten. Vielleicht wird es so gelingen, die hämolysierenden Substanzen gemäß ihres chemischen Verhaltens in Gruppen zu teilen. Zu derartigen Versuchen hat mir bis jetzt die Zeit gefehlt.

Ergänzung zu der Abhandlung: Enzymstudien II: Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoff- ionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen.

Von

S. P. L. Sörensen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 20. Oktober 1909.)

In einer früheren Abhandlung¹⁾ mit obenstehendem Titel habe ich eine Reihe Standardlösungen beschrieben, die durch Vermischen in passenden Verhältnissen gute Vergleichsflüssigkeiten für die colorimetrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration liefern. Unter diesen Standardlösungen befindet sich auch eine $\frac{1}{15}$ mol. Lösung eines sekundären Natriumphosphats von der Zusammensetzung $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Die hinsichtlich der Reinheit dieses Salzes gestellten Anforderungen sind die folgenden (l. c. S. 171):

a) Das Salz muß in Wasser klar löslich sein und darf weder Sulfat noch Chlorid enthalten.

b) Beim Trocknen während 24 Stunden bei 100° und 20 bis 30 mm Druck und bei nachfolgendem vorsichtigen Glühen bis zur Gewichtskonstanz soll der gesamte Gewichtsverlust $25,28 \pm 0,1\%$ betragen. Für die Probe werden etwa 5 g angewandt.

Eine direkte Prüfung auf einen Gehalt an primärem oder normalem Natriumphosphat ist nicht vorgeschrieben. Es mag aber hinzugefügt werden, daß alle von uns während der Ausführung oben erwähnter Arbeit benutzten Präparate des Salzes in wässriger Lösung mit Phenolphthalein einen schwachen, aber doch deutlichen rosa Farbton gaben, wie man ihn gewöhnlich als charakteristisch für das reine sekundäre Salz ansieht. Bei einigen in letzter Zeit ausgeführten Untersuchungen hat es sich indessen gezeigt, daß das als rein betrachtete sekundäre Natriumphosphat noch 3 bis 4% primäres Salz enthält, wovon es durch ein- oder zweimaliges Umkrystallisieren befreit werden kann. Die wässrige Lösung eines

¹⁾ Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

auf diese Weise gereinigten Salzes gibt mit Phenolphthalein (siehe die unten erwähnte Probe) eine stark rote Farbe. Da nun das Salz sich selbst nach wiederholten Umkrystallisationen stets gleich verhält, darf man es wohl als rein betrachten.

Es würde selbstverständlich nichts im Wege sein, ein sekundäres Natriumphosphat, das primäres Salz enthält, als Standardstoff zu benutzen, wenn nur der Gehalt an primärem Phosphat leicht zu definieren und zu bestimmen ist und bei allen Präparaten der gleiche bleibt. Bei allen von uns früher benutzten Präparaten ist dieses der Fall gewesen, da dieselben in wässriger Lösung mit Phenolphthalein immer die gleiche schwache rosa Farbe gegeben haben.¹⁾ Andererseits ist es aber sehr wenig zufriedenstellend, eine unreine Substanz als Standardstoff zu benutzen, wozu noch kommt, daß die Darstellung derselben mit einer Unsicherheit behaftet ist, welche ganz ausgeschlossen wird, wenn man sich eines reinen Stoffes bedient, indem in letzterem Falle die Umkrystallisationen nicht zu oft vorgenommen werden brauchen. Ich habe es daher für richtig angesehen, das unreine sekundäre Natriumphosphat durch das reine Salz zu ersetzen, obwohl dieses die Unannehmlichkeit mit sich bringt, daß die Phosphatkurve auf der Hauptkurventafel in entsprechender Weise korrigiert werden muß.

Es ist selbstverständlich notwendig, daß man einigermaßen leicht prüfen kann, ob das sekundäre Phosphat auch in der hier in Rede stehenden Beziehung rein ist, oder ob es primäres oder normales Phosphat in nachweisbarer Menge enthält. Außer den oben erwähnten Anforderungen wird daher die folgende Prüfung hinsichtlich der Reinheit des sekundären Phosphats vorzunehmen sein.

1,2 g des Salzes werden in einem mit kohlenstoffreier Luft gefüllten 100 ccm-Kolben in ausgekochtem Wasser gelöst, wonach mit Wasser bis zu der Marke nachgefüllt wird. Aus dieser Lösung werden 3mal je 10 ccm und außerdem die folgenden Boratmischungen in Reagenzgläser (siehe die Hauptabhandlung S. 177 und 202) abgemessen:

8	Borat	+	HCl
9	„	+	„
10	„		
9	„	+	NaOH
8	„	+	„

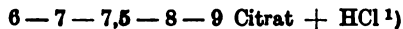
Jeder dieser Lösungen werden 5 Tropfen Phenolphthaleinlösung (0,5 g Phenolphthalein in 500 ccm Alkohol + 500 ccm Wasser) zugesetzt. Die Lösungen des sekundären Phosphats müssen dadurch eine rote Farbe von ähnlicher Stärke wie die der Vergleichslösung „10 Borat“ annehmen, und jedenfalls müssen die Phosphatlösungen sich zwischen „9 Borat + HCl“

¹⁾ Auch die käuflichen, reinen, chlorid- und sulfatfreien Präparate von krystallisiertem, sekundärem Natriumphosphat, die wir in den Händen gehabt haben, gaben mit Phenolphthalein immer eine schwache rosa, nie eine starke rote Farbe.

und „9 Borat + NaOH“ einordnen lassen. Wird darauf einer der Phosphatlösungen 1 Tropfen $\frac{2}{10}$ -NaOH und einer anderen 1 Tropfen $\frac{2}{10}$ -HCl zugesetzt, dann muß die erstere stärker rot als „8 Borat + NaOH“, die zweite schwächer rot als „8 Borat + HCl“ erscheinen.

Unter diesen Umständen lag es nahe, zu untersuchen, ob nicht auch das andere als Standardstoff benutzte Phosphat, das primäre Kaliumphosphat, sich durch weitere Krystallisationen in noch reinerem Zustande gewinnen ließe. Es hat sich aber gezeigt, daß das von uns bisher benutzte primäre Kaliumphosphat als rein betrachtet werden muß. Andererseits ist es uns indes begegnet, daß wir bei elektrometrischer Messung von Lösungen primärer Phosphate, an deren Reinheit zu zweifeln wir keinen Grund haben, Werte bekommen haben, die um einige Millivolt von dem in der Hauptabhandlung für „reines primäres Phosphat“ angeführten Wert ($\pi = 0,5990$; l. c. S. 175) abweichen. Ich halte es demnach für angebracht, die Phosphatkurve auf der Strecke von „reinem primärem Phosphat“ bis zu „0,25 sek. + 9,75 prim.“ zu punktieren, ganz wie es sonst überall auf der Hauptkurventafel geschehen ist, wenn die Kurven parallel oder beinahe parallel mit der Abszissenachse verlaufen. Ferner habe ich es zweckmäßig gefunden, eine entsprechende Reinheitsprobe für das primäre Phosphat, wie die für das sekundäre Salz oben erwähnte, vorzuschreiben.

0,9 g primäres Kaliumphosphat werden, wie oben beschrieben, in ausgekochtem Wasser gelöst und die Lösung bis auf 100 ccm verdünnt. Als Vergleichsflüssigkeiten werden



benutzt. Zu diesen Lösungen sowie zu 10 ccm der Phosphatlösung werden je 10 Tropfen der Indicatorlösung gesetzt (0,1 g des Natriumsalzes des p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin in 600 ccm Alkohol + 400 ccm Wasser gelöst; Indicator Nr. 12 in dem Indicatorverzeichnis, l. c. S. 253). Die Phosphatlösung muß in betreff der Farbennuance in der Nähe von „7,5 Citrat + HCl“ und in jedem Falle zwischen „7“ und „8 Citrat + HCl“ liegen, während ein Zusatz von 1 Tropfen $\frac{2}{10}$ -NaOH bzw. $\frac{2}{10}$ -HCl die Farbennuance der Phosphatlösung deutlich und scharf außerhalb dieser Grenzen verschieben muß.²⁾

¹⁾ Diese Zeitschr. 21, 176 und 205, 1909.

²⁾ Vom rein theoretischen Gesichtspunkte aus betrachtet ist es selbstverständlich nicht einwandfrei, Vergleichsflüssigkeiten einer Standardlösung — die selbst vielleicht mit Fehlern behaftet sein kann — zu benutzen, um die Reinheit eines anderen Standardstoffes zu kontrollieren. Wenn ich dessenungeachtet vorgeschrieben habe, die Borat- bzw. die Citratmischungen bei den oben erwähnten Prüfungen der Phosphate zu benutzen, liegt der Grund darin, daß es sich in diesen speziellen Fällen um solche Borat- oder Citratmischungen handelt, welche beinahe senkrecht verlaufenden Kurvenanteilen entsprechen, so daß kleine Mengen Verunreinigungen in der Borat- bzw. Citratlösung hier ganz belanglos sind.

Zusammensetzung der Phosphatmischung	Die früher unter Benutzung von unreinem sek. Phosphat gefundenen Werte		Die unter Benutzung von reinem Phosphat gefundenen Werte	
	der elektromotorischen Kraft	des Wasserstoffionens-exponenten	der elektromotorischen Kraft	des Wasserstoffionens-exponenten
	π	pH'	π	pH'
10 ccm sek. Phosphat	0,8167	8,30 ₂	0,8675	(9,18 ₂)
9,9 " " " + 0,1 ccm prim. Phosphat	0,8092	8,17 ₁	0,8385	(8,67 ₂)
9,75 " " " + 0,25 " " "	0,8015	8,03 ₂	0,8188	8,33 ₂
9,5 " " " + 0,5 " " "	0,7914	7,86 ₂	0,8018	8,04 ₂
9 " " " + 1 " " "	0,7790	7,64 ₂	0,7838	7,73 ₁
8 " " " + 2 " " "	0,7616	7,34 ₇	0,7636	7,33 ₁
7 " " " + 3 " " "	0,7500	7,14 ₂	0,7513	7,16 ₂
6 " " " + 4 " " "	0,7402	6,97 ₂	0,7404	6,97 ₀
5 " " " + 5 " " "	0,7308	6,81 ₂	0,7308	6,81 ₂
4 " " " + 6 " " "	0,7210	6,64 ₂	0,7210	6,64 ₂
3 " " " + 7 " " "	0,7109	6,46 ₂	0,7109	6,46 ₂
2 " " " + 8 " " "	0,6977	6,23 ₀	0,6977	6,23 ₀
1 " " " + 9 " " "	0,6787	5,91 ₀	0,6785	5,90 ₂
0,5 " " " + 9,5 " " "	0,6608	5,60 ₀	0,6602	5,58 ₂
0,25 " " " + 9,75 " " "	0,6438	5,30 ₂	0,6428	5,28 ₂
0,1 " " " + 9,9 " " "	0,6248	4,97 ₂	0,6230	(4,94 ₂)
10 " " " 10 " " "	0,5990	4,52 ₀	0,5970	(4,49 ₂)

Es wurden aus reinen Phosphaten, die nicht nur den früheren, sondern auch den in der vorliegenden Abhandlung vorgeschriebenen Anforderungen entsprachen, auf die in der Hauptabhandlung (l. c. S. 167) angegebene Weise Standardlösungen dargestellt. Es wurden benutzt 3 Standardlösungen von verschiedenen Proben primären Phosphates (2 Proben von G. A. F. Kahlbaum, Berlin, und eine im hiesigen Laboratorium umkrystallisierte Probe) und ebenso 3 Lösungen von verschiedenen Proben sekundären Phosphates (2 Proben von G. A. F. Kahlbaum und ein 3mal umkrystallisiertes Kahlbaumsches Präparat). Mischungen dieser Standardlösungen wurden auf die in der Hauptabhandlung (l. c. S. 150 und 173) angegebene Weise von S. Palitzsch elektrometrisch gemessen. Die Ergebnisse, welche eine gute gegenseitige Übereinstimmung zeigten, sind in der obigen Tabelle zusammengestellt; dieselbe enthält des Vergleiches wegen außerdem die früher unter Benutzung von unreinem sekundären Phosphat gefundenen Werte.

Es wird leicht sein, mittels der in der letzten Kolonne der Tabelle mit fettem Druck angeführten Werte für $p_{H'}$ die not-

wendige Änderung der Phosphatkurve auf der Hauptkurventafel vorzunehmen, so daß diese Kurve einen Verlauf bekommt, der den reinen von C. A. F. Kahlbaum zu beziehenden Phosphaten entspricht. Die Einklammerung der 2 ersten und der 2 letzten Werte für p_H bedeutet, daß die Kurve von „reinem primärem Phosphat“ bis zu „0,25 sek.“ und von reinem „sekundärem Phosphat“ bis zu „9,75 sek.“ punktiert werden muß.¹⁾

Es geht aus der Tabelle sowie auch aus der geänderten Phosphatkurve hervor, daß der Unterschied zwischen den alten und den neuen Werten nur für die am stärksten alkalischen Phosphatmischungen von praktischer Bedeutung ist. Für alle Mischungen bei und in der Nähe von dem Neutralpunkt ist der gefundene Unterschied ganz geringfügig und überdies bald positiv, bald negativ; wir haben daher für eine ganze Kurvenstrecke die alten Werte beibehalten.

Ferner haben wir die Gelegenheit benutzt, um uns neue Proben der übrigen Standardstoffe (Glykokoll, Citronensäure und Borsäure) von C. A. F. Kahlbaum zu verschaffen, und wir haben teils die Reinheit derselben kontrolliert, teils die daraus hergestellten Standardlösungen elektrometrisch gemessen. In betreff dieser Stoffe haben wir vollständige Übereinstimmung mit dem früher in der Hauptabhandlung Angeführten gefunden.

Schließlich möchte ich nur noch darauf aufmerksam machen, daß alle in der Hauptabhandlung behandelten Fragen — z. B. die Genauigkeit und die Anwendbarkeit der elektrometrischen bzw. der colorimetrischen Methode unter verschiedenen Umständen, sowie auch die angeführten Beispiele von der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Spaltungen — selbstverständlich durch diese kleine Änderung der Phosphatkurve, von der hier die Rede gewesen ist, nicht berührt werden.

¹⁾ Jedem Exemplar der im Handel erhältlichen Hauptkurventafeln wird ein Abdruck dieser Ergänzung beigegeben.

Über die Verwendung alkylierter Zucker zur Bestimmung der Konstitution von Disacchariden und Glucosiden.

Von

James Colquhoun Irvine.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität St. Andrews, Schottland.)

(Eingegangen am 30. September 1909.)

Die Chemie der einfachen Zucker, d. h. der Monosaccharide, ist jetzt durch die vereinten Anstrengungen der Chemiker, Physiker und Biologen ein gut erforschtes Gebiet, und die Änderungen und Fortschritte, welche unsere Anschauungen über die Struktur reduzierender Zucker erfahren haben, sind auf direkt experimentellem Wege gewonnen. So ist bei der Glucose durch Acetylierung unschwer der Gehalt an Hydroxylresten ermittelt und die Gegenwart einer leicht oxydierbaren Gruppe oder Gruppen durch die Einwirkung von Brom bzw. Phenylhydrazin festgestellt worden, und die Untersuchung der Multarotation hat die Existenz und die Eigenschaften leicht veränderlicher stereoisomerer Formen ergeben. Das auf diese Weise erhaltene Resultat ist so klar und vollständig, daß heute fast nur eine Meinung über die Struktur dieser Zucker herrscht.

Wenn wir dagegen zur Konstitutionserforschung der Glucoside und Disaccharide übergehen, der Verbindungen, welche dem biologischen Chemiker besonders nahe liegen, so wird die Sicherheit weit geringer, und es besteht eine größere Zweideutigkeit in betreff der experimentellen Feststellung der Struktur. Bei einem typischen Glucosid fehlen z. B. Reduktionsvermögen, Multarotation und Verbindungsfähigkeit mit Phenylhydrazin gänzlich, und dasselbe ist der Fall bei Disacchariden vom Typus des Rohrzuckers.

Ein negatives Resultat dieser Art ist meistens nur für die Tatsache von Bedeutung, daß die reduzierende Zuckergruppe

substituiert ist, und so kommt es, daß in vielen Fällen die Struktur dieser Verbindungen lediglich aus theoretischen Betrachtungen gefolgert ist. Ungeachtet der Schwierigkeit des Problems ist es jedoch klar, daß viel für den zukünftigen Fortschritt in der biochemischen Erforschung der Zuckerarten von der vollständigen Aufklärung der Struktur der Disaccharide und der Glucoside mittels experimenteller Methoden abhängt. Nur wenn diese Bedingung erfüllt ist, können Synthesen auf diesem Gebiete der Zuckerreihe systematisch und mit Sicherheit ausgeführt werden.

In folgender Mitteilung wird gezeigt, wie auf Grund der in diesem Laboratorium während der letzten zehn Jahre ausgeführten Arbeiten über die Zuckergruppe durch Anwendung der Alkylierung von Zuckern viele Probleme über die Struktur der Kohlenhydratverbindungen erfolgreich erforscht werden können.

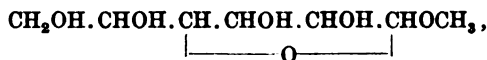
Wenn man in erster Reihe die Struktur der Glucoside in Betracht zieht, so besteht die einzige jetzt gebräuchliche Methode der Erforschung darin, die durch Hydrolyse mittels Säuren oder durch Enzyme gewonnenen Produkte zu untersuchen. Diese ist insofern unvollständig, als dabei an sich nur wenig Angaben über die Bindung des Zuckers gewonnen werden. Als Hindernis erweist sich auch noch, daß die hydrolytischen Produkte in einigen Fällen während des Vorgangs tiefen, sekundären Veränderungen unterliegen, und so können die Resultate unklar, ja sogar irreführend sein. Das so gewonnene Ergebnis ist nur in sehr wenigen Beispielen durch eine synthetische Darstellung des Glucosids ergänzt worden.

Die vollständige Struktur eines Glucosids wird bestimmt a) durch die Aufklärung der Natur des zugrunde liegenden Zuckers und der Substanz, mit der er verbunden ist, b) durch die Feststellung der Raumform (α - oder β -Glucosid) und c) durch die Erkenntnis der Bindung des Zuckers innerhalb des Moleküls. Der erste dieser Faktoren wird bei den natürlichen und künstlichen Glucosiden durch Hydrolyse bzw. Synthese bestimmt; der zweite wird durch auswählende Hydrolyse mit Hilfe von Enzymen ermittelt, aber über die Bindung des Zuckers kann nur die Darstellung von Derivaten und deren Hydrolyse etwas aussagen. Gerade zu diesem Zwecke kann nun die Alkylierung

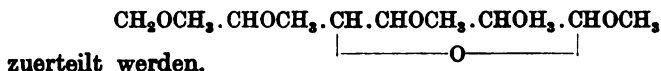
des Zuckers Anwendung finden. Dank der großen Beständigkeit der Alkyloxyd-Gruppen sind sekundäre Veränderungen während der Hydrolyse in weitestem Maße ausgeschlossen, und die reinen hydrolytischen Spaltungsprodukte können so isoliert werden. Außerdem hat die Alkylierung eine ausgesprochene Wirkung auf die Flüchtigkeit der Zuckerderivate, daher können diese alkylierten Verbindungen im Vakuum unverändert destilliert werden, und die große Schwierigkeit, welche die Abtrennung von Zuckerderivaten bietet, ist auf ein Minimum beschränkt. Wir geben jetzt einen Umriß der experimentellen Methoden des Alkylierungsprozesses und wählen als Beispiel das einfachste Glucosid, nämlich E. Fischers künstliches α -Methyl-Glucosid.

Konstitution künstlicher Glucoside.

E. Fischer erteilt in seiner Arbeit über diese Verbindung ihr folgende Formel:



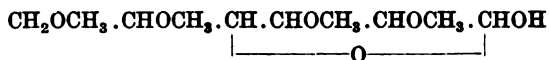
und es wird sich zeigen, daß diese Formel experimentell bestätigt werden kann und daß ferner die natürlichen Glucoside den gleichen Typus aufweisen. Der einzig bekannte Prozeß, der imstande ist, eine vollständige Alkylierung des Zuckermoleküls zu bewirken, ist der zuerst von Thomas Purdie angewandte, nämlich, die vereinte Einwirkung von trockenem Silberoxyd und Alkyljodiden. Soweit die Zucker in Betracht kommen, ist der Alkylierungsprozeß bis jetzt auf die Verwendung von Jodmethyl beschränkt gewesen, und so sind methylierte Zucker die einzigen bekannten Verbindungen dieser Form. Die Methode hat sich bis jetzt in jedem angewandten Falle als erfolgreich erwiesen und die Resultate sind vollkommen gleichmäßig. Wenn z. B. α -Methylglucosid in Methylalkohol aufgelöst und mit Silberoxyd sowie Jodmethyl zusammengebracht wird, so findet eine kräftige Reaktion statt und hierbei treten Methylgruppen in die Hydroxylreste ein. Das Ergebnis ist eine bewegliche, stark lichtbrechende Flüssigkeit (Siedep. 148 bis 150° unter 13 mm), die sich als Tetramethyl- α -methylglucosid erwiesen hat. Nach Fischers Formel für die Muttersubstanz kann ihr vorläufig die Struktur



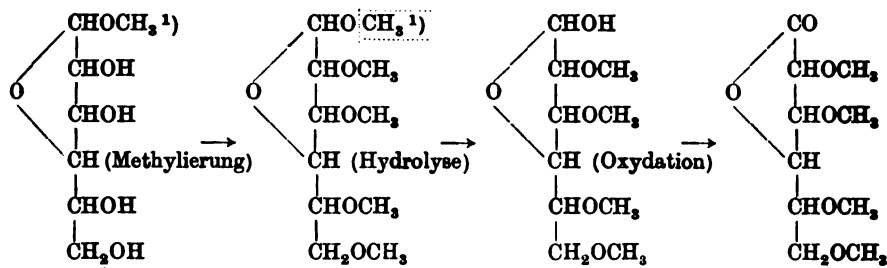
zuerteilt werden.

Die Verbindung ist dem Tetra-acetylmethyl-glucosid analog, aber sie weicht von ihm in der Hinsicht ab, daß bei der Hydrolyse nur die Glucosidbindung gespalten wird und daß das Produkt daher eine Tetramethyl-glucose ist. Diese Verbindung hat sich als sehr wertvoll erwiesen; sie krystallisiert in prächtigen Nadeln, die in Wasser und auch in Äther, Alkohol und Benzol und überhaupt in organischen Solventien leicht löslich sind. Der hauptsächlichste Vorteil der Verbindung besteht darin, daß mit Ausnahme der unsubstituierten reduzierenden Gruppe alle Hydroxylgruppen methyliert worden sind. Die besonders charakteristischen Zuckerreaktionen bleiben so erhalten, während viele der unklaren, sekundären Veränderungen, die vom Vorhandensein einer Anzahl reaktionsfähiger Hydroxylgruppen herühren und das Arbeiten mit gewöhnlichen Zuckern erschweren, hier gänzlich fehlen. Tetramethyl-glucose kann so verarbeitet und in sehr kleinen Mengen zurückgewonnen werden, sie kann unverändert im Vakuum destilliert und kann vermittels Äther aus nicht alkylierten Zuckern extrahiert werden.

Ihre wichtigste Reaktion vom Standpunkt der Konstitutionsforschung ist indessen ihr Verhalten gegen oxydierende Agenzien. Das damit gewonnene Produkt enthält noch vier OCH_3 -Gruppen und besitzt alle charakteristischen Eigenschaften eines γ -Lactons: es ist deshalb Tetramethyl-gluconsäurelacton. Dieses Verhalten im Verein mit der Tatsache, daß Tetramethyl-glucose in gut definierten, multarotatorischen α - und β -Formen, welche erhebliche Multarotation in allen Lösungsmitteln zeigen, gewonnen werden kann, gibt den vollständigen Beweis für die γ -Oxyd-Struktur des Zuckers, dessen Formel folgende ist:



Es folgt daraus, daß Tetramethyl-methyl-glucosid dieselben Bindungen aufweisen muß, und so wird Fischers Formel für das Methylglucosid bestätigt. Die oben erwähnten Reaktionen können also folgendermaßen formuliert werden:



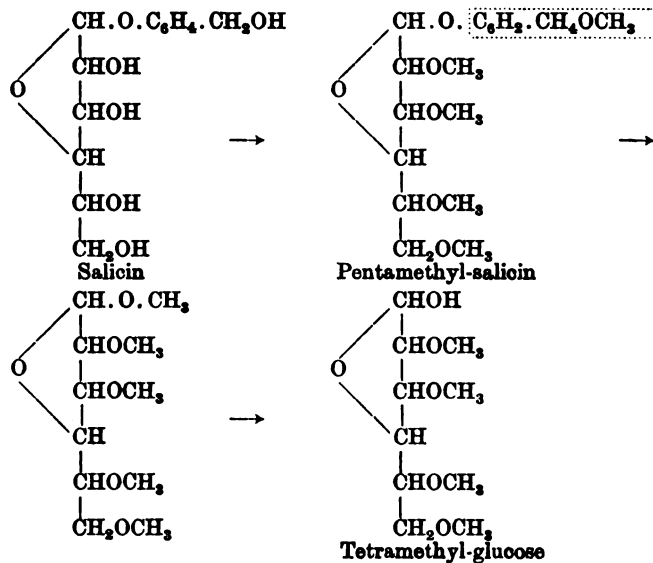
Eine vergleichende Versuchsreihe mit Fischers β -Methylglucosid ergab ähnliche Resultate; es wurde Tetramethyl- β -methylglucosid (Schmelzpunkt 40 bis 41°) gewonnen, welches wiederum dieselbe oben erwähnte krystallinische Tetramethylglucose bei der Hydrolyse ergab.

Die vorhergehenden Resultate zeigen deutlich, daß, wenn Glucose mit Alkoholen zu künstlichen Glucosiden zusammentritt, die letzteren die γ -Oxyd-Struktur besitzen. Ähnliche Experimente wurden mit den „Glucosiden“ von Mannose, Galaktose, Fructose, Arabinose und Rhamnose mit genau denselben Ergebnissen durchgeführt.

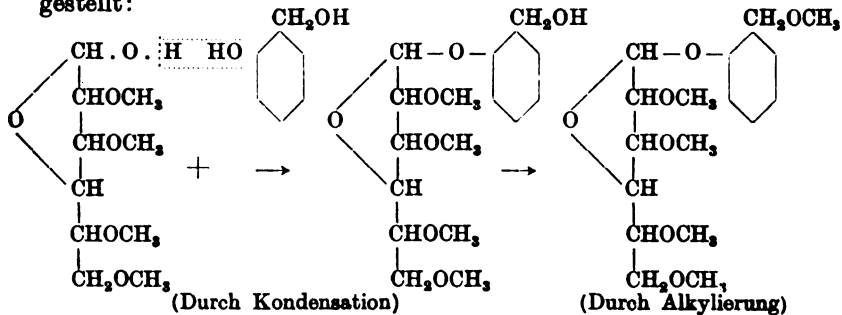
Konstitution natürlicher Glucoside.

Nach den in dem typischen Fall von Salicin erhaltenen Resultaten zu urteilen, scheinen die natürlichen Glucoside den künstlichen analog konstituiert zu sein. Jenes Glucosid ergab bei der Alkylierung ein Pentamethyl-salicin (Schmelzpunkt 62 bis 63°), und dieses liefert bei der Hydrolyse dieselbe Form der Tetramethylglucose, wie aus Tetramethyl-methylglucosid entsteht. Die Hydrolyse wurde in diesem Fall indirekt ausgeführt; das alkylierte Salicin wurde der Hydrolyse und gleichzeitiger Kondensation mit Methylalkohol unterworfen, indem es in methylalkoholischer Lösung mit einer Spur Salzsäure erhitzt wurde. Das wichtigste Produkt dieser Reaktion war ein Gemisch von stereoisomeren Tetramethyl-methylglucosiden, welche nach dem Kochen mit wässriger Salzsäure Tetramethylglucose ergaben.

1) Bezeichnet die durch Hydrolyse entfernbare glucosidische Methylgruppe.



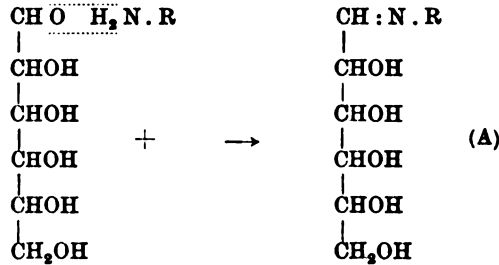
Das oben erwähnte Resultat wurde durch synthetische Versuche gestützt, zu welchen das Reaktionsvermögen und die verschiedenartige Löslichkeit der Tetramethyl-glucose verwertet wurde. In Benzol, das überschüssiges Saligenin und wenig Salzsäure enthielt, fand eine Kondensation des Zuckers und des Phenols statt, und es entstand eine Mischung von Verbindungen, deren eine das γ -Oxyd-Saligenin-tetramethyl-glucosid war. Nach der Methylierung mittels der Silberoxyd-Reaktion ergab dieses wiederum dasselbe kristallisierte Pentamethyl-salicin, das aus Salicin direkt gewonnen wurde, und bestätigte so die Struktur des zugrunde liegenden Glucosids. Diese Reaktionen seien im folgenden im Hinblick auf die mögliche Verwendung von alkylierten Zuckern zu Synthesen zusammengestellt:



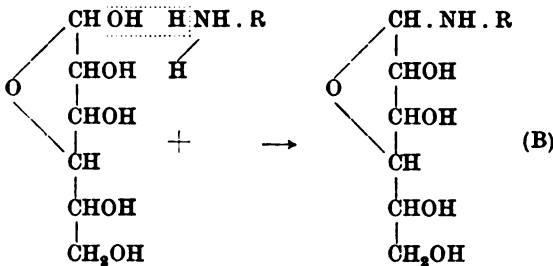
Konstitution stickstoffhaltiger Zuckerabkömmlinge.

Die Kondensierung der Zucker mit Aminobasen ist ein Problem von bedeutender Wichtigkeit in der Biochemie und sie wird gewöhnlich als eine von der Glucosidbildung abweichende angesehen, da hierbei der Zucker als Aldehyd reagieren soll. Es ist indessen nachzuweisen, daß diese Ansicht nicht ganz richtig ist; in dieser Hinsicht ist die Untersuchung alkylierter Zucker sehr wertvoll, da sie scharf zwischen aldehydischen und γ -Oxydzuckerderivaten zu unterscheiden ermöglicht. Ganz allgemein bestehen bei der Kondensation von Glucose mit einem Amin $R-NH_2$ zwei Möglichkeiten:

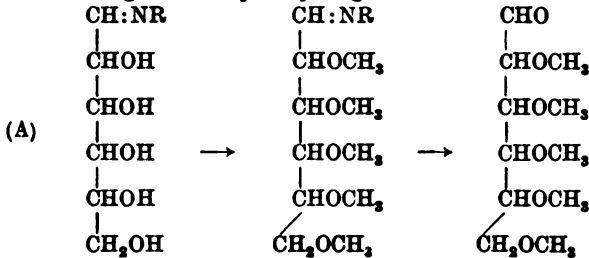
1. Aldehydkondensation.



2. γ -Oxydkondensation.



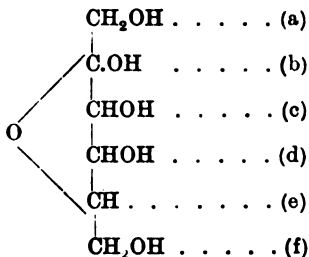
Die angenommenen Verbindungen A und B sind isomer, sie müßten aber verschiedene Produkte bei der Methylierung und nachfolgenden Hydrolyse geben.



Verbindungen von Zuckern mit Ketonen.

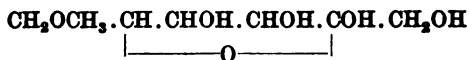
Die Bildung von Derivaten dieser Art bildet ein besonders schwieriges Kapitel der Glucosidchemie, da die Ketongruppe mit dem Zuckerrest an wenigstens zwei Stellen verknüpft ist, die beide erst bestimmt werden müssen, bevor die Natur des Produktes sicher festgestellt ist. Durch den Methylierungsprozeß müssen ersichtlich alle die im Zuckerrest verbliebenen freien Hydroxylgruppen methyliert werden, und durch Hydrolyse des Endproduktes kann die Ketongruppe oder Gruppen entfernt werden, wobei ein alkylierter Zucker zurückbleibt. Die Zahl und Stellung seiner Alkyloxydgruppen kann dann bestimmt werden, und man erhält so alle notwendigen Daten. Um einen besonderen Fall als Beispiel zu nehmen, so sei daran erinnert, daß Fructose eine gut definierte Diacetonverbindung bildet.

Diese ist erfolgreich methyliert worden und hat Monomethylfructose-diaceton (Schmelzp. 115°) ergeben, woraus nach der Hydrolyse mit verdünnter Säure Monomethylfructose gewonnen wird. Augenscheinlich kann diese Methylgruppe eine der sechs verschiedenen Stellungen in dem Zuckermoleküle einnehmen. Diese seien mit (a), (b), (c), (d), (e) und (f) in folgender Weise bezeichnet:

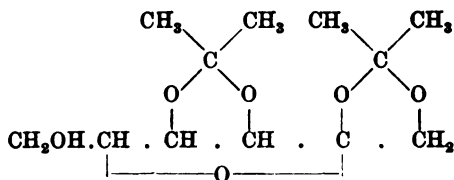


Die in Frage kommende alkylierte Fructose ist ein reduzierender Zucker und zeigt Multarotation, demnach kann die Alkylgruppe nicht in Positionen (b) oder (e) stehen. Außerdem ergibt der Zucker ein Monomethylglucosazon, so daß die Alkylgruppe nicht in Stelle (a) oder (b) sein kann. Endlich ergibt der Zucker bei Oxydation α - β -Dihydroxy- γ -methoxy-buttersäure, die nicht imstande ist, ein Lacton zu bilden. Dieses bestimmt schließlich die Position der Methyl-

gruppe, welche die Stellung (f) einnehmen muß. Die Formel für Monomethyl-fructose lautet daher:



woraus als Struktur für Fructose-di-aceton sich die Formel



ergibt.

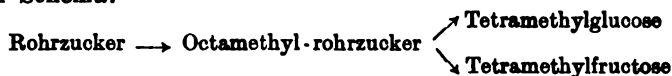
Purdie und Young haben ähnliche Beobachtungen bez. der Struktur von Acetonrhamnosid ausgeführt.

Konstitution der Disaccharide.

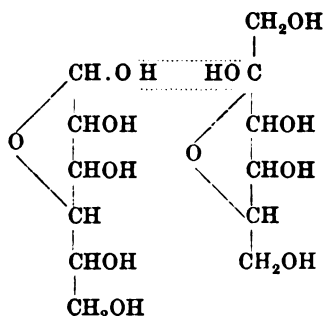
Wie bekannt ist, kann die Verkettung von zwei Zuckern unter Bildung eines Disaccharides in doppelter Weise stattfinden. Entweder können die reduzierenden Gruppen der beiden beteiligten Zucker an der Reaktion teilnehmen und eine nicht reduzierende Verbindung geben, oder eine reduzierende Gruppe kann frei bleiben und so ein reduzierendes Disaccharid bilden. Einfache Beispiele dieser beiden Typen liegen im Rohrzucker, bzw. in der Maltose vor. Die genaue Struktur solcher Verbindungen ist im Verlaufe der Entwicklung der Zuckerchemie Gegenstand ausgedehnter Forschungen gewesen, die aber meist auf Betrachtungen über die Art der inneren Verknüpfung der Zuckerreste beschränkt geblieben sind. Die von Fischer vorgeschlagenen Formeln haben sich jedoch als ein außerordentlich befriedigender Ausdruck der Tatsachen erwiesen, und sind durch die Untersuchung der methylierten Disaccharide bestätigt worden.

Es hat sich zum Beispiel herausgestellt, daß Rohrzucker die normale Alkylierung durch die Silberoxyd-Jodmethyl-Behandlung erfährt, keine Hydrolyse oder Oxydation erleidet und als Endprodukt eine flüchtige Flüssigkeit, Octamethyl-rohrzucker, liefert. Durch Hydrolyse mittels verdünnter Mineralsäuren wird er in ein äquimolekulares Gemisch von Tetra-

methylglucose und Tetramethylfructose verwandelt, entsprechend dem Schema:



Es entsteht dabei dieselbe krystallinsche Tetramethylglucose wie bei der Hydrolyse von Tetramethyl-methyl-glucosid, und das ist ein Beweis für die Richtigkeit der einen Hälfte der Fischerschen Formel. Der Glucoserest ist daher im Rohrzucker in der γ -Oxydform vorhanden, und die Verkettung mit dem Fructoseteil des Moleküls findet in folgender Weise statt:



Bei der Maltose gestaltet sich das Problem schwieriger, da die reduzierende Gruppe durch das Silberoxyd oxydiert wurde und nachher durch das Alkylierungsgemisch Methylierung eintrat. Bei der Hydrolyse entstand jedoch Tetramethylglucose in krystallinischem Zustande, so daß die nicht reduzierende Hälfte des Maltosemoleküls einen Glucoserest in der γ -Oxydform enthält.

Dieses ist eine Bestätigung für die Fischersche Formel und zeigt wiederum, daß die Bildung der Disaccharide in der Zuckergruppe der der Glucoside völlig entspricht.

Synthese von Disacchariden.

Die Versuche über die Kondensation der Zuckerarten mit einander sind durch den Umstand erheblich erschwert, daß Wasser und Alkohol allein in praxi als Lösungsmittel in Betracht kommen; hingegen lösen sich die methylierten Zucker leicht in nicht hydroxylhaltigen Flüssigkeiten auf, so daß jede Reaktion mit dem Lösungsmittel ausgeschlossen ist; daher findet unter dem Einflusse eines Katalysators Selbstkondensation der Zucker

statt. Dieser Versuch ist mit Tetramethylglucose ausgeführt worden, die in 0,25% Chlorwasserstoff enthaltendem Benzol aufgelöst war; dabei entstand ein nicht reduzierendes Disaccharid. Dieses scheint die erste erfolgreiche Synthese eines Disaccharids vom Typus des Rohrzuckers auf chemischem Wege zu sein und erbringt den Beweis für die Bildungsmöglichkeit solcher Verbindungen. (Siehe Fischer und Delbrück, Ber. 42, 2776.)

Die vorliegende Mitteilung ist geschrieben worden, um biologischen Chemikern und andern, die ein Interesse für die Struktur- und Synthesen in der Zuckerreihe haben, den Wert der Alkylierungsmethode bei solchen Arbeiten klar zu machen, und hoffentlich wird die Silberoxyd-Reaktion in Zukunft für die Entwicklung dieses Zweiges der biologischen Chemie von Bedeutung sein. Da die experimentellen Einzelheiten bezüglich der Ausführung der Methylierung von Kohlenhydraten in den Veröffentlichungen zu finden sind, die am Ende dieser Arbeit zusammengestellt sind, so sei zum Schluß nur eine allgemeine theoretische Übersicht über die Anwendbarkeit des Verfahrens gegeben.

Wenn die zu untersuchende Verbindung mit dem allgemeinen Ausdruck $Z \cdot G$ bezeichnet wird, wo Z = ein Zuckerrest und G = die Gruppe ist, mit welcher er kondensiert ist, so werden bei vollständiger Alkylierung alle freien Hydroxylgruppen der Verbindung methyliert.

Eine Bestimmung der OCH_3 -Gruppen des Produktes nach Zeisel ergibt sofort die in der ursprünglichen Verbindung vorhandene Anzahl von Hydroxylgruppen. Die methylierte Verbindung wird jetzt mittels verdünnter Säure hydrolysiert, und ergibt im Minimum zwei Produkte, die wir mit Z_1 und G_1 bezeichnen können, in welchem von beiden der Methoxygehalt bestimmt ist. Dies zeigt die Verteilung der Gesamtzahl von Hydroxylgruppen zwischen Z und G an, und schließlich wird durch die Ermittlung der Stellung der Methoxygruppen in jedem Rest vollständige Klarheit über die Struktur der Muttersubstanz geschaffen. Das obenerwähnte Schema führt zur Gewißheit darüber, ob ein Zuckerderivat γ -Oxyd- oder Aldehyd-Typus aufweist. Da die wichtigsten alkylierten Zucker nun dargestellt und ihre Konstanten festgelegt sind, so ist die tat-

sächliche Erkennung aller solcher Verbindungen, die gewöhnlich vorkommen, wohl möglich.

Die folgende Zusammenstellung enthält Angaben über die wichtigsten alkylierten Zucker und deren Charakterisierung:

Tetramethylglucose. Krystallisiert in Nadeln. Schmelzpunkt 88 bis 89°. Multarotation in wässriger Lösung $[\alpha_D] = +100,8^\circ \rightarrow 88,3^\circ$.

Tetramethylgalactose. Flüssigkeit, Siedepunkt 172° unter 13 mm Druck. Bleibende spezifische Drehung im Wasser = +109,5°. Identifizierbar durch Verwandlung in Tetramethyl- β -methylgalactosid. Schmelzpunkt 44 bis 45°, spezifische Drehung in Äthylalkohol $-20,9^\circ$.

Tetramethylmannose. Flüssigkeit, Siedepunkt 187° bis 189° unter 19 mm Druck. Spezifische Drehung in Methylalkohol +17,2°. Wird durch Überführung in Tetramethyl- α -methylmannosid identifiziert. Schmelzpunkt 37 bis 38°.

Tetramethylfructose. Krystallisiert in viereckigen Tafeln vom Schmelzpunkt 98 bis 99°. Spezifische Drehung in Äthylalkohol $-86,7^\circ$.

Trimethylrhamnose. Flüssigkeit, Siedepunkt 151 bis 155° unter 15 mm Druck. Spezifische Drehung in Wasser +25,4°. Hydrazon schmilzt bei 126 bis 128°.

Dimethylrhamnose. Hydrazon schmilzt bei 159 bis 160°.

Trimethylarabinose. Flüssigkeit, Siedepunkt 148 bis 152° unter 19 mm Druck. Spezifische Drehung in Methylalkohol +102,7°. Charakterisiert durch Umwandlung in Trimethyl- α -methylarabinosid vom Schmelzpunkt 43 bis 45°.

Monomethylfructose. Krystallisiert in Tafeln vom Schmelzpunkt 122 bis 123°. Das Osazon schmilzt bei 142 bis 144°.

Die allgemeinen Prinzipien, die bei diesen Untersuchungen zur Anwendung gekommen sind, hat Thomas Purdie aufgestellt.

Literaturangaben über alkylierte Zucker.

1. Purdie und Irvine, The alkylation of sugars. Trans. Chem. Soc. 83, 1021.
2. Purdie und Irvine, The stereoisomeric tetramethyl methylglucosides and tetramethyl glucose. Trans. Chem. Soc. 85, 1049.

3. Irvine und Cameron, The alkylation of galactose. *Trans. Chem. Soc.* 85, 1071.

4. Purdie und Irvine, Synthesis from glucose of an octamethylated disaccharide; methylation of sucrose and maltose. *Trans. Chem. Soc.* 87, 1049.

5. Irvine und Cameron, A contribution to the study of alkylated glucosides. *Trans. Chem. Soc.* 87, 900.

6. Irvine und Moodie, The alkylation of mannose. *Trans. Chem. Soc.* 87, 1462.

7. Irvine und Rose, The constitution of salicin; synthesis of pentamethyl salicin. *Trans. Chem. Soc.* 89, 814.

8. Purdie und Rose, The alkylation of l-arabinose. *Trans. Chem. Soc.* 89, 1204.

9. Purdie und Young, The alkylation of rhamnose. *Trans. Chem. Soc.* 89, 1994.

10. Purdie und Paul, The alkylation of d-fructose. *Trans. Chem. Soc.* 91, 289.

11. Irvine und Moodie, The addition of alkyl halides to alkylated sugars and glucosides. *Trans. Chem. Soc.* 89, 1578.

12. Irvine und Moodie, Derivatives of tetramethyl glucose. *Trans. Chem. Soc.* 93, 95.

13. Irvine und Gilmour, The constitution of glucose derivatives. *Trans. Chem. Soc.* 93, 1429.

14. Irvine und Hynd, Monomethyl laevulose and its derivatives. *Trans. Chem. Soc.* 95, 1220.

15. Irvine und Gihman. Constitution of glucose derivatives. Part. II. *Trans. Chem. Soc.* 95, 1545.

Über den Einfluß einiger Quecksilberverbindungen auf den Stoffwechsel.

Von

Guido Izar.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität zu Pavia.)

(Eingegangen am 27. September 1909.)

Die Wirkung des Quecksilbers auf den Stickstoffumsatz bildete den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, aber die ausgeführten Versuche sind mit wenigen Ausnahmen eher darauf gerichtet, das Verhalten des Stoffwechsels bei akuter¹⁾ oder chronischer²⁾ Quecksilbervergiftung zu ergründen oder die Wirkung zu studieren, die das Quecksilber auf den Stoffwechsel der Syphilitiker³⁾ ausübt, nicht aber darauf, an normalen Wesen das Verhalten des Stoffwechsels bei Anwendung von kleinen, noch nicht toxischen Quecksilberdosen festzustellen. Die einzigen Arbeiten, die wir über den Gegenstand besitzen, jene von V. Böck (1) und Noël Paton (2) über Hunde, gelangen zu geradezu entgegengesetzten Resultaten.

Diese Gegensätze und der Wunsch, die Wirkung des Hydrosols und der Quecksilbersalze auf den lebenden Organismus, wie es schon hinsichtlich der Autolyse geschehen ist, einander

¹⁾ Die Literatur über den Gegenstand findet sich in den Arbeiten von Jablonowski (Inaug.-Dissert., Berlin 1885), von Schroeder (Inaug.-Dissert., Würzburg 1893) und von Guttenberg und Gurber (Münch. med. Wochenschr. 1895, 141).

²⁾ Die einschlägige Literatur findet man in den Arbeiten von H. Schlesinger (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1880/81, Nr. 13) und v. Mering (ibidem 1878, Nr. 8).

³⁾ Über die betreffende Literatur cf. Radaeli (L) sperimentale 1900).

gegenüberzustellen, bewogen mich, den mit verschiedenen Silberpräparaten ausgeführten (3) Versuchen analoge mit den Quecksilberverbindungen an die Seite zu stellen.

Zur Ausführung dieser Untersuchungen verwendete ich Hunde, deren ständige und ausschließliche Diät in mit Kochsalzwasser gekochtem Brot bestand. Was die übrigen Einzelheiten der Technik anbelangt und die bei der Dosierung des Stickstoffs in der Nahrung, in den Faeces und im Harn in Anwendung gekommene, so verweise ich auf die oben erwähnte Arbeit (3).

Die der Prüfung unterzogenen Quecksilberverbindungen waren: HgCl_2 , Hyrgol, HgCl , Quecksilberthiosulfat, stabilisiertes und nicht stabilisiertes Hydrosol. Um die erhaltenen Resultate einander gegenüberstellen zu können, verwendete ich bei den Salzverbindungen und Hyrgol¹⁾ Lösungen von gleichem Metallgehalte²⁾; beim Hydrosol, dargestellt nach der Stodolschen Methode (4), bediente ich mich folgenden Kunstgriffes: Ich stellte jedesmal das Hydrosol in einer möglichst starken Konzentration her, bestimmte gleich den Metallgehalt nach der Methode von Rebière (5)³⁾ und verdünnte die Flüssigkeit mit Aqu. dest. (oder mit einer Lösung von 0,03%iger Gelatine in Aqu. destill., je nachdem das Hydrosol stabilisiert war oder nicht), bis ich ein Hydrosol von demselben Quecksilbergehalt wie die Salzlösungen erhielt. Die Injektionen wurden in die Jugularvene vorgenommen; die injizierte Flüssigkeitsmenge betrug stets 10 ccm.

* * *

Wie aus den angeführten Tabellen hervorgeht, weist die Einwirkung auf den Stickstoffumsatz im allgemeinen für alle geprüften Quecksilberverbindungen denselben Typus auf. Alle in Frage stehenden Präparate steigern den Stickstoffumsatz, indem sie an den der Einführung in die Zirkulation folgenden Tagen eine mehr oder weniger beträchtliche Vermehrung des Harnstickstoffs veranlassen. Der Stickstoffgehalt der Faeces bleibt dagegen fast unverändert.

¹⁾ Das verwendete Hyrgol-Präparat (Merck) enthielt 75% Hg [Hönel gibt ein wenig differierende Zahlen an (73 bis 80%)].

²⁾ Die Lösungen der verschiedenen Salze wurden mit Aqu. dest. angefertigt; Kalomel wurde in Olivenöl im Verhältnis 1 : 100 suspendiert und mit H_2O emulgiert.

³⁾ Die von Rebière vorgeschlagene Methode gab befriedigende Resultate; die Kontrollproben mit den Gewichtsmethoden und der volumetrischen Methode lieferten nur wenig verschiedene Daten.

Die Ergebnisse dieser Versuche decken sich mit denen, die Noël Paton erzielte, als er an Hunden das Verhalten des Stoffwechsels bei fortgesetzter Anwendung kleiner Dosen von Hg, sei es in Form von Sublimat oder Einreibungen, prüfte. Aber auch die Untersuchungen an Syphilitikern von v. Böck [über die Versuche am Hunde, die Loewi (6) zitiert, konnte ich keinen genaueren bibliographischen Hinweis finden] führen nicht zu abweichenden Ergebnissen, trotzdem die vom Autor gezogenen Schlüsse entgegengesetzt sind. In der Tat lehrt ein Blick auf die von diesem Autor erhaltenen Werte, daß bei einem der behandelten Versuchstiere die Stickstoffbilanz an den ersten 3 Versuchstagen von 0,1 auf 1,35 g Defizit im ganzen gesunken ist, was auf einer größeren Elimination von Stickstoff durch den Urin beruht, die dann in der folgenden Zeit, genau so, wie ich es beobachten konnte, durch eine Stickstoffretention, ebenfalls auf Kosten des Harnstickstoffs, ausgeglichen wird. Bei dem andern Versuchstiere weichen die von v. Böck erhaltenen Werte ein wenig von den berichteten ab.

Wenn wir dazu übergehen, im einzelnen das Verhalten von Harnstoff und Harnsäure zu untersuchen, finden wir, daß auch auf die Ausscheidung dieser einzelnen Stoffe die herangezogenen Quecksilberverbindungen einen fast gleichen Einfluß ausüben, indem sie in der Mehrzahl der Fälle eine beträchtliche relative und absolute Vermehrung der täglich durch den Harn ausgeschiedenen Mengen von Harnstoff und Harnsäure hervorrufen.

In diesem Punkte sind die Ansichten der Autoren etwas verschieden: Während nämlich Noël Paton (2) beim Hunde, Vajda (7), Rambach (8), Jakovleff (9) bei Syphilitikern eine Vermehrung des Harnstoffs finden, stellen v. Böck (1), Poehl (10), Radaeli (11) bei Syphilitikern, Schlesinger (12) bei Hunden, die fortgesetzt mit kleinen Dosen behandelt wurden, statt dessen eine Verminderung fest.

Auch hinsichtlich der Wirkung des Quecksilbers auf den Nuclein-Stoffwechsel kommen die wenigen Autoren, die sich damit beschäftigten (v. Böck, Vajda, Noël Paton) zu widersprechenden Ergebnissen; aber diese Widersprüche sind wie beim Harnstoff wahrscheinlich der von den verschiedenen Autoren angewandten nicht immer genügend exakten Technik zuzuschreiben.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß der Harnstoff sich infolge der Injektion von wenigen Milligrammen Quecksilber parallel dem Gesamtstickstoff vermehrt;

nachdem ein Maximum am 2. bis 3. Tage erreicht ist, vermindert sich die Menge an den folgenden Tagen, bis sie normale oder subnormale Werte erreicht.

Schwankungen parallel denen des Harnstoffs bemerkt man auch im Verhalten der Harnsäure; aber in diesem Falle verteilt sich die Vermehrung auf eine größere Anzahl von Tagen und erscheint oft nach Aufhören des Versuchs wieder, wenn das Tier auf dem Boden des Ausgleichs wieder angelangt ist.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Experimente mit dem Quecksilber denen gegenüberstellen, die wir bei früheren Untersuchungen über die Wirkung des Silbers auf den Stoffwechsel erhielten, so ergibt sich, daß der Einfluß dieser beiden Metalle auf den Stickstoffumsatz ähnlich ist.

Diese Analogien reihen sich denjenigen an, die beim Studium des Einflusses, den einerseits Hydrosole, andererseits Metallsalze auf die Autolyse ausüben, zutage getreten sind.

* * *

Wenn auch die Wirkung der verschiedenen Hg-Präparate auf den Stoffwechsel als im wesentlichen gleichartig erscheint, bestehen doch zwischen den einzelnen in den Versuch einbezogenen Verbindungen gewisse Verschiedenheiten, sei es bezüglich ihrer Aktivität, sei es in ihrer Wirkung auf die Stickstoffschlacken.

Während tatsächlich wenige Milligramme Quecksilberhydrosol genügen, um eine bemerkenswerte Vermehrung sowohl des Gesamtstickstoffs im Urin als auch des Harnstoffs und der Harnsäure (die beträchtlich gesteigerte Werte erreicht) hervorzurufen, sind etwas größere Dosen der verschiedenen Salzpräparate nötig, um dasselbe Ergebnis zu erzielen. Analoge, noch deutlichere quantitative Unterschiede waren bereits von uns auch für das Hydrosol und die Salze des Silbers (3) festgestellt worden; um sie zu erklären, wurde die Hypothese aufgestellt, daß sich die Wirkung auf den Stoffwechsel auf das metallische Ion beziehe und daß die Differenzen zwischen den verschiedenen Präparaten zu der größeren oder geringeren Leichtigkeit, mit der die Ionen in Freiheit gesetzt wurden, in Beziehung ständen.

Wenn die Kenntnisse, die wir über die Zusammensetzung des elektrisch dargestellten kolloiden Ag besitzen, uns erlaubten zu vermuten, daß die Unterschiede zwischen Kolloid und Salzen von dem Umstande abhängen, daß die Ag_2O -Partikelchen, die immer im elektrisch gewonnenen Silberhydrosol gegenwärtig sind, sich langsam und allmählich lösen und dissoziieren, sind ähnliche Annahmen, die sich auch für das Quecksilber aufdrängen, zurzeit nicht erlaubt, weil unsere Kenntnisse über die Zusammensetzung dieses Hydrosols ungenügend sind.

Eine bemerkenswerte Differenz besteht ferner zwischen dem Silber- und Quecksilberkolloid in der Art und Weise, wie sich die nicht stabilisierten Hydrosole dieser beiden Metalle verhalten.

Wie seinerzeit nachgewiesen wurde, erweist sich das nicht stabilisierte Silberhydrosol als völlig unwirksam sowohl auf den Stoffwechsel im allgemeinen als auch auf die Verteilung der Stickstoffschlacken. Dagegen ist die Wirkung des entsprechenden Quecksilberhydrosols nur etwas weniger deutlich als die des stabilisierten Hydrosols. Die Injektionen von gleichen Mengen von Hg, sei es in der Form des stabilisierten oder nicht stabilisierten Hydrosols, rufen eine fast gleiche Vermehrung des Gesamtstickstoffs im Urin und des abgesonderten Harnstoffs und der Harnsäure hervor; nur scheint diese letztere etwas mehr von dem stabilisierten Hydrosol beeinflußt zu sein.

Vielleicht hängen die Unterschiede in der Wirkungskraft zwischen dem stabilisierten und dem nicht stabilisierten Hydrosol des Silbers im Gegensatz zu den gleichmäßigen Resultaten, die das stabilisierte und nicht stabilisierte Quecksilberhydrosol ergeben, von dem Umstande ab, daß der Grad der Stabilität der beiden Kolloide — wenn sie auch auf dieselbe Art stabilisiert sind — ein sehr verschiedener ist: das Silberhydrosol ist sehr stabil und läßt sich gut aufbewahren, das des Quecksilbers ändert sich auch im stabilisierten Zustande schnell. Man versteht also, wie zwischen der Wirkung des stabilisierten und nicht stabilisierten Silberhydrosols beträchtliche Verschiedenheiten auftreten können, die sich dagegen zwischen den beiden Hydrosolen des Quecksilbers nicht beobachten lassen. Mit diesen Anschauungen harmoniert auch die Tatsache gut, daß die quantitativen Differenzen in der Wirkungskraft des stabili-

sierten Hydrosols und der Salze des Silbers geringer als die zwischen dem Hydrosol und den Salzen des Quecksilbers sind.

Unter den verschiedenen zur Anwendung gelangten Salzen erweisen sich Sublimat¹⁾ und Kalomel in den Mengen von 1 mg Hg pro Kilogramm Versuchstier wirksam: in solcher Dose steigern sie den Stickstoffumsatz und rufen eine bemerkenswerte Vermehrung des Harnstoffs und der Harnsäure hervor. Das Hyrgol veranlaßt eine Vermehrung des Gesamtstickstoffs im Urin und des Harnstoffs nur in etwas stärkeren Dosen (1,5 mg pro Kilogramm Tier); auf den Nucleinstoffwechsel übt es keinen Einfluß aus.²⁾

Was die Intensität der Wirkung anbetrifft, so ist diese beim Sublimat schnell und ausgiebig; weniger aktiv ist das Hyrgol und noch weniger das Kalomel; was die Dauer dieser Wirkungskraft angeht, so besitzen Sublimat und Hyrgol nur eine vorübergehende, flüchtige, während Kalomel einen lange anhaltenden Einfluß ausübt, der sich auf eine Reihe von 4 bis 5 Tagen ausdehnt und den man noch nach längerer Zeit in Form von vorübergehend gesteigerter Absonderung von Stickstoff im Urin und von seinen Verbindungen wahrnehmen kann.

Die Wirkungskraft des Quecksilberthiosulfats ist derartig von der der anderen Hg-Verbindungen verschieden, daß wir es für richtig gehalten haben, es getrennt von diesen zu behandeln. Injiziert in gleichen Mengen (nach dem Metallgehalt) wie die aktiven Dosen des Sublimats, rief das Thiosulfat bei einem der Hunde (Nr. 4) keine Veränderungen im Gesamtstickstoffgehalt des Urins, sondern nur eine beträchtliche Vermehrung der Menge der ausgeschiedenen Harnsäure hervor; bei Hund Nr. 5 dagegen veranlaßte dieselbe Menge von Thiosulfat eine deutlich bemerkbare Vermehrung des Gesamtstickstoffs, des Harnstoffs und der Harnsäure schon drei Tage nach der Injektion.

¹⁾ Es muß hinzugefügt werden, daß nicht alle Versuchstiere in gleichem Maße auf die Injektion von gleichen Dosen Sublimat reagierten. Diese individuellen Verschiedenheiten können vielleicht z. T. die Unterschiede in den von den Autoren beschriebenen Ergebnissen erklären.

²⁾ Das Verhalten des Hyrgols ermöglicht keinerlei Erklärung, zumal die Kenntnisse, die wir von der Zusammensetzung dieser Substanz besitzen, spärlich sind.

Zur weiteren Beweisführung wiederholte ich das Experiment mit stärkeren Dosen (2 mg Hg pro Kilogramm Tier) und konnte in diesem Falle bei allen beiden Hunden feststellen, daß die Vermehrung des Gesamt-N und der einzelnen Schlacken im Harn nicht an dem der Injektion folgenden Tage erfolgt, wie wir es bei den Injektionen der anderen Quecksilberverbindungen sahen, sondern sich erst 3 bis 4 Tage später einstellt und eine beträchtliche Zeit anhält. Dieses Verhalten des Quecksilberthiosulfats, auf das schon Sabbatani (15) aufmerksam machte, als er die Giftigkeit einiger Metallsalze mit Bezug auf die Dissoziation studierte, wird nach diesem Autor der Tatsache zugeschrieben, daß das Salzmolekül in den Lösungen dieser Verbindungen nicht in einfache Ionen, sondern in komplexe Ionen dissoziiert, so daß sich die Ionenwirkung des Quecksilbers (welcher seine charakteristischen pharmakologischen und toxischen Eigenschaften zukommen) nur offenbaren kann, wenn der Ionenkomplex sich durch Absonderung des Säureradikals in Gestalt des Kalium- oder Natriumsalzes gespalten hat. Diese Anschauungen erklären auch die früheren Versuche von Dreser (16), der bereits bemerkt hatte, daß die toxische Wirkung des Quecksilberthiosulfats viel geringer ist als die der andern organischen Verbindungen des Quecksilbers und daß man bei Anwendung gesteigerter Dosen dieses Salzes keine akute, sondern eher eine subakute Vergiftung erhält.

Ferner ist in der Wirkungsweise des Thiosulfats die sehr beträchtliche Vermehrung der Harnsäure beachtenswert, die auf Zahlen steigt, wie sie nur durch den Einfluß des Hydrosols erreicht wurden.

Die Tatsachen, die aus diesen Versuchen hervorgehen, lassen sich kurz folgendermaßen zusammenfassen:

1. Quecksilber, direkt in den Kreislauf eingeführt, sei es in Form des Hydrosols oder von Salz, beschleunigt in ausgesprochener Weise den Stickstoffumsatz, indem es seine Menge im Urin bedeutend vermehrt.

2. Um gleich starke Wirkung zu erreichen, sind größere Dosen von Sublimat, Kalomel, Hyrgol, Mercurithiosulfat als von Hydrosol nötig.

3. Es besteht kein Unterschied in der Wirkung des nicht stabilisierten und des stabilisierten Kolloids.

4. Parallel der Vermehrung des Gesamtstickstoffs vermehren sich auch Harnstoff und Harnsäure.

Literatur.

1. H. v. Böck, Zeitschr. f. Biol. 5, 393, 1869.
2. Noël Paton, Journ. of Anat. and Physiol. 1886—1887.
3. G. Izar, diese Zeitschr. 1909.
4. Stodel, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1907.
5. Rebière, ibidem 1908.
6. Loewi, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von v. Noorden, 2, 761.
7. Vajda, Vierteljahrsschr. f. Dermat. u. Syph. 1875.
8. Rambach, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1879.
9. Jakovleff, These St. Petersburg 1892 (zit. von Radaeli).
10. Poehl, Monatsh. f. prakt. Dermat. 6, 1103, 1887.
11. Radaeli, Lo sperimentale 1900.
12. Schlesinger, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak. 13, 1880/81.
13. G. Izar, diese Zeitschr. 17, 1909.
14. L. Preti, Hoppe-Seylers Zeitschr. 58, 60.
15. Sabbatani, Archiv. di Psich. Antrop. crimin. e Med. leg. 25, 1904.
16. Dreser, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 32, 1893.

Tabelle I.

Hündin Nr. 3. Diät: Brot 450 g; destill. Wasser 1000 ccm; Kochsalz 3 g.

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr g	Faeces			Harn		Gesamt-N- Ausfuhr g	N- Bilanz	Harnstoff-N g	Harnstoff g	Harnsäure-N mg	Harnsäure mg	Quotient + (N _U :N)×100	Quotient (N _U :N)×100
			Menge (ge- trock- net) g	N g	N pro die g	Menge ccm	Gesamt-N g								
Nov.															
3.-4.		6,052	58,4	2,494	0,831	720	5,194	6,025	+ 0,027	4,145	8,883	8	24	79,8	0,15
4.-5.						970	5,042	5,873	+ 0,179	4,217	9,037	7	22	83,6	0,14
5.-6.						720	5,039	5,870	+ 0,182	4,185	8,968	7	20	83,0	0,14
Mittelwert		6,052			0,831	5,092	5,923	+ 0,129	4,182	8,962	7	22	82,1	0,14	
6.-7.		6,052	123,37	4,705	0,784	760	6,722	7,506	- 1,454	5,549	11,891	33	99	82,5	0,49
7.-8.	6. XI. 9 Uhr morg. 10 ccm Hg-Hydro- sol nicht stabils. intrav. = 8 mg Hg					910	6,135	6,919	- 0,867	5,610	12,092	31	92	91,4	0,51
8.-9.						980	5,897	6,681	- 0,629	5,116	10,967	32	97	86,7	0,54
9.-10.						680	4,616	5,400	- 0,652	4,045	8,668	32	97	87,6	0,69
10.-11.						730	5,054	5,838	+ 0,214	4,122	8,833	27	80	81,5	0,53
11.-12.						840	5,653	6,437	+ 0,385	4,707	10,087	7	21	83,2	0,12
Mittelwert		6,052			0,784	5,679	6,463	- 0,411	4,858	10,410	27	81	85,5	0,48	
12.-13.		6,052	72,55	3,196	0,799	850	5,265	6,064	- 0,012	4,594	9,845	14	41	87,2	0,26
13.-14.						910	5,167	5,966	+ 0,086	4,352	9,326	12	36	84,2	0,23
14.-15.						900	5,014	5,883	+ 0,169	3,867	8,287	12	36	77,1	0,24
15.-16.						830	5,036	5,835	+ 0,217	4,102	8,791	7	21	83,3	0,14
Mittelwert		6,052			0,799	5,138	5,937	+ 0,115	4,229	9,063	11	33	82,3	0,24	
16.-17.		6,052	110,175	4,720	0,590	930	7,624	8,214	- 2,162	6,823	14,620	37	112	89,4	0,49
17.-18.						980	7,202	7,792	- 1,740	6,739	14,441	49	149	93,5	0,68
18.-19.						740	6,007	6,597	- 0,547	5,599	11,993	56	167	93,2	0,93
19.-20.						610	5,004	5,594	+ 0,458	4,683	10,040	61	183	93,5	1,21
20.-21.						815	4,102	4,692	+ 1,360	3,318	7,111	30	90	80,8	0,73
21.-22.						910	4,532	5,122	+ 0,930	3,850	8,251	25	75	86,9	0,55
22.-23.						670	4,914	5,504	+ 0,548	4,360	9,344	8	23	88,7	0,16
23.-24.						840	4,900	5,490	+ 0,562	4,110	8,808	16	49	83,8	0,33
Mittelwert		6,052			0,590	5,535	6,125	- 0,073	4,935	10,580	35	106	89,1	0,63	
24.-25.		6,052	48,34	2,342	0,780	750	5,231	6,011	+ 0,041	4,219	9,039	11	34	80,6	0,26
25.-26.						850	5,000	5,780	+ 0,272	3,870	8,292	8	23	77,4	0,16
26.-27.						730	5,107	5,887	+ 0,165	4,080	8,743	8	24	74,8	0,16
Mittelwert		6,052			0,780	5,112	5,892	+ 0,160	4,056	8,691	9	27	79,3	0,16	
27.-28.		6,052	97,32	4,304	0,861	870	5,099	5,960	+ 0,092	4,330	9,278	9	26	81,0	0,18
28.-29.						830	5,130	5,991	+ 0,061	4,370	9,364	8	25	85,5	0,16
29.-30.						740	5,116	5,977	+ 0,075	4,114	8,815	7	23	90,4	0,14
30. Nov. bis 1. Dez.						690	5,139	6,000	+ 0,052	4,119	8,825	8	25	80,1	0,16
1.-2.	27. XI. 9 Uhr morg. 10 ccm Hyrgol (Merck) 1:940° intrav. = 8 mg Hg					790	5,195	6,056	- 0,004	4,221	9,044	8	25	81,2	0,15
Mittelwert		6,052			0,861	5,135	5,996	+ 0,056	4,231	9,066	8	25	82,3	0,16	

Tabelle I (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	g N-Einfuhr	Faeces			Harn		Gesamt-N-Ausfuhr	N-Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsaure-N	Harnsaure	Quotient + (N : N) × 100	Quotient (N : N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	N pro die	Menge ccm	Gesamt-N								
Dez. 2.-3.		6,052	54,610	2,525	0,841	650	5,091	5,932	+ 0,120	3,874	8,295	8	24	76,0	0,16
3.-4.	"	"				910	5,132	5,973	+ 0,079	4,015	8,603	7	17	81,4	0,14
4.-5.	"	"				830	5,053	5,894	+ 0,158	4,117	8,813	6	17	81,4	0,14
Mittelwert		6,052				5,092	5,933	+ 0,119	4,002	8,576	7	20	78,5	0,14	
5.-6.	5. XII. 9 Uhr morg. 10 ccm Hyrgol. (Menge: 814 intrav. = 24 mg Hg)	6,052	14,19	4,494	0,749	860	5,897	6,646	- 0,594	4,605	9,868	9	27	78,0	0,15
6.-7.	"	"				980	6,220	6,969	- 0,917	4,774	10,230	13	39	76,4	0,21
7.-8.	"	"				900	5,082	5,831	+ 0,221	4,107	10,065	10	30	80,7	0,20
8.-9.	"	"				830	4,855	5,604	+ 0,448	3,730	7,993	10	30	76,7	0,21
9.-10.	"	"				640	5,220	5,969	+ 0,083	4,702	10,076	13	36	90,0	0,25
10.-11.	"	"				680	5,182	5,931	+ 0,121	4,760	10,160	11	32	91,8	0,21
Mittelwert		6,052			0,749	5,409	6,158	- 0,106	4,474	9,687	11	32	82,7	0,20	
11.-12.		6,052	41,17	2,150	0,717	715	5,250	5,967	+ 0,085	4,560	9,772	9	27	86,7	0,15
12.-13.	"	"				910	5,111	5,828	+ 0,224	4,044	8,536	6	19	79,1	0,12
13.-14.	"	"				830	5,153	5,870	+ 0,182	4,212	8,975	6	17	81,7	0,12
Mittelwert		6,052			0,717	5,171	5,880	+ 0,164	4,272	9,151	7	21	82,6	0,14	
14.-15.	14. XII. 9 Uhr m. 10 ccm HgCl ₂ 2/100 intrav. = 16 mg Hg	6,052	73,13	3,293	0,823	1100	5,560	6,383	- 0,331	4,632	9,926	19	87	83,3	0,34
15.-16.	"	"				970	6,107	6,930	- 0,878	4,959	9,627	50	150	81,2	0,82
16.-17.	"	"				840	5,855	6,678	- 0,626	5,448	11,675	52	157	93,0	0,88
17.-18.	"	"				930	5,960	6,783	- 0,731	4,268	9,146	23	68	71,6	0,39
Mittelwert		6,052			0,823	5,870	6,693	- 0,641	4,827	10,345	38	115	82,2	0,66	
18.-19.		6,052	32,819	7,390	0,616	810	5,111	5,727	+ 0,325	4,156	8,906	20	61	81,3	0,39
19.-20.	"	"				790	4,829	5,445	+ 0,607	3,780	8,070	31	92	78,3	0,64
20.-21.	"	"				850	4,270	4,886	+ 1,166	3,389	7,260	25	75	79,3	0,50
21.-22.	"	"				990	5,251	5,867	+ 0,185	4,015	8,604	29	86	76,4	0,55
22.-23.	"	"				1100	4,661	5,277	+ 0,775	3,660	7,821	6	19	78,3	0,13
23.-24.	"	"				900	5,111	5,727	+ 0,325	3,914	8,386	17	50	76,5	0,33
24.-25.	"	"				870	4,956	5,572	+ 0,480	3,707	7,943	13	41	74,7	0,26
25.-26.	"	"				700	5,153	5,769	+ 0,283	3,931	8,423	10	29	76,2	0,19
26.-27.	"	"				850	5,040	5,656	+ 0,396	4,066	8,712	7	21	80,6	0,14
27.-28.	"	"				845	5,167	5,783	+ 0,269	4,223	9,050	7	21	81,7	0,14
28.-29.	"	"				915	5,063	5,679	+ 0,373	4,043	8,536	8	24	79,8	0,16
29.-30.	"	"				990	5,044	5,660	+ 0,392	4,185	8,968	8	25	82,9	0,16
Mittelwert		6,052						0,616	4,971	5,587	+ 0,465	3,921	8,401	15	45

Tabelle I (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr g	Faeces			Harn		Gesamt-N-Ausfuhr g	N-Bilanz	Harnstoff-N g	Harnstoff g	Harnsäure-N mg	Harnsäure mg	Quotient + (N : N) × 100	Quotient (N : N) × 100				
			Menge (getrocknet) g	N g	N pro die g	Menge ccm	Gesamt-N g												
Dez. 30.-31.	XII. 9 Uhr m. 10 ccm HgCl ₂ ^{1/100} intrav. = 8 mg Hg	6,052	65,42	3,508	0,877	870	5,035	5,912	+ 0,140	4,370	9,364	20	59	86,7	0,40				
31. Dez. bis 1. Jan.						"	"	"	850	5,293	6,170	- 0,118	4,038	8,526	16	47	76,2	0,30	
1.-2.						"	"	"	"	910	5,095	5,972	+ 0,080	4,342	9,304	27	82	85,2	0,53
2.-3.						"	"	"	"	955	5,167	6,044	+ 0,008	4,380	9,386	12	36	84,7	0,23
Mittelwert						6,052		0,877		5,147	6,024	+ 0,028	4,282	9,175	19	56	83,2	0,37	
3.-4.	" " " " " " " "	6,052	179,914	6,335	0,792	600	5,063	5,855	+ 0,197	4,198	8,994	10	31	82,9	0,20				
4.-5.						"	"	"	800	5,021	5,813	+ 0,239	4,090	8,764	16	49	81,4	0,32	
5.-6.						"	"	"	730	5,098	5,890	+ 0,162	4,112	8,810	13	38	80,6	0,26	
6.-7.						"	"	"	850	5,176	5,968	+ 0,084	4,270	9,149	7	22	82,5	0,14	
7.-8.						"	"	"	915	5,193	5,985	+ 0,067	4,310	9,235	10	31	83,0	0,19	
8.-9.						"	"	"	925	5,014	5,806	+ 0,246	4,117	8,823	6	19	82,1	0,12	
9.-10.						"	"	"	870	5,127	5,919	+ 0,133	4,284	9,179	9	27	83,5	0,18	
10.-11.						"	"	"	940	5,079	5,871	+ 0,181	4,209	9,043	6	18	82,8	0,12	
Mittelwert						6,052		0,792		5,096	5,888	+ 0,164	4,198	8,994	10	29	82,3	0,20	
11.-12.	XI. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ ^{1/100} intravenös = 10 mg Hg	6,052	74,8	3,564	0,891	1200	6,301	7,192	- 1,140	5,197	11,055	26	79	82,4	0,41				
12.-13.						"	"	"	990	6,582	7,473	- 1,421	5,713	12,242	31	94	86,8	0,47	
13.-14.						"	"	"	1000	6,054	6,945	- 0,893	5,117	10,965	28	83	84,5	0,46	
14.-15.						"	"	"	990	5,448	6,339	- 0,287	4,814	10,318	18	53	88,3	0,33	
Mittelwert	6,052		0,891		6,096	6,897	- 0,935	5,210	11,165	26	77	85,4	0,43						
15.-16.	" " " " " " " "	6,052	137,26	5,537	0,791	850	4,645	5,436	+ 0,616	4,009	8,590	14	41	86,3	0,30				
16.-17.						"	"	"	730	5,209	6,000	+ 0,052	4,119	8,825	14	42	79,0	0,27	
17.-18.						"	"	"	850	—	—	—	—	—	16	47	—	—	
18.-19.						"	"	"	870	4,844	5,635	+ 0,417	4,100	8,786	19	59	84,6	0,39	
19.-20.						"	"	"	920	4,605	5,396	+ 0,656	3,870	8,295	9	26	84,0	0,20	
20.-21.						"	"	"	990	5,128	5,919	+ 0,133	4,317	9,241	17	52	84,2	0,33	
21.-22.						"	"	"	850	5,091	5,882	+ 0,170	4,091	8,770	9	26	80,3	0,18	
Mittelwert	6,052		0,791		4,920	5,711	+ 0,341	4,084	8,750	14	42	83,0	0,28						
22.-23.	XI. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ ^{1/100} intravenös = 8 mg Hg	6,052	64,12	3,121	0,780	715	5,027	5,807	+ 0,245	4,019	8,611	25	75	79,9	0,50				
23.-24.						"	"	"	820	5,072	5,852	+ 0,200	4,114	8,815	30	91	81,2	0,59	
24.-25.						"	"	"	890	5,048	5,828	+ 0,224	4,219	9,039	39	118	79,8	0,77	
25.-26.						"	"	"	990	5,105	5,885	+ 0,167	4,087	9,258	19	58	80,0	0,38	
Mittelwert	6,052		0,780		5,063	5,843	+ 0,209	4,108	8,802	28	85	81,1	0,55						

Tabelle I (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	g N-Einfuhr	Faeces			Harn		Gesamt-N. Ausfuhr	N. Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsaure-N	Harnsaure	Quotient + (NÜ: N) × 100	Quotient (NÜ: N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	g N pro die	Menge	Gesamt-N								
			g	g	g	ccm	g	g		g	g	mg	mg		
Jan. 26.-27.		6,052				1100	5,176	5,974	+ 0,078	4,380	9,386	13	39	84,6	0,25
27.-28.		"	43,195	2,394	0,798	1000	5,044	5,842	+ 0,210	4,178	8,963	18	54	82,8	0,36
28.-29.		"				900	4,956	5,754	+ 0,298	4,090	8,764	11	34	82,5	0,22
Mittelwert		6,052			0,798		5,059	5,857	+ 0,195	4,206	9,033	14	42	83,1	0,28
29.-30.	29. I. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ / 1st. intravenös = 16 mg Hg	6,052				830	5,313	6,123	- 0,071	4,719	10,102	35	106	88,8	0,66
30.-31.	"	"				920	5,313	6,123	- 0,071	4,680	10,029	50	151	88,1	0,94
31. Jan. bis 1. Febr. 1.-2.	"	"	80,09	3,243	0,810	970	5,421	6,231	- 0,179	4,830	10,352	47	140	89,1	0,87
	"	"				1000	5,198	6,008	+ 0,044	4,474	9,587	47	142	86,0	0,90
Mittelwert		6,052			0,810		5,311	6,121	- 0,069	4,676	10,020	45	135	88,0	0,85
2.-3.		6,052				1100	4,798	5,648	+ 0,404	3,870	8,295	40	121	80,6	0,88
3.-4.		"				970	4,312	5,162	+ 0,890	3,613	7,742	21	63	83,8	0,49
4.-5.		"				890	5,335	6,185	+ 0,133	4,419	9,459	32	95	82,8	0,60
5.-6.		"				930	5,176	6,026	+ 0,026	4,070	8,681	22	67	78,6	0,43
6.-7.		"				930	5,016	5,866	+ 0,186	4,127	8,606	28	84	82,2	0,56
7.-8.		"				790	5,156	6,006	+ 0,046	4,214	8,990	24	71	81,7	0,47
8.-9.		"	316,9	11,050	0,850	850	5,107	5,957	+ 0,095	4,130	8,850	14	43	80,8	0,27
9.-10.		"				830	5,084	5,934	+ 0,118	4,089	8,760	22	66	80,4	0,43
10.-11.		"				910	5,019	5,869	+ 0,183	4,119	8,825	12	37	82,0	0,24
11.-12.		"				870	5,016	5,966	+ 0,086	4,219	9,039	14	41	84,1	0,28
12.-13.		"				930	5,156	6,006	+ 0,046	4,113	8,810	10	30	79,7	0,19
13.-14.		"				915	4,970	5,820	+ 0,232	4,005	8,582	6	19	81,7	0,12
14.-15.		"				850	5,068	5,918	+ 0,134	4,117	8,223	9	27	81,2	0,18
Mittelwert		6,052			0,850		5,024	5,874	+ 0,178	4,085	8,750	19	58	81,3	0,38

Tabelle II.

Hündin Nr. 4. Diät: Brot 500 g; destill. Wasser 1000 ccm; Kochsalz 4 g.

Datum	Behandlung und Bemerkungen	g N-Einfuhr	Faeces			Harn		Gesamt-N. Ausfuhr	N. Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsaure-N	Harnsaure	Quotient + (NÜ: N) × 100	Quotient (NÜ: N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	g N pro die	Menge	Gesamt-N								
			g	g	g	ccm	g	g		g	g	mg	mg		
April 4.-5.		6,725				1300	5,718	6,452	+ 0,273	4,528	9,704	26	79	77,3	0,45
5.-6.		"				1100	5,938	6,673	+ 0,052	4,844	10,381	26	79	81,5	0,43
6.-7.		"	72,59	3,669	0,734	1300	—	—	—	4,450	9,536	20	60	—	—
7.-8.		"				1000	5,798	6,532	+ 0,193	4,415	9,461	24	71	95,8	0,41
8.-9.		"				1275	5,818	6,552	+ 0,173	4,466	9,571	26	79	76,1	0,44
Mittelwert		6,725			0,734		5,818	6,552	+ 0,173	4,540	9,729	24	73	78,0	0,41

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	g	Faeces			Harn		Gesamt-N-Ausfuhr	N-Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsäure-N	Harnsäure	Quotient + (N : N) × 100	Quotient (NU : N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	g N pro die	Menge	Gesamt-N								
			g	g	g	ccm	g	g	g	g	mg	mg			
April 9.-10.	9. IV. 9 Uhr morgens 10 ccm Hg-Hydrosool nicht stabilisiert, Intravende = 11,6 mg Hg	6,725	84,65	4,112	0,822	1500	6,896	7,718	- 0,993	5,346	11,456	27	82	77,5	0,39
10.-11.						800	5,160	5,982	+ 0,743	3,959	8,483	53	159	76,7	1,02
11.-12.						1400	5,792	6,614	+ 0,111	4,338	9,296	38	114	74,9	0,65
12.-13.						1200	5,202	6,024	+ 0,701	3,917	8,394	29	87	75,3	0,55
13.-14.						1200	5,202	6,024	+ 0,701	3,917	8,394	29	87	75,3	0,55
Mittelwert	6,725			0,822		5,831	6,653	+ 0,072	4,623	9,700	41	124	75,5	0,70	
14.-15.	" " " " " "	6,725	64,771	3,619	0,724	1300	6,318	7,042	- 0,317	4,717	10,113	47	141	74,6	0,74
15.-16.						1300	5,960	6,684	+ 0,041	5,181	11,103	30	90	86,9	0,50
16.-17.						1300	5,813	6,537	+ 0,188	4,844	10,381	36	107	83,3	0,61
17.-18.						1200	6,065	6,789	- 0,064	5,054	10,831	32	97	83,3	0,66
18.-19.						990	5,897	6,621	+ 0,104	4,580	9,814	27	81	77,6	0,45
Mittelwert	6,725			0,724		6,009	6,733	- 0,008	4,875	10,446	34	103	81,1	0,56	
19.-20.	19. IV. 9 Uhr morgens 10 ccm Hg-Hydrosool stabilisiert Intravende = 10,9 mg Hg	6,725	94,510	4,352	0,871	1550	7,160	8,03	- 1,306	6,492	13,919	52	157	90,6	0,72
20.-21.						1250	6,142	7,113	- 0,388	5,650	12,107	77	233	91,9	1,28
21.-22.						1320	5,307	6,178	+ 0,547	4,465	9,568	71	214	84,1	1,33
22.-23.						1175	5,876	6,747	- 0,022	4,760	10,200	85	255	81,0	1,44
23.-24.						1100	5,265	6,136	+ 0,589	4,170	8,936	34	101	79,2	0,64
Mittelwert	6,725			0,871		5,990	6,860	- 0,136	5,107	10,943	64	192	85,2	1,09	
24.-25.	" " " " " "	6,725	119,997	3,565	0,713	1250	5,686	6,399	+ 0,326	4,686	10,041	30	89	82,4	0,52
25.-26.						1155	5,602	6,315	+ 0,410	4,834	10,358	35	106	86,2	0,62
26.-27.						1300	5,792	6,505	+ 0,220	4,243	9,091	36	109	73,2	0,62
27.-28.						1200	5,813	6,526	+ 0,199	4,327	9,271	29	88	74,4	0,47
28.-29.						—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittelwert	6,725			0,713		5,723	6,436	+ 0,289	4,622	9,698	33	98	79,0	0,57	
Mai 1.-2.	1. V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ Intra- vende = 28 mg Hg	6,725	43,815	2,584	0,861	1000	6,044	6,905	- 0,180	5,521	11,830	52	155	91,3	0,86
2.-3.						1200	6,486	7,347	- 0,622	5,265	11,281	44	132	81,4	0,67
3.-4.						1380	6,002	6,863	- 0,138	5,054	10,831	17	52	84,2	0,28
Mittelwert	6,725			0,861		6,177	7,038	- 0,313	5,280	11,314	38	113	85,4	0,61	

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr g	Faeces			Harn		Gesamt-N- Ausfuhr g	N- Bilanz	Harnstoff-N g	Harnstoff g	Harnsaure-N mg	Harnsaure mg	Quotient + (N U : N) × 100	Quotient (N U : N) × 100		
			Menge (ge- trock- net) g	N g	N pro die g	Menge ccm	Gesamt-N g										
Mai																	
4.-5.		6,725				1330	6,213	6,900	- 0,175	5,791	12,409	19	56	93,2	0,30		
5.-6.		"				1000	5,623	6,310	+ 0,415	4,628	9,704	27	83	68,3	0,40		
6.-7.		"	110,056	4,122	0,687												
7.-8.		"				1350	6,206	6,893	- 0,168	5,017	10,750	33	100	83,2	0,54		
8.-9.		"				1230	5,834	6,521	+ 0,204	4,422	9,476	22	67	75,8	0,37		
9.-10.		"				1300	5,518	6,243	+ 0,482	4,212	9,026	28	84	76,3	0,50		
Mittelwert		6,725			0,687		5,879	6,566	+ 0,159	4,794	10,272	26	78	81,5	0,44		
10.-11.	10. V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ 1/100 intravenös = 12 mg Hg	6,725				1400	5,733	6,487	+ 0,238	4,212	9,026	35	105	73,4	0,61		
11.-12.	"	"	55,030	2,262	0,754	1270	5,660	6,414	+ 0,311	4,422	9,476	31	92	78,1	0,54		
12.-13.	"	"				1210	5,870	6,624	+ 0,101					31	92		0,52
Mittelwert		6,725			0,754		5,754	6,508	+ 0,217	4,317	9,249	32	96	75,0	0,55		
13.-14.		6,725				1300	6,002	6,807	- 0,082	5,170	11,079	32	96	86,1	0,53		
14.-15.		"				1350	6,002	6,807	- 0,082	5,170	11,079	25	75	86,1	0,41		
15.-16.		"	185,52	7,243	0,805	1090	6,002	6,807	- 0,082	5,093	10,913	19	58	84,8	0,31		
16.-17.		"				1040	5,581	6,386	+ 0,339	4,170	8,936	21	62	74,8	0,37		
17.-18.		"				1180	5,897	6,702	+ 0,023	4,482	9,604	33	98	76,0	0,56		
18.-19.		"				1520	5,459	6,264	+ 0,461	—	—	—	28	84	—	0,51	
19.-20.		"				1210	5,539	6,344	+ 0,381	—	9,026	23	70	—	0,41		
20.-21.		"				1030	5,750	6,555	+ 0,170	4,412	9,454	31	93	76,6	0,53		
21.-22.		"	1200	5,909	6,714	+ 0,011	4,402	9,433	28	84	74,5	0,47					
Mittelwert		6,725			0,805		5,793	6,598	+ 0,127	4,639	9,939	27	80	80,0	0,46		
22.-23.	22. V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ 1/100 intravenös = 20 mg Hg	6,725				1600	6,516	7,393	- 0,668	5,344	11,450	39	116	82,0	0,59		
23.-24.	"	"	43,090	2,631	0,877	1400	5,855	6,732	- 0,007	4,212	9,026	39	119	71,9	0,66		
24.-25.	"	"				1300	5,307	6,184	+ 0,541	4,044	8,665	45	135	76,0	0,67		
Mittelwert		6,725			0,877		5,892	6,769	- 0,044	4,533	9,717	41	123	76,8	0,69		
25.-26.		6,725				1260	5,939	6,638	+ 0,087	4,844	10,381	37	110	81,5	0,62		
26.-27.		"				1335	6,314	7,013	- 0,288	5,044	10,808	37	110	79,8	0,58		
27.-28.		"	164,52	6,990	0,699	1470	5,561	6,260	+ 0,465	4,233	9,071	51	152	76,1	0,57		
28.-29.		"				1370	6,171	6,870	- 0,155	5,138	11,009	31	92	83,2	0,50		
29.-30.		"				—	—	—	—	—	—	—	—	40	120	—	—
30.-31.		"				1300	6,129	6,828	- 0,103	5,270	11,293	23	69	85,9	0,37		
31. Mai		"				1200	5,750	6,449	+ 0,276	4,890	10,478	21	62	85,0	0,36		
b.1. Juni		"				1200	5,582	6,281	+ 0,444	4,317	10,489	24	74	77,5	0,43		
1.-2.		"				—	—	—	—	—	—	27	80	—	—		
2.-3.		"				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
3.-4.		"				1550	5,815	6,514	+ 0,211	4,424	9,485	32	97	76,0	0,55		
Mittelwert		6,725			0,699		5,907	6,606	+ 0,118	4,770	10,221	32	97	80,7	0,54		

Tabelle II (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	g	Faeces			Harn		Gesamt-N. Ausfuhr	N-Bilanz	g	g	mg	mg	Quotient + (N : N) × 100	Quotient (N : N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	g N pro die	Menge com	Gesamt-N								
Juni 4.-5.	4. VI. 9 Uhr morgens 10 com Hyzsol. (Merok) 1:215 intravenös = 85 mg Hg	6,725				1750	6,403	7,225	-0,500	4,908	10,516	26	77	76,6	0,40
5.-6.		62,080	2,466	0,822		1500	5,885	6,707	+0,018	4,733	10,142	32	96	80,4	0,54
6.-7.							1450	6,290	7,112	-0,387	4,969	10,649	26	77	79,0
Mittelwert		6,725			0,822		6,192	7,014	-0,289	4,870	10,435	28	83	78,6	0,45
7.-8.		6,725				1400	6,108	6,836	-0,111	5,090	10,907	20	60	83,3	0,32
8.-9.		67,266	3,643	0,728		1500	5,840	6,568	+0,157	4,443	9,521	27	82	76,0	0,46
9.-10.						1610	5,848	6,576	+0,149	4,526	9,721	24	73	77,5	0,41
10.-11.						1550	5,907	6,695	+0,030	5,251	11,253	23	70	88,0	0,38
11.-12.						1370	5,792	6,520	+0,205	4,634	9,939	28	84	80,0	0,48
Mittelwert		6,725			0,728		5,911	6,639	+0,086	4,791	10,181	25	74	81,0	0,42
12.-13.		12. VI. 9 Uhr morg. 10 com Quecksilberthio-sulfat 1/100 intravenös = 20 mg Hg	6,725				1400	5,960	6,800	-0,175	5,475	11,732	64	193	91,8
13.-14.	71,613		2,520	0,840		1490	5,706	6,546	+0,179	4,769	10,218	78	234	83,5	0,13
14.-15.						1510	5,909	6,749	-0,024	4,942	10,591	91	273	83,6	0,15
Mittelwert	6,725				0,840		5,858	6,698	+0,027	5,062	10,847	78	233	86,4	0,13
15.-16.	6,725				1570	5,848	6,587	+0,138	4,774	10,229	25	75	79,7	0,42	
16.-17.	91,770	5,173	0,739		1290	5,897	6,636	+0,089	4,802	10,290	41	122	81,4	0,69	
17.-18.					1570	—	—	4,771	10,221	29	88	—	—	—	
18.-19.					1400	6,108	6,847	-0,122	5,422	11,618	18	55	95,1	0,29	
19.-20.					1610	5,729	6,468	+0,257	4,818	10,323	24	73	84,1	0,41	
20.-21.					1940	5,756	6,495	+0,230	5,054	10,831	39	117	87,8	0,67	
21.-22.					1400	5,686	6,425	+0,300	4,422	9,476	22	65	77,7	0,38	
Mittelwert				6,725			0,739		5,854	6,593	+0,132	4,866	10,426	28	85
22.-23.	22. VI. 9 Uhr morg. 10 com Quecksilberthio-sulfat 1/100 intravenös = 50 mg Hg	6,725				1840	6,037	6,754	-0,029	5,370	10,507	35	106	91,1	0,59
23.-24.		55,140	2,150	0,717		1170	6,107	6,824	-0,099	5,294	11,343	55	165	86,6	0,90
24.-25.						1430	6,476	7,193	-0,468	5,672	12,155	40	119	87,5	0,61
Mittelwert		6,725			0,717		6,207	6,924	-0,199	5,445	11,667	43	130	71,6	0,69
25.-26.	6,725				1540	6,848	7,452	-0,727	6,094	13,059	21	62	89,0	0,30	
26.-27.	157,14	4,830	0,604		1175	6,932	7,536	-0,811	6,782	14,533	19	56	97,8	0,27	
27.-28.					1320	6,765	7,369	-0,644	5,917	12,678	43	130	87,4	0,63	
28.-29.					1150	5,160	5,764	+0,961	4,414	9,458	29	87	85,5	0,56	
29.-30.					1200	5,519	6,123	+0,602	4,219	9,039	25	74	76,4	0,45	
30. Juni					1140	5,760	6,364	+0,361	4,832	10,354	30	91	83,8	0,52	
b. 1. Juli					1150	6,054	6,658	+0,067	5,017	10,750	29	86	82,8	0,47	
1.-2.	970	5,865	6,469	+0,256	4,319	9,253	24	74	70,6	0,40					
2.-3.															
Mittelwert	6,725			0,604		6,113	6,717	+0,008	5,199	11,139	27	82	85,0	0,44	

Tabelle III.

Hündin Nr. 5. Diät: Brot 350 g; dest. Wasser 800 ccm; Kochsalz 2 g.

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr g	Faeces			Harn		Gesamt-N- Ausfuhr g	N- Bilanz	Harnstoff-N g	Harnstoff g	Harnsäure-N mg	Harnsäure mg	Quotient + (NU: N) × 100	Quotient (NU: N) × 100		
			Menge (ge- trock- net) g	N g	g N pro die	Menge ccm	Gesamt-N g										
April																	
27.-28.		4,707				610	3,791	4,464	+ 0,243	1,966	4,213	25	75	51,8	0,66		
28.-29.		"				860	3,833	4,506	+ 0,201	1,685	3,611	22	67	43,9	0,59		
29.-30.		"	68,962	2,692	0,673	740	3,959	4,632	+ 0,075	1,938	4,153	24	74	48,9	0,61		
30. April bis 1. Mai	"							700	3,791	4,464	+ 0,243	2,050	4,393	21	64	54,0	0,55
Mittelwert	4,707						0,673		3,843	4,516	+ 0,191	1,909	4,090	23	70	49,6	0,60
1.-2.	1. V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ 7/100 intravenös = 10 mg Hg	4,707				800	4,528	5,153	- 0,446	2,527	5,414	58	173	55,8	1,31		
2.-3.		"	32,399	1,874	0,625	600	4,001	4,626	+ 0,081	3,229	6,918	56	166	80,7	1,40		
3.-4.		"				700	4,142	4,767	- 0,060	2,822	6,086	50	150	68,1	1,20		
Mittelwert	4,707						0,625		4,224	4,849	- 0,142	2,859	6,125	55	164	67,6	1,30
4.-5.		4,707				680	4,282	5,028	- 0,321	2,797	5,992	11	34	65,3	0,26		
5.-6.		"	75,176	4,475	0,746	700	3,538	4,284	+ 0,423	1,825	3,910	32	95	51,5	0,90		
6.-7.		"				910	4,170	4,916	- 0,209	2,966	6,327	35	106	71,1	0,84		
7.-8.		"				850	4,131	4,877	- 0,170	2,544	5,452	—	—	61,5	—		
8.-9.		"				860	3,791	4,537	+ 0,170	1,386	3,970	13	38	36,5	0,34		
9.-10.		"				900	4,001	4,747	- 0,040	1,966	4,213	22	66	49,1	0,55		
Mittelwert	4,707						0,746	—	3,985	4,731	- 0,024	2,248	4,817	38	113	61,4	0,95
10.-11.	10. V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ 7/100 intravenös = 9 mg Hg	4,707				600	3,749	4,390	+ 0,317	2,106	4,513	27	81	53,7	0,72		
11.-12.		"	34,240	1,923	0,641	800	3,580	4,221	+ 0,486	2,948	6,315	31	94	82,3	0,87		
12.-13.		"				660	3,787	4,428	+ 0,279	—	—	23	70	—	0,61		
Mittelwert	4,707						0,641		3,705	4,346	+ 0,361	2,527	5,414	27	82	68,2	0,73
13.-14.		4,707				700	4,142	4,809	+ 0,102	2,246	4,813	31	94	64,1	0,89		
14.-15.		"	106,94	6,006	0,667	670	3,580	4,247	+ 0,460	1,741	3,731	34	103	48,6	0,95		
15.-16.		"				750	3,861	4,528	+ 0,179	1,944	4,164	19	56	50,3	0,49		
16.-17.		"				820	3,738	4,405	+ 0,302	1,967	4,213	19	57	52,6	0,51		
17.-18.		"				680	3,650	4,317	+ 0,390	2,246	4,813	17	50	61,5	0,47		
18.-19.		"				720	3,650	4,317	+ 0,390	2,246	4,813	24	73	61,5	0,66		
19.-20.		"				730	3,972	4,639	+ 0,068	2,246	4,813	28	85	61,5	0,70		
20.-21.		"				670	3,650	4,317	+ 0,390	1,938	4,151	20	60	53,1	0,55		
21.-22.		"				810	3,650	4,317	+ 0,390	1,966	4,213	26	78	53,8	0,71		
Mittelwert	4,707						0,667		3,766	4,433	+ 0,274	2,062	4,418	24	73	54,7	0,64

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr g	Faeces			Harn		Gesamt-N-Ausfuhr g	N-Bilanz	Harnstoff-N g	Harnstoff g	Harnsäure-N mg	Harnsäure mg	Quotient $\frac{+}{\text{N.U.} \times 100}$	Quotient $\frac{\text{N.U.} \times 100}{\text{N.U.} \times 100}$	
			Menge (ge-trock-net) g	N g	N pro die g	Menge ccm	Gesamt-N g									
Mai 22.-23.	22.V. 9 Uhr morg. 10 ccm HgCl ₂ ^{1/100} intrav. = 10 mg Hg	4,707				900	4,229	4,984	- 0,277	2,786	5,977	35	104	65,8	0,83	
23.-24.			34,323	2,265	0,755	650	4,409	5,164	- 0,457	2,134	4,573	50	150	48,4	1,13	
24.-25.						800	3,594	4,349	+ 0,358				37	111		1,03
Mittelwert	4,707			0,755		4,077	4,832	- 0,125	2,460	5,225	41	122	60,3	1,00		
25.-26.	4. VI. 9 Uhr morgens 10 ccm Hyrgol (Merok) 1:500 intrav. = 15,1 mg Hg	4,707				560	3,580	4,233	+ 0,474	2,134	4,573	26	79	59,6	0,73	
26.-27.						810	3,931	4,584	+ 0,123	2,246	4,813	34	101	57,1	0,86	
27.-28.						850	4,282	4,935	- 0,228	2,808	4,515	28	84	65,5	0,65	
28.-29.						620	4,226	4,879	- 0,172	2,425	5,197	28	84	57,3	0,66	
29.-30.						710	4,226	4,879	- 0,172	2,668	5,718	32	97	63,1	0,76	
30.-31.			112,3	6,528	0,653	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31. Mai bis 1. Juni						600	3,721	4,374	+ 0,333	1,614	3,451	25	74	44,3	0,67	
1.-2.				600	3,440	4,093	+ 0,614	1,598	3,425	28	85	46,4	0,81			
2.-3.				—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
3.-4.				690	3,510	4,163	+ 0,544	1,780	3,815	26	79	61,9	0,74			
Mittelwert	4,707			0,653		3,864	4,517	+ 0,190	2,196	4,706	28	85	56,8	0,72		
4.-5.	4. VI. 9 Uhr morgens 10 ccm Hyrgol (Merok) 1:500 intrav. = 15,1 mg Hg	4,707				730	4,331	4,894	- 0,187	2,948	6,315	23	71	68,0	0,53	
5.-6.			38,65	1,689	0,563	800	4,650	5,213	- 0,506	2,808	6,018	22	65	60,3	0,47	
6.-7.						800	4,029	4,592	+ 0,115	2,364	6,137	22	67	71,1	0,55	
Mittelwert	4,707			0,563		4,337	4,900	- 0,193	2,873	6,157	22	67	66,2	0,51		
7.-8.	4. VI. 9 Uhr morgens 10 ccm Hyrgol (Merok) 1:500 intrav. = 15,1 mg Hg	4,707				1010	3,707	4,295	+ 0,412	1,933	4,142	25	74	52,1	0,67	
8.-9.						770	3,159	3,747	+ 0,960	1,727	3,701	32	95	55,3	1,13	
9.-10.			51,308	2,939	0,588	540	3,299	3,887	+ 0,820	1,587	3,401	24	72	48,1	0,73	
10.-11.						750	3,798	4,386	+ 0,321	1,808	3,874	26	78	47,6	0,68	
11.-12.						650	3,842	4,430	+ 0,277	1,946	4,170	26	78	60,6	0,68	
Mittelwert	4,707			0,588		3,561	4,149	+ 0,558	1,800	3,857	26	79	50,5	0,73		
12.-13.	12. VI. 9 Uhr morgens 10 ccm Quecksilberthioacetat ^{1/100} intrav. = 10 mg Hg	4,707				1070	3,658	4,373	+ 0,334	2,026	4,343	30	90	69,7	0,82	
13.-14.			22,89	2,145	0,715	670	3,805	4,520	+ 0,187	1,966	4,213	54	161	51,6	1,35	
14.-15.						590	3,878	4,593	+ 0,114	1,825	3,921	60	181	47,0	1,54	
Mittelwert	4,707			0,715		3,780	4,495	+ 0,212	1,939	4,155	48	144	51,3	1,26		

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr	Faeces			Harn		Gesamt-N-Ausfuhr	N-Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsaure-N	Harnsaure	Quotient (NU:N) × 100	Quotient NU:N × 100
			Menge (getrocknet)	N	g N pro die	Menge	Gesamt-N								
		g	g	g	ccm	g	g	g	g	g	mg	mg			
Juni															
15.-16.		4,707				840	4,142	4,745	-0,038	2,303	4,935	14	42	55,6	0,34
16.-17.		"				1015	4,401	5,004	-0,297	2,780	5,958	18	55	69,4	0,45
17.-18.		"				830	—	—	—	—	—	31	94	—	—
18.-19.		"	99,704	4,221	0,603	700	4,212	4,815	-0,108	2,527	5,415	37	110	60,0	0,88
19.-20.		"				800	3,721	4,324	+0,383	2,668	5,718	27	82	71,7	0,73
20.-21.		"				660	3,791	4,394	+0,313	1,996	4,277	21	64	51,8	0,55
21.-22.		"				700	3,959	4,562	+0,145	2,085	4,468	22	66	52,6	0,56
Mittelwert		4,707			0,603		4,038	4,641	+0,066	2,393	5,126	24	73	59,2	0,59
22.-23.	22. VI. 9 Uhr morgens 10 ccm Quecksilber- thiosulfat/100 intrav. = 20 mg Hg	4,707				1230	3,750	4,400	+0,307	1,902	4,076	27	82	60,7	0,72
23.-24.	"	"	68,17	1,950	0,650	680	3,861	4,511	+0,196	1,685	3,611	32	96	43,6	0,83
24.-25.	"	"				770	4,721	5,371	-0,664	2,246	4,813	56	168	47,6	1,18
Mittelwert		4,707			0,650		4,111	4,761	-0,054	1,944	4,162	38	115	47,6	0,93
25.-26.		4,707				920	4,601	5,175	-0,468	1,966	4,213	50	151	42,7	1,08
26.-27.		"				930	4,580	5,154	-0,447	2,527	5,415	34	102	55,1	0,74
27.-28.		"				796	4,980	5,554	-0,847	2,527	5,415	42	126	63,4	0,84
28.-29.		"				810	3,510	4,084	+0,623	1,966	4,213	21	61	56,0	0,60
29.-30.		"	101,174	4,590	0,574	650	4,299	4,873	-0,166	2,106	4,513	24	73	48,9	0,56
30. Juni bis 1. Juli		"				700	3,510	4,084	+0,623	1,966	4,213	82	246	56,0	2,23
1.-2.		"				600	3,791	4,365	+0,342	1,966	4,213	21	63	51,8	0,55
2.-3.		"				630	3,510	4,084	+0,623	1,685	3,611	25	74	48,0	0,71
Mittelwert		4,707			0,574		4,098	4,672	+0,035	2,088	4,475	37	102	54,8	0,90
3.-4.	3. VII. 9 Uhr morgens 10 ccm Hg-Hydrosoel nicht stabil. intrav. = 5 mg Hg	4,707				620	5,313	6,041	-1,334	3,246	6,956	57	172	61,1	1,07
4.-5.	"	"	50,070	2,185	0,728	580	4,812	5,540	-0,833	3,246	6,956	37	112	67,4	0,77
5.-6.	"	"				730	3,412	4,140	+0,567	2,324	4,980	31	92	68,1	0,91
Mittelwert		4,707			0,728		4,512	5,240	-0,533	2,938	6,296	42	125	65,1	0,93
6.-7.		4,707				630	4,159	4,771	-0,064	3,017	6,465	34	101	72,5	0,81
7.-8.		"				690	3,791	4,403	+0,304	2,670	5,616	49	149	70,4	1,29
8.-9.		"	59,791	3,672	0,612	850	4,001	4,613	+0,094	2,312	4,955	27	83	57,7	0,67
9.-10.		"				740	3,678	4,290	+0,417	2,074	4,445	14	43	56,3	0,38
10.-11.		"				810	—	—	—	2,001	4,288	23	70	—	—
11.-12.		"				870	3,868	4,480	+0,227	1,849	3,963	24	73	47,8	0,62
Mittelwert		4,707			0,612		3,899	4,511	+0,196	2,320	4,972	29	86	59,5	0,75

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Behandlung und Bemerkungen	N-Einfuhr	Faeces			Harn		Gesamt-N- Ausfuhr	N- Bilanz	Harnstoff-N	Harnstoff	Harnsaure-N	Harnsaure	Quotient + (NÜ: N) × 100	Quotient (NÜ: N) × 100
			Menge (getrocknet)	N	N pro die	Menge	Gesamt-N								
		g	g	g	ccm	g	g	g	g	g	mg	mg			
Juli 12.-13.	14 VII. 9 Uhr morgens 10 ccm Hg-Hydrosoel stabil. intrav. = 5 mg Hg	4,707				750	4,970	5,489	- 0,782	3,145	6,740	48	145	63,2	0,96
13.-14.			30,217	1,557	0,519	840	5,791	6,310	- 1,603	3,790	8,122	71	212	65,4	1,25
14.-15.							630	4,721	5,240	- 0,533	3,413	7,314	36	109	72,3
Mittelwert	4,707			0,519		5,161	5,680	- 0,973	3,449	7,391	52	155	66,8	1,00	
15.-16.	22 VII. 9 Uhr morgens 10 ccm HgCl ₂ intrav. = 10 mg Hg	4,707				570	3,159	3,629	+ 1,078	2,319	4,970	39	117	73,4	1,23
16.-17.						490	3,650	4,120	+ 0,587	2,814	6,030	31	92	77,1	0,95
17.-18.						560	3,861	4,331	+ 0,376	2,117	4,537	28	84	54,8	0,74
18.-19.			64,04	3,291	0,470	560	3,650	4,120	+ 0,572	2,011	4,310	19	58	55,1	0,52
19.-20.						620	3,721	4,191	+ 0,516	1,715	3,675	22	65	72,9	0,59
20.-21.						710	3,678	4,148	+ 0,559	1,994	4,273	26	79	54,2	0,70
21.-22.				710	3,777	4,247	+ 0,460	2,003	4,292	27	81	53,0	0,71		
Mittelwert	4,707		0,470		3,642	4,112	+ 0,595	2,139	4,584	27	82	63,6	0,74		
2.-23.	22 VII. 9 Uhr morgens 10 ccm HgCl ₂ intrav. = 10 mg Hg	4,707				900	4,159	4,772	- 0,065	2,470	5,293	33	100	59,4	0,79
23.-24.			27,31	1,839	0,613	600	4,370	4,983	- 0,276	2,543	5,450	33	99	56,8	0,75
24.-25.						540	4,214	4,827	- 0,120	2,613	5,600	27	80	60,6	0,64
Mittelwert	4,707		0,613		4,248	4,861	- 0,154	2,542	5,448	31	93	59,9	0,73		
25.-26.	31. Juli b s 1. Aug.	4,707				530	4,009	4,558	+ 0,149	2,314	4,959	38	114	57,7	0,94
26.-27.						540	4,208	4,757	- 0,050	2,003	4,292	39	117	47,6	0,92
27.-28.						590	3,714	4,263	+ 0,444	1,638	3,510	27	81	43,1	0,72
28.-29.			79,84	3,843	0,549	660	3,791	4,340	+ 0,367	1,945	4,168	43	129	50,4	1,13
29.-30.						715	4,409	4,958	- 0,251	2,544	5,452	19	57	57,7	0,43
30.-31.						820	3,312	3,861	+ 0,846	1,967	4,213	34	102	59,4	1,02
Mittelwert	4,707		0,549		3,884	4,433	+ 0,274	2,074	4,443	32	96	53,4	0,82		

Tabelle IV.
Hündin Nr. 3.

	Dauer der Periode in Tagen	Gewicht kg	Gesamt-N-Ein-fuhr	Gesamt-N im Kot	Gesamt-N im Harn	Gesamt-N-Aus-fuhr	N-Bilanz	Gesamt-+ U N	Gesamt-Ü N	$\frac{+UN}{N} \times 100$	$\frac{-UN}{N} \times 100$	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+ U N pro die g	- U N pro die mg			
			Datum									
Vorperiode	3 3. Nov. bis 6.	16,200	18,156 6,052	2,494 0,831	15,276 5,092	17,770 5,923	+ 0,386 + 0,129	12,547 4,182	21 7	82,1	0,14	
Hg-Hydrosol, nicht stabilisiert	Versuchs- periode	6 6.-12.	16,990	36,312 6,052	4,705 0,784	34,074 5,679	38,779 6,463	- 2,467 - 0,411	29,149 4,858	162 27	85,5	0,48
	Nach- periode	4 12.-16.	16,630	24,208 6,052	3,196 0,799	20,552 5,138	23,748 5,937	+ 0,460 + 0,115	16,915 4,229	44 11	82,3	0,24
Hg-Hydrosol, stabilisiert	Versuchs- periode	8 16.-24.	16,100	48,416 6,052	4,720 0,590	44,280 5,535	49,000 6,125	- 0,584 - 0,073	39,482 4,935	360 35	89,1	0,63
	Nach- periode	3 24.-27.	15,900	18,156 6,052	2,342 0,780	15,336 5,112	17,678 5,892	+ 0,478 + 0,160	12,169 4,056	27 9	79,3	0,16
Hyrgol, geringe Dosis	Versuchs- periode	5 27. Nov. b. 2. Dez.	15,880	30,260 6,052	4,304 0,861	25,675 5,135	29,979 5,996	+ 0,281 + 0,056	21,154 4,231	40 8	82,3	0,16
	Nach- periode	3 2.-5.	15,950	18,156 6,052	2,525 0,841	15,276 5,092	17,801 5,933	+ 0,355 + 0,119	12,006 4,002	21 7	78,5	0,14
Hyrgol, starke Dosis	Versuchs- periode	6 5.-11.	16,230	36,312 6,052	4,494 0,749	32,454 5,409	36,948 6,158	- 0,636 - 0,106	26,698 4,474	66 11	82,7	0,20
	Nach- periode	3 11.-14.	15,900	18,156 6,052	2,150 0,717	15,513 5,171	17,663 5,880	+ 0,493 + 0,164	12,816 4,272	21 7	82,6	0,14
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	4 14.-18.	15,830	24,208 6,052	3,293 0,823	23,480 5,870	26,673 6,693	- 2,465 - 0,641	19,307 4,827	152 38	82,2	0,65
	Nach- periode	12 18.-30.	16,110	72,624 6,052	7,390 0,616	59,656 4,971	67,046 5,587	+ 5,578 + 0,465	47,059 3,921	180 15	78,8	0,3
HgCl ₂ , geringe Dosis	Versuchs- periode	4 30. Dez. b. 3. Jan.	16,340	24,208 6,052	3,508 0,877	20,590 5,147	24,098 6,024	+ 0,110 + 0,028	17,130 4,282	76 19	83,2	0,37
	Nach- periode	8 3.-11.	15,810	48,416 6,052	6,335 0,792	40,771 5,096	47,106 5,888	+ 1,310 + 0,164	33,590 4,198	80 10	82,3	0,20
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	4 11.-15.	15,900	24,208 6,052	3,564 0,891	24,385 6,096	27,949 6,897	- 3,741 - 0,935	20,841 5,210	84 26	85,4	0,43
	Nach- periode	7 15.-22.	15,700	42,364 6,052	5,537 0,791	29,522 4,920	35,059 5,711	+ 7,305 + 0,341	28,586 4,084	98 14	83,0	0,28

Tabelle IV (Fortsetzung).

	Dauer der Periode in Tagen	Ge- wicht	Gesamt- N-Ein- fuhr	Gesamt- N im Kot	Gesamt- N im Harn	Gesamt- N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Gesamt- + U N	Gesamt- - U N	$\frac{+U N \times 100}{N}$	$\frac{-U N \times 100}{N}$	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+ U N pro die g	- U N pro die g			
	Datum	kg										
HgCl ₂ , geringe Dosis	Versuchs- periode	4 22. Jan. bis 26.	15,800	24,208 6,052	3,121 0,780	20,252 5,063	23,373 5,843	+ 0,835 + 0,209	16,439 4,108	112 28	81,1	0,55
	Nach- periode	3 26.-29.	16,100	18,156 6,052	2,394 0,798	5,176 5,059	17,570 5,857	+ 0,586 + 0,195	12,648 4,206	42 14	83,1	0,28
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	4 29. Jan. b. 2. Feb.	16,00	24,208 6,052	3,243 0,810	21,245 5,311	24,488 6,121	- 0,280 - 0,069	18,703 4,676	180 45	88,0	0,85
	Nach- periode	13 2.-15.	15,900	78,676 6,052	11,050 0,850	65,313 5,024	76,363 5,874	+ 2,313 + 0,178	53,105 4,085	247 19	81,3	0,38

Tabelle V.
Hündin Nr. 4.

	Dauer der Periode in Tagen	Ge- wicht	Gesamt- N-Ein- fuhr	Gesamt- N im Kot	Gesamt- N im Harn	Gesamt- N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Gesamt- + U N	Gesamt- - U N	$\frac{+U N \times 100}{N}$	$\frac{-U N \times 100}{N}$	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+ U N pro die g	- U N pro die mg			
	Datum	kg										
Vorperiode	5 4. April bis 9.	23,200	33,625 6,725	3,669 0,734	29,090 5,818	32,759 6,552	+ 0,866 + 0,173	22,700 4,540	120 24	78,0	0,41	
Hg-Hy- drosol, nicht sta- bilisiert	Versuchs- periode	5 9.-14.	23,500	33,625 6,725	4,112 0,822	29,155 5,831	33,267 6,653	+ 0,358 + 0,072	22,615 4,523	205 41	75,5	0,70
	Nach- periode	5 14.-19.	23,000	33,625 6,725	3,619 0,724	30,045 6,009	33,664 6,733	- 0,039 - 0,008	24,375 4,875	170 34	81,1	0,56
Hg-Hy- drosol, stabili- siert	Versuchs- periode	5 19.-24.	23,100	33,625 6,725	4,352 0,871	29,950 5,990	34,302 6,860	- 0,677 - 0,136	25,535 5,107	320 64	85,2	1,09
	Nach- periode	5 24.-29.	23,600	33,625 6,725	3,565 0,713	28,615 5,725	32,180 6,436	+ 1,445 + 0,289	22,610 4,522	165 33	79,0	0,57
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	3 1.-4. Mai	23,500	20,175 6,725	2,584 0,861	18,531 6,177	21,115 7,038	- 0,490 - 0,313	15,840 5,280	114 38	85,4	0,61
	Nach- periode	6 4.-10.	22,700	40,350 6,725	4,122 0,687	35,274 5,879	39,396 6,566	+ 0,954 + 0,159	28,764 4,794	156 26	81,5	0,44
HgCl ₂ , geringe Dosis	Versuchs- periode	3 10.-13.	23,000	20,175 6,725	2,262 0,754	17,262 5,754	19,524 6,508	+ 0,651 + 0,217	12,951 4,317	96 32	75,0	0,55
	Nach- periode	9 13.-22.	23,100	60,525 6,725	7,243 0,805	52,137 5,793	59,380 6,598	+ 1,145 + 0,127	41,751 4,639	243 27	80,0	0,46

Tabelle V (Fortsetzung).

	Dauer der Periode in Tagen	Gewicht	Gesamt-N-Einfuhr	Gesamt-N im Kot	Gesamt-N im Harn	Gesamt-N-Ausfuhr	N-Bilanz	Gesamt-+UN	Gesamt-UN	$\frac{+UN}{N} \times 100$	$\frac{UN}{N} \times 100$	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+UN pro die g	-UN pro die mg			
	Datum	kg	g	g	g	g		g	mg			
HgCl ₂ starke Dosis	Versuchsperiode	3 22. Mai bis 25.	22,80	20,175 6,725	2,631 0,877	17,676 5,892	20,307 6,769	-0,132 -0,044	13,599 4,533	123 41	76,8	0,69
	Nachperiode	10 25. Mai b. 4. Juni	22,900	67,250 6,725	6,990 0,699	59,070 5,907	66,060 6,606	+1,190 +0,119	47,700 4,770	320 32	80,7	0,54
Hyrgol, starke Dosis	Versuchsperiode	3 4.-7.	22,950	20,175 6,725	2,466 0,822	18,576 6,192	21,042 7,014	-0,867 -0,289	14,610 4,870	84 28	78,6	0,45
	Nachperiode	5 7.-12.	22,700	33,625 6,725	3,643 0,728	29,555 5,911	33,198 6,639	+0,427 +0,086	3,955 4,791	125 25	81,0	0,42
Hg-Thio-sulfat, geringe Dosis	Versuchsperiode	3 12.-15.	22,900	20,175 6,725	2,520 0,840	17,574 6,858	20,094 6,698	+0,081 +0,027	15,186 5,062	234 78	86,4	0,13
	Nachperiode	7 15.-22.	23,100	47,075 6,725	5,173 0,739	40,978 5,854	46,151 6,593	+0,924 +0,132	34,062 4,866	196 28	83,1	0,47
Hg-Thio-sulfat, starke Dosis	Versuchsperiode	3 22.-25.	23,000	20,175 6,725	2,150 0,717	18,621 6,207	20,771 6,924	-0,596 -0,199	16,335 5,445	129 43	71,6	0,69
	Nachperiode	8 25. Juni b. 3. Juli	22,700	53,800 6,725	4,830 0,604	48,904 6,113	53,734 6,717	+0,066 +0,008	41,682 5,199	216 27	85,0	0,44

Tabelle VI.
Hündin Nr. 5.

	Dauer der Periode in Tagen	Gewicht	Gesamt-N-Einfuhr	Gesamt-N im Kot	Gesamt-N im Harn	Gesamt-N-Ausfuhr	N-Bilanz	Gesamt-+UN	Gesamt-UN	$\frac{+UN}{N} \times 100$	$\frac{UN}{N} \times 100$	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+UN pro die g	-UN pro die mg			
	Datum	kg	g	g	g	g		g	mg			
Vorperiode	4 27. April b. 1. Mai	10,600	18,828 4,707	2,692 0,673	15,374 3,843	18,066 4,516	+0,762 +0,191	7,639 1,909	92 23	49,6	0,6	
HgCl ₂ starke Dosis	Versuchsperiode	3 1.-4.	11,300	14,121 4,707	1,874 0,625	12,671 4,224	14,546 4,849	-0,426 -0,142	8,578 2,859	164 55	67,6	1,3
	Nachperiode	6 4.-10.	11,000	22,242 4,707	4,475 0,746	23,913 3,985	32,389 4,731	-0,144 -0,024	13,486 2,248	113 38	61,4	0,95
HgCl ₂ geringe Dosis	Versuchsperiode	3 10.-13.	10,800	14,121 4,707	1,923 0,641	11,116 3,705	13,039 4,346	+1,083 +0,361	5,054 2,527	81 27	68,2	0,73
	Nachperiode	9 13.-22.	10,900	42,363 4,707	6,006 0,667	33,893 3,766	39,893 4,433	+2,486 +0,274	18,540 2,062	218 24	54,7	0,64

Tabelle VI (Fortsetzung).

	Dauer der Periode in Tagen	Ge- wicht kg	Gesamt-N-Ein- fuhr	Gesamt-N im Kot	Gesamt-N im Harn	Gesamt-N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Gesamt- + U N	Gesamt- - U N	+ U N × 100 N	- U N × 100 N	
			N pro die g	N pro die g	N pro die g	N pro die g		+ U N pro die g	- U N pro die mg			
			Datum									
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	3 22. Mai bis 25.	10,400	14,121 4,707	2,265 0,755	12,432 4,077	14,497 4,832	- 0,375 - 0,125	4,920 2,460	122 41	60,3	4,00
	Nach- periode	10 25. Mai b. 4. Juni	11,100	47,070 4,707	6,528 0,653	30,916 3,864	36,140 4,517	+ 1,900 + 0,190	17,273 2,196	227 28	56,8	0,72
Hyrgol, starke Dosis	Versuchs- periode	3 4.-7.	10,800	14,121 4,707	1,689 0,563	13,000 4,337	14,699 4,900	- 0,579 - 0,193	8,620 2,873	67 22	66,2	0,51
	Nach- periode	5 7.-12.	10,200	23,535 4,707	2,939 0,588	17,805 3,561	20,765 4,149	+ 2,790 + 0,558	9,001 1,800	133 26	50,5	7,30
Hg-Thio- sulfat, geringe Dosis	Versuchs- periode	3 12.-15.	10,600	14,121 4,707	2,145 0,715	11,341 3,780	13,486 4,495	+ 0,636 + 0,212	5,817 1,939	144 48	51,3	1,26
	Nach- periode	7 15.-22.	10,800	32,949 4,707	4,221 0,603	24,226 4,038	26,844 4,641	+ 0,462 + 0,066	14,359 2,393	170 24	59,2	0,59
Hg-Thio- sulfat, starke Dosis	Versuchs- periode	3 22.-25.	10,900	14,121 4,707	1,950 0,650	12,332 4,111	14,282 4,761	- 0,162 - 0,054	5,833 1,944	115 38	47,6	0,93
	Nach- periode	8 25. Juni b. 3. Juli	10,700	37,656 4,707	4,590 0,574	32,781 4,098	37,393 4,672	+ 0,280 + 0,035	16,709 2,088	299 37	54,8	0,90
Hg-Hy- drosol, nicht sta- bilisiert	Versuchs- periode	3 3.-6.	11,100	14,121 4,707	2,185 0,728	13,537 4,512	15,721 5,240	- 1,599 - 0,533	8,816 2,938	125 42	65,1	0,93
	Nach- periode	6 6.-12.	10,900	28,242 4,707	3,672 0,612	19,497 3,899	22,557 4,511	+ 1,176 + 0,196	13,923 2,320	171 29	59,5	0,75
Hg-Hy- drosol, stabili- siert	Versuchs- periode	3 12.-15.	10,700	14,121 4,707	1,557 0,519	15,482 5,161	17,039 5,680	- 2,919 - 0,975	10,348 3,449	155 52	66,8	1,00
	Nach- periode	7 15.-22.	10,900	32,948 4,707	3,291 0,470	25,496 3,642	28,786 4,112	+ 4,165 + 0,595	14,973 2,139	192 27	63,6	0,74
HgCl ₂ , starke Dosis	Versuchs- periode	3 22.-25.	10,600	14,121 4,707	1,839 0,613	12,743 4,248	16,582 4,861	- 0,462 - 0,154	7,626 2,542	93 31	59,9	0,73
	Nach- periode	7 25. Juli b. 1. Aug.	10,500	32,948 4,707	3,843 0,549	27,192 3,884	31,035 4,433	+ 1,918 + 0,274	14,517 2,074	224 32	53,4	0,82

Schnelligkeit der Absorption des Strychnins in Gegenwart von Kolloiden.

Von

J. Simon.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Kgl. Universität Parma.)

(Eingegangen am 28. September 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

I.

In der Absicht, den Einfluß der Kolloide auf die Absorption der Arzneimittel zu studieren, habe ich als Arzneimittel Strychnin gewählt, welches eine sehr charakteristische und aktive Wirkung in kleinen Dosen hat und eine große Genauigkeit in den Untersuchungen erlaubt.

Es ist allgemein bekannt, daß einige Substanzen mit den Kolloiden chemische Verbindungen eingehen, man weiß auch sehr wohl, daß in diesem Falle die Absorption der ersteren Hindernissen begegnet, und daraus kann man für den Gebrauch von Gegengiften Nutzen ziehen. Über diesen Punkt ist es also nicht nötig, neue Untersuchungen anzustellen, und ich beabsichtige mich auch nicht damit zu befassen.

Andere Substanzen dagegen gehen keine chemischen Verbindungen mit den Kolloiden ein, aber es steht fest, daß zwischen Kolloiden und Arzneimitteln Adsorptionerscheinungen eintreten können, und es wird ebenfalls zugegeben, daß die große Viscosität der Kolloide der Bewegung der Moleküle und der Ionen im Wege steht.

Ich habe mir nun vorgenommen zu untersuchen, ob die Kolloide aus diesen physikalisch-chemischen Gründen imstande sind, die Absorption der Arzneimittel aufzuhalten, unter denen ich aus den obengenannten Ursachen das Strychnin gewählt habe.

Dieses Studium erscheint mir sehr angebracht, da die wenigen Angaben, die man hierüber in der Literatur findet, einander

widersprechen,¹⁾ und da der Zweifel nicht ausgeschlossen ist, daß ungeeignete experimentale Bedingungen frühere Forscher gehindert haben, genaue Resultate zu erzielen.

Zum Beispiel habe ich in meinen z. T. noch schwebenden Untersuchungen über den Einfluß der sauren und alkalischen Reaktion des die Arzneimittel enthaltenden Mediums auf die Schnelligkeit der Absorption derselben gefunden, daß die Reaktion des Mediums eine sehr große Bedeutung hat — und ich werde dies noch im Laufe dieser Arbeit beweisen, wenn es sich darum handelt, die Arzneimittel auf peritonealem Wege oder subcutan einzuführen.

Nun hat sich niemand bisher damit beschäftigt, und es ist daher augenscheinlich, daß die Versuche auf subcutanem Wege mit kolloidalen sauren oder alkalischen Lösungen, die in der Literatur bekannt sind (ich kenne keinen Versuch auf peritonealem Wege), in hohem Maße ihren Wert verlieren.

Hinsichtlich der per os ausgeführten Versuche lohnt es sich zu beachten, daß es schwer ist, den Einfluß des Kolloids von dem Einfluß des Verdauungsprozesses zu unterscheiden, wenn man mit Kolloiden im Verdauungstrakt experimentiert. Der Verdauungsprozeß hält die Absorption an und für sich und auch noch dadurch auf, daß er die absondernde Tätigkeit der Verdauungsdrüsen verändert. Gerade deshalb scheint für solche Art Untersuchungen dieser Weg von allen vielleicht der ungeeignetste zu sein.

II.

1. Experimentelles.

Ich gebrauchte immer Frösche und bei jeder Serie von Versuchen Tiere, welche an demselben Orte und am gleichen Tage gefangen waren; ihr Gewicht schwankte zwischen 15 und 25 g. Diesen spritzte ich auf peritonealem oder subcutanem Wege in ihrem Körpergewicht entsprechenden Quantitäten Lösungen (in Wasser oder kolloidem Medium) von Strychninum muriaticum zu 0,02% ein. Die eingespritzte Quantität war

¹⁾ H. Tappeiner, Über die Wirkung der Mucialaginosä. *Archiv intern. de Pharmacod. et de Therapie* 10, 1902. — A. R. Hatcher, The effect of colloids in diminishing the toxicity of strychnine. *Amer. Journ. of Pharmacy* 74, 1902. — R. Luzatto, Intorno all'influenza dei colloidi sull'assorbimento dei farmaci. *Archivio di Fisiologia* 2, 1905, 3, 1906; 4, 1906.

beständig 1 com auf je 20 g des Frosches: die in Anwendung gebrachten Kolloide waren Eiweiß, trocknes Eialbumin Merck, lösbares Stärke Kahlbaum, Gelatine, Gummi arabicum.

Die Einspritzungsflüssigkeit wurde nie erwärmt. Die Temperatur der Atmosphäre schwankte zwischen 16 und 20°.

Immer überzeugte ich mich von der Güte der Froschgruppe, über die ich verfügte, mittels einer Reihe von Versuchen mit einer wässrigen Strychninlösung, und ich machte keinen Gebrauch von den Tieren, wenn die Maximalzeit des Auftretens das Doppelte der Minimalzeit überschritt.

Gleich nach der Einspritzung wurde der Frosch unter eine Glasglocke in wenig beleuchteter Umgebung gesetzt, dann schlug ich alle 10 Sekunden leicht auf den Tisch, worauf sich das Tier befand, bis es in Krampf verfiel. Durch diese in gleichen Zwischenräumen wiederholten Reizmittel suchte ich genau den Augenblick festzustellen, in welchem die absorbierte Strychninquantität die mindestgenügende war, um den Grad der Reflexreizbarkeit zu bewirken, die geeignet ist, den Strychninkrampf hervorzurufen. Alle meine Versuche beruhen daher auf der geringsten den Krampf hervorrufenden Dosis.

2. Versuche auf peritonealem Wege.

a) Eialbumin. Ich habe schon oben bemerkt, daß es mir nach im Gange befindlichen Untersuchungen feststeht, daß die saure oder alkalische Reaktion des Mediums einen sehr großen Einfluß auf die peritoneale Absorption der Arzneimittel hat. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, über die ich mir vorbehalte, ausführlicher in einer späteren Mitteilung zu berichten, beschränke ich mich für den Augenblick darauf, zu bemerken, daß die saure Reaktion die peritoneale Absorption des Strychnins aufhält, während die alkalische Reaktion sie beschleunigt.

Die Versuche mit Eiweiß sind in Tabelle I, Reihe A, zusammengestellt. Das Eiweiß wurde gehörig geschüttelt, dann durch Leinwand filtriert. Wie aus der Tabelle hervorgeht, erscheint durch Einspritzung von Strychnin, das in Gegenwart von Eiweiß bis zum Verhältnis von 60% aufgelöst war, der Krampf schneller als durch Einspritzung einer einfachen wässrigen Strychninlösung aber die Beschleunigung wird mit dem Wachsen der Eiweißmenge immer geringer, bis mit 96% Eiweiß eine Verzögerung erscheint, die jedoch sehr gering ist. Diese Resultate sind wahrscheinlich der gleichzeitigen Wirkung zweier Faktoren zuzuschreiben: einerseits der alkalischen Reaktion des Mediums, welches danach strebt, den Krampf schneller hervorzurufen, andererseits der Gegenwart des Kolloids, das vielleicht dahin wirkt, ihn aufzuhalten, und das, wie es scheint, ein leichtes Übergewicht erhält, wenn es sehr konzentriert

ist. Daraus kann man schließen, daß das Eiweiß nur in sehr starker Konzentration die peritoneale Absorption des Strychnins in unbedeutender Weise aufhält.

Wie aus Tabelle I, Reihe B, hervorgeht, verursacht trocknes Ei-albumin Merck, welches in schwacher Konzentration neutral ist, eine sehr geringe Verspätung des Krampfes.

Tabelle I.

Reihe des Ver- suchs	Nr. des Ver- suchs	Lösungen				Erscheinen des Strych- ninkrampfes nach Min. (Durch- schnittszahl von 5 Ver- suchen)	Be- ziehung $\frac{t'}{t}$ ²⁾
		enthaltend %			relative innere Rei- bung ¹⁾ ($t \cdot 16^\circ$)		
		Strych- ninum muriat- ium	Ei- albu- min	trocknes Eialbu- min Merck			
A	1	0,02	—	—	1	5' 52"	1
"	2	0,02	25	—	1,18	4' 25"	0,75
"	3	0,02	30	—	1,34	4' 38"	0,79
"	4	0,02	60	—	2,47	5' 15"	0,89
"	5	0,02	96	—	5,44	6' 19"	1,07
B	1	0,02	—	—	1	3' 46"	1
"	2	0,02	—	2,75	1,16	4'	1,06

b) Stärke. Auch mit Stärke habe ich zwei Serien Ver-suche angestellt. In einer Serie habe ich mich der im Handel befindlichen alkalischen Stärke bedient.

Ohne die Versuche hier wiederzugeben, beschränke ich mich darauf zu bemerken, daß beim Gebrauch von Stärkelösungen zu 1, 2, 2,5%

¹⁾ Zur Bestimmung der inneren Reibung diene mir der heute wohl gebräuchlichste, von Ostwald konstruierte Apparat. Die Messungen wurden im Thermostaten, der eine konstante Temperatur von 16° zeigte, vorgenommen, und zwar mit dem Chronoskop, das Fünftelsekunden abzulesen gestattet. Die Berechnung der relativen inneren Reibung der Eialbuminlösung und der anderen zu Versuchen verwendeten Lösungen geschah nach der bekannten Formel

$$\eta = \frac{s \cdot t}{S \cdot T},$$

wo s das spezifische Gewicht der in Versuch genommenen Lösung auf Wasser von 16° bezogen ist, t die Durchlaufzeit der Lösung in Sekunden, S das spezifische Gewicht des Wassers bei 16° gleich 1 und T die Durchlaufzeit des Wassers bei 16° bedeutet.

²⁾ t in dieser Formel gibt die Erscheinungszeit des Krampfes mit wässrigen Strychninlösungen an; t' bezeichnet hingegen die entsprechende Zeit mit kolloidalen Lösungen. Wenn $t = 1$ ist, so hat man: $t:t' = 1:z$, oder: $\frac{t'}{t}$.

der Krampfanfall schneller erscheint, so daß die Beziehung $\frac{t'}{t}$ (wenn man $t = 1$ setzt) bzw. 0,70 — 0,74 — 0,91 wurde. Wenn ich dagegen die vollkommen neutrale lösliche Stärke Kahlbaum gebrauchte, so erhielt ich eine mäßige Verzögerung. Aus Tabelle II erhellt in der Tat, daß 5% ige lösliche Stärke die Absorption des Strychnins aufhält und daß die Verzögerung mit Lösungen zu 18,6% größer wird, aber es ist fast dasselbe, sei es daß die Viscosität der Lösung relativ niedrig oder sehr stark ist.

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Lösungen				Erscheinen des Strychninkrampfes nach Min. (Durchschnittszahl von 4 Versuchen)	Beziehung $\frac{t'}{t}$
	enthaltend %		Viscosität von 16°			
	Strychninum muria-ticum	lösliche Stärke Kahlbaum	Nach dem Zubereiten der Mischung: Minuten	relative innere Reibung		
1	0,02	—	—	1	8' 10"	1
2	0,02	5	—	2,10	7' 27"	1,20
3	0,02	18,6	10'	25,24	8' 57"	1,45
4	0,02	18,6	180'	∞	8' 30"	1,37

c) Gummi arabicum. Da die wässrige Lösung des Gummi arabicum, wie bekannt, eine saure Reaktion hat, so habe ich zwei Serien von Versuchen angestellt. Bei der ersten habe ich die saure und bei der zweiten eine neutralisierte Lösung gebraucht.

Die bei der 1. Serie (Tab. III) erzielten Resultate beweisen, daß der Krampf beim Einspritzen von Strychnin in nicht neutralisierter Gummilösung mit sehr großer Verspätung erscheint, die mit Zunahme der Quantität des Kolloids immer größer wird; die Resultate der 2. Serie (Tab. IV) beweisen, daß man auch mit neutraler Lösung eine starke Verzögerung im Erscheinen des Anfalles erhält, aber daß dieselbe viel geringer ist als die mit sauren Lösungen.

Aber da das Gummi, wie wohl bekannt ist, viel Kalk enthält, und Untersuchungen von Zanda¹⁾ und von Flamini²⁾ gezeigt haben, daß in Tieren, die mit Kalk behandelt werden, der Strychninkrampf weniger schnell erscheint als in Normaltieren, so entstand der Zweifel, ob nicht die von mir beobachtete Verzögerung im Erscheinen des Krampfes von dem im Gummi enthaltenen Kalk abhinge. Daher habe ich in den Lymphsack des Rückens verschiedener Froschserien CaCl_2 in viel größeren Mengen eingespritzt, als im Gummi enthalten ist, und nach 1 Stunde, als die durch den Kalk hervorgerufenen charakteristischen Symptome

¹⁾ G. B. Zanda, Azione dei metalli alcalino-terrosi per iniezione lombare. Archivio di Farmacologia e Terapeutica 10, 1902.

²⁾ M. Flamini, L'azione del calcio contro alcuni veleni convulsivanti. Rivista di Clinica Pediatrica, anno 4, 1907.

aufgetreten waren, spritzte ich das Strychnin in die Bauchhöhle ein. Bei diesen Bedingungen sah ich, daß der Krampf mit einer kleinen Verspätung erscheint, die nicht mit der durch Gummi erzielten vergleichbar ist. Während dies einerseits mit den von Zanda und von Flamini beobachteten Tatsachen übereinstimmt, beweist es andererseits, daß die durch das Gummi bewirkte Verspätung in der Absorption des Strychnins nicht dem darin befindlichen Kalk zugeschrieben werden kann.

Tabelle III.

Nr. des Versuchs	Lösungen			Erscheinen d. Strychnin-krampfes n. Min. (Durchschnittszahl von 5 Versuchen)	Beziehung $\frac{f}{i}$
	enthaltend %		relative innere Reibung (t. 16°)		
	Strychninum muriaticum	Gummi arabicum nicht neutralisiert			
1	0,02	—	1	7' 51"	1
2	0,02	10	7,21	12' 33"	1,59
3	0,02	20	24,10	21' 43"	2,76
4	0,02	28	68,80	25' 16"	3,21
5	0,02	38,5	220,92	34' 48"	4,43

Tabelle IV.

Nr. des Versuchs	Lösungen			Erscheinen d. Strychnin-krampfes n. Min. (Durchschnittszahl von 4 Versuchen)	Beziehung $\frac{f}{i}$
	enthaltend %		relative innere Reibung (t. 16°)		
	Strychninum muriaticum	Gummi arabicum neutralisiert			
1	0,02	—	1	4' 39"	1
2	0,02	1	1,45	5' 7"	1,10
3	0,02	5	3,28	5' 20"	1,14
4	0,02	10	6,31	5' 51"	1,25
5	0,02	20	21,06	8' 5"	1,73
6	0,02	30	88,32	9' 30"	2,04
7	0,02	40	273,55	11' 25"	2,45

d) Gelatine (Gallerte). Da die Gelatine sauer ist, so führte ich auch hier zwei Serien von Versuchen aus. Bei der ersten bediente ich mich der Lösungen von saurer, bei der zweiten von neutralisierter Gelatine.

In der ersten Serie (Tab. VA) bemerkte ich, daß der Strychnin-krampf mit großer Verspätung eintritt, in der zweiten hingegen (Tab. VB) war die Verspätung viel geringer und unbedeutender. Daraus geht hervor, daß die Gelatine in den von mir gebrauchten Konzentrationen den Krampf in unbedeutender Weise aufhält.

In andern Versuchen, die ich der Kürze halber nicht aufzähle, habe ich gesehen, daß die saure Gelatine fast in derselben Weise den Anfall aufhält, sei es 1 Stunde, nachdem die Lösung gemacht ist, d. h.

wenn sie wenig viscos ist, sei es nach vielen Stunden, d. h. wenn die Viscosität sehr hoch ist.¹⁾

Tabelle V.

Reihe des Ver- suchs	Nr. des Ver- suchs	Lösungen			relative innere Reibung (t 16°)	Erscheinen des Strychnin- krampfes nach Minuten (Durch- schnittszahl von 5 Versuchen)	Beziehung $\frac{t'}{t}$
		enthaltend %		Strychni- num muriati- cum			
		Gelatine					
A	1	0,02	—	1	5' 41"	1	
"	2	0,02	1	1,61	11' 41"	2,05	
"	3	0,02	1,5	2,61	11' 20"	1,99	
B	1	0,02	—	1	3' 18"	1	
"	2	0,02	1	1,32	4' 3"	1,22	
"	3	0,02	1,5	2,24	3' 56"	1,19	

3. Versuche auf subcutanem Wege.

Bei diesen Versuchen habe ich mich nur neutraler Lösungen bedient, denn die saure oder alkalische Reaktion des Mediums bringt, wie ich vorher sagte, bemerkenswerte Unterschiede in der Schnelligkeit der Absorption des Strychnins hervor.

Aus der kurzen Serie von Versuchen, die ich anführe, ergeben sich Befunde, die mit den auf peritonealem Wege angestellten Versuchen vollständig übereinstimmen.

Das Eialbumin und die Gelatine verursachen eine kleine Verzögerung, welche mit löslicher Stärke zu 18,6% bemerkenswert zu werden beginnt und die mit 40%igem Gummi arabicum wirklich stark wird (Tab. VI).

Tabelle VI.

Nr. des Versuchs	Lösungen						relative innere Reibung (t 16°)	Erscheinen d. Strychnin- krampfes n. Min. (Durch- schnittszahl von 4 Versuchen)	Beziehung $\frac{t'}{t}$
	enthaltend %					Gummi arabi- cum			
	Strych- ninum muriati- cum	Ei- albumin (Merck)	Gelatine	lösliche Stärke	—				
1	0,02	—	—	—	—	1	8' 6"	1	
2	0,02	2,75	—	—	—	1,16	6' 50"	1,12	
3	0,02	—	1,5	—	—	2,24	8' 38"	1,08	
4	0,02	—	—	18,6	—	∞	7' 47"	1,27	
5	0,02	—	—	—	40	273,55	13' 9"	2,15	

¹⁾ Dieses viscosimetrische Verhalten der Gelatine ist schon von Schroeder bemerkt und beobachtet worden. (P. v. Schroeder, Über Erstarrungs- und Quellungserscheinungen von Gelatine. Zeitschr. f. physikal. Chem. 45, 1. Heft, 1903.)

III.

Ich habe in der folgenden Tabelle die erhaltenen Resultate zusammengestellt, die ich erhielt, wenn ich auf subcutanem oder peritonealem Wege Strychninum muriaticum in Gegenwart von vollständig neutralen Kolloiden einspritzte.

Tabelle VII.

Kolloid-Lösungen		Beziehung $\frac{t'}{t}$	
gebrauchtes Kolloid	% des Kolloids	für die Einspritzungen in die Bauchhöhle	für die Einspritzungen in den Lymphsack des Rückens
Gummi arabicum	1	1,10	—
Gelatine	1	1,22	—
„	1,5	1,19	1,08
Eialbumin (Merck)	2,75	1,06	1,12
lösliche Stärke	5	1,20	—
Gummi arabicum	5	1,14	—
„	10	1,25	—
lösliche Stärke	18,6	1,45	1,27
Gummi arabicum	20	1,73	—
„	30	2,04	—
„	40	2,45	2,15

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß es für einige Kolloide, wie Gelatine und Eialbumin, nur möglich ist, mit schwacher Konzentration zu experimentieren, und deshalb kann ein allgemeiner Vergleich nur für sehr kleine Dosen angestellt werden; da aber für kleine Dosen die Wirkung sehr gering ist, so fehlen uns die Grundlagen, um den Einfluß der chemischen Natur des Kolloids zu beweisen.

Für das Gummi und die lösliche Stärke, die wir mit hohen Konzentrationen erproben konnten, scheint es, daß die verzögernde Wirkung, wenn man sich nur an die rein wägbaren Beziehungen hält, größer für das erstere als für die letztere ist.

Außerdem steht die Verzögerung im Erscheinen des Strychninkrampfes, welche durch das Gummi, und wie es scheint auch durch die Stärke bewirkt wird, in einem bestimmten Verhältnis zu der Menge des Kolloids, was klar aus der beigefügten Figur hervorgeht, in welcher die Zahlen auf der Abszissenachse den Prozentsatz des Kolloids, und die auf der Ordinatenachse den

Werten der Tabelle VII für die Beziehung $\frac{t'}{t}$ bei den Einspritzungen in die Bauchhöhle entsprechen, die mit Strychninlösungen in Gegenwart von Stärke (*S*) und Gummi (*G*) erhalten wurden.

Was die Ursache der Verzögerung in der Absorption des Strychnins anbetrifft, so wird dazu wahrscheinlich die Viscosität

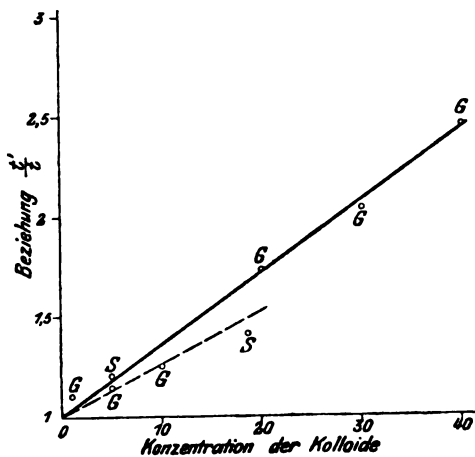


Fig. 1.

der Lösungen beitragen; aber aus meinen Untersuchungen geht nicht hervor, daß zwischen den beiden Erscheinungen eine direkte und konstante Beziehung besteht.

In der Tat verursachen lösliche Stärke und Gelatine, wie wir oben sahen, eine fast identische Verspätung, sei es, daß sie die gleiche relative Viscosität

haben, sei es, daß die Viscosität, da sie danach streben, zu gelatinieren, sehr groß wird; die Kurve der Viscosität des Gummi arabicum steigt viel schneller als die der Verzögerung im Erscheinen des Krampfes. Es scheint demnach, daß die Verspätung in der Absorption des Strychnins zum größten Teil der Absorption, die das Kolloid gegen das Arzneimittel ausübt, zugeschrieben werden muß.

Unsere Schlüsse sind daher folgende:

1. Die Kolloide Gummi arabicum, Gelatine, Ei-albumin, lösliche Stärke verzögern in kleinen Mengen unbedeutend die peritoneale und subcutane Absorption des Strychnins.

2. Mit der Quantitätszunahme des Kolloids in der Lösung (wenn dies möglich ist) wird die Verzögerung in der peritonealen und subcutanen Adsorption des Strychnins meßbar und zuweilen bedeutend und scheint im Verhältnis zu der Quantität des Kolloids zu stehen.

Weitere Untersuchungen über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte.

Von

Walther Brasch.

(Aus der 1. medizinischen Klinik der Universität München.)

(Eingegangen am 30. September 1909.)

In einer vor kurzer Zeit erschienenen Veröffentlichung¹⁾ hatte ich mitgeteilt, daß der *Bacillus putrificus* Bienstock auf primäre Eiweißspaltprodukte qualitativ dieselbe Einwirkung hat wie die Fäulnis. Durch Untersuchungen, die an Glutaminsäure angestellt wurden, hatte sich ergeben, daß Reinkulturen des *Bacillus putrificus* am gleichen C-Atom dieser Säure CO₂ und NH₃ abspalten und damit dieselben Veränderungen hervorrufen, die früher Neuberg und ich²⁾ bei Fäulnisversuchen mit der Glutaminsäure festgestellt hatten. Daß die Ausbeuten an der so entstandenen Buttersäure bei Verwendung von Reinkulturen geringer waren als bei Anwendung des Fäulnisgemisches, war nach älteren Erfahrungen durchaus zu erwarten gewesen. Inzwischen habe ich mehrere andere Aminosäuren den gleichen Versuchsbedingungen unterzogen, und über die dabei erhaltenen Resultate möchte ich kurz berichten. Die Versuchsordnung war dieselbe, wie ich sie in der ersten Veröffentlichung mitgeteilt habe.

Abbau der Asparaginsäure.

Schon einige Zeit, bevor die Untersuchungen von Borchardt³⁾ sowie von Neuberg und Cappezzuoli⁴⁾ erschienen,

¹⁾ Diese Zeitschr. 18, 380, 1909.

²⁾ Diese Zeitschr. 13, 299, 1908.

³⁾ Borchardt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 46, 1909.

⁴⁾ Neuberg und Cappezzuoli, diese Zeitschr. 18, 424, 1909.

hatte ich begonnen, die Asparaginsäure durch Fäulnislösung abzubauen, ein Versuch, der nach den Ergebnissen, die Neuberg und ich mit Glutaminsäure erhalten hatten, ein analoges Resultat versprach, dessen Veröffentlichung ich aber aus verschiedenen Gründen noch etwas verschoben hatte.

5 g Asparaginsäure (Kahlbaum) wurden in 500 com Wasser gelöst, dann mit Fäulnislösung versetzt und mit Soda alkalisch gemacht. Nach vierwöchigem Stehen im Brutschrank wurde abdestilliert und das stark saure Destillat mit 81 com $\frac{n}{10}$ -Alkali neutralisiert. Ich erhielt 0,907 g reines Silbersalz.

0,1778 g Substanz ergaben	0,1063 g Ag
Berechnet für $C_8H_9O_2Ag$: Ag	59,67%
Gefunden Ag	59,78%

Der Rückstand wurde im Kutscher-Staudelschen Ätherextraktionsapparat ausgeäthert, der Äther verdunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, filtriert und auf dem Wasserbade eingedampft. Es blieben im Rückstande sehr reichliche Krystalle, über 2 Dezigramm, sie bildeten feine prismatische Nadelchen, zeigten den Schmelzpunkt 184° und gaben deutliche Pyrrolreaktion. Sie bestanden also wohl aus Bernsteinsäure.

Weitere 5 g Asparaginsäure wurden mit dem Bacillus putrificus unter den früher geschilderten Versuchsbedingungen angesetzt und ebenfalls 4 Wochen im Brutschrank stehen gelassen. In dem Destillat konnte Ameisensäure nachgewiesen werden, es trat nämlich beim Kochen der mit Silberoxyd behandelten Flüssigkeit eine erhebliche Schwarzfärbung auf. Die Menge des erhaltenen rein weißen Silbersalzes betrug 0,57 g.

0,2141 g Substanz ergaben	0,1275 g Ag
Gefunden Ag	59,55%
Berechnet für $C_8H_9O_2Ag$: Ag	59,67%

Es war also auch hier Propionsäure in relativ großen Mengen entstanden. Aus dem Ätherextrakt des Rückstandes konnte Bernsteinsäure gewonnen werden, die genau so wie die bei der Fäulnis erhaltene nachgewiesen wurde.

Ebenso wie Brasch und Neuberg hat auch Borchardt bei der Glutaminsäurefäulnis vergeblich nach der lediglich desamidierten Säure gesucht. Bei dem bakteriellen Abbau der Asparaginsäure scheint hingegen als Zwischenprodukt regelmäßig Bernsteinsäure aufzutreten.

Abbau des Serins.

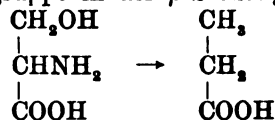
Das Verhalten der primären Eiweißspaltprodukte bei der Fäulnis ist in einer großen Zahl von Untersuchungen geprüft und für die Mehrzahl der genannten Körper festgestellt worden. Die übereinstimmenden Resultate zeigten, daß die Veränderungen der untersuchten Aminosäuren durch Fäulnis in Desamidierung und Kohlensäureabspaltung bestehen. Unter den wenigen, die isoliert noch nicht der Fäulnis ausgesetzt worden sind, befinden sich die Oxyaminosäuren, und ich unternahm es deshalb, das Serin, die Oxyaminopropionsäure, der Fäulnis zu unterwerfen. Die Aminosäure wurde zu diesem Zweck synthetisch nach der von Leuchs und Geiger¹⁾ angegebenen Methode dargestellt. Dann wurden 5 g in ca. $\frac{1}{2}$ l Wasser mit Fäulnislösung²⁾ versetzt und ca. 4 Wochen lang in den Brutschrank gestellt. Es wurde dann in der gleichen Weise, wie früher angegeben, verfahren, und ich erhielt, nachdem die in geringen Mengen vorhandene Ameisensäure zerstört worden war, 0,135 g eines rein weißen Silbersalzes.

0,1051 g Substanz ergaben . . .	0,0629 g Ag
Berechnet für $C_3H_5O_2Ag$: Ag . . .	59,67%
Gefunden Ag	59,85%

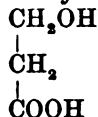
Bei einem zweiten, völlig gleichartig angestellten Versuche erhielt ich 0,1308 g Silbersalz.

0,1036 g Substanz ergaben . . .	0,0623 g Ag
Gefunden Ag	60,11%

Es entstand also aus der Oxyaminosäure bei der Fäulnis die einfache Fettsäure, es findet also Desamidierung und Reduktion der Hydroxylgruppe in der β -Stellung statt.



Es wäre nun auch zu erwarten gewesen, daß nur einer der beiden Prozesse, nur die Desamidierung, stattgefunden hätte. In diesem Falle wäre die Hydrakrylsäure



¹⁾ Leuchs und Geiger, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 2644, 1906.

²⁾ Salkowski, Practicum, 3. Aufl., 1906, S. 227.

entstanden, jedoch war im Ätherauszuge des Rückstandes und im Ätherauszug eines vorher nicht erhitzten Teiles der Flüssigkeit die Anwesenheit einer Säure nicht festzustellen.

Ein dem angeführten gleicher Versuch wurde nun auch mit einer Reinkultur von *Bacillus putrificus* unter denselben Versuchsbedingungen angestellt, unter denen ich die Glutaminsäure der Einwirkung des genannten Bacteriums früher ausgesetzt habe. Bei 4 g angewandter Substanz erhielt ich neben kleinen Mengen Ameisensäure 0,161 g eines Silbersalzes, von dem

0,1128 g Substanz . . . 0,0678 g Ag ergaben.

Gefunden Ag 60,11%.

Bei einem zweiten Versuche erhielt ich 0,164 g Silbersalz.

0,0936 g Substanz ergaben . . . 0,0561 g Ag

Gefunden Ag 59,93%.

Auch in diesem Versuch konnte Ameisensäure nachgewiesen werden.

Es zeigt sich also bei der Verwendung von Reinkulturen derselbe Vorgang wie bei Anwendung der in der Fäulnislösung vorhandenen Mischkulturen.

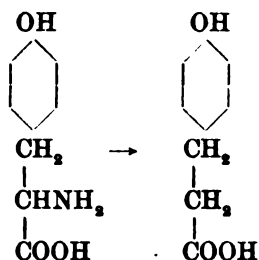
Abbau des Tyrosins.

1 g Tyrosin (Kahlbaum) wurde in 1 l Nährflüssigkeit gelöst, mit *Bacillus putrificus* geimpft und 6 Wochen im Brutschrank gehalten. Bei der Destillation ergab sich ein schwach saures Destillat mit Geruch nach niederen Fettsäuren, jedoch gelang es nicht, ein Silbersalz rein darzustellen. Zur Untersuchung auf p-Oxyphenyläthylamin wurde der Destillationsrückstand mit Alkohol mehrfach aufgenommen, die Alkoholauszüge eingedampft, der Rückstand in Aceton aufgelöst, die Lösung verdunstet, sodann mit Essigäther erschöpft. Bei der Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge entstand jedoch keine unlösliche Verbindung, so daß auf Entstehung von p-Oxyphenyläthylamin nicht zu schließen ist.

Der Rückstand, der beim Ausschütteln mit Essigäther verblieb, wurde mit Äther aufgenommen, dann die ätherische Lösung mit Sodalösung im Scheidetrichter wiederholt durchgeschüttelt, um ev. vorhandene Säuren und Phenole zu trennen.

Die ätherische Lösung wurde verdunstet, es hinterblieb jedoch kein Rückstand, was die Bildung von Phenol und Kresolen ausgeschlossen erscheinen läßt. Dann wurde die Sodalösung angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verdunstet; es schieden sich strahlenförmige Krystalldrusen aus. Schmelzpunkt 126°. Mit Millons Reagens erfolgte schon in der Kälte deutliche Rotfärbung, mit neutralem Bleiacetat entstand keine Trübung, ein deutlicher weißer Niederschlag jedoch mit basischem Bleiacetat. Wir dürfen also annehmen, daß beim Abbau die p-Oxyphenylpropionsäure gebildet worden ist.

Es entstand also aus



Demnach hat der *Bacillus putrificus* nur die Seitenkette angegriffen, und zwar in derselben Weise, wie er die entsprechende Fettsäure verändert (s. u.). Dieses Verhalten entspricht den Erfahrungen, die Baumann¹⁾ bei der Fäulnis des Tyrosins gemacht hat. Es fand sich bei kurz dauernder Fäulnis mit frischem Pankreas in offener Flasche ebenfalls p-Oxyphenylpropionsäure, während Weyl²⁾ bei Verwendung von Kloakenschlamm vorwiegend Phenole, d. h. Phenol und p-Kresol entstehen sah. Zweifellos führt das Zusammenwirken verschiedener Bakterienarten zu energischerem und weitgehendem Abbau als eine Reinkultur. Baumann hatte nun weiter gefunden, daß bei der Fäulnis der p-Oxyphenylpropionsäure der Abbau an der Seitenkette weitergeht und über p-Oxyphenyl-essigsäure zum p-Kresol führt. Beim Abbau des Tyrosins mit *Bacillus putrificus* konnte ich die Bildung von p-Oxyphenyl-essigsäure nicht feststellen, da der Schmelzpunkt auf eine reine einheitliche Substanz schließen läßt.

¹⁾ Baumann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 12, 1450, 1878.

²⁾ Weyl, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3, 312, 1879.

Abbau einiger anderer Aminosäuren.

Bei meinen Untersuchungen über das Verhalten der Glutaminsäure unter dem Einfluß von Reinkulturen hatte ich mitgeteilt, daß der *Bacillus putrificus* im wesentlichen dieselben Veränderungen an Aminosäuren hervorruft, wie sie bei der Fäulnis entstehen. Es war demnach zu erwarten, daß er bei den Monoaminosäuren lediglich eine Desamidierung bewirken würde. An einigen Aminosäuren der Fettreihe fand ich diese Veränderung bestätigt. So wird aus Glykokoll Essigsäure.

0,0655 g Substanz ergaben . . . 0,0417 g Ag

Berechnet für Essigsäure: Ag . 63,16%

Gefunden Ag 63,66%

Aus Alanin (Kahlbaum) wird Propionsäure.

0,1092 g Substanz ergaben . . . 0,0653 g Ag

Berechnet für Propionsäure: Ag 59,67%

Gefunden Ag 59,79%

Aminobuttersäure (Kahlbaum) wird zu Buttersäure abgebaut.

0,0566 g Substanz ergaben . . . 0,0310 g Ag

Berechnet für Buttersäure: Ag . 55,38%

Gefunden Ag 55,12%

Erwiderung.

Von

W. Ruhland.

In seiner Abhandlung über die Durchlässigkeit der Zellen für Farbstoffe¹⁾ hat Höber denjenigen Teil meiner Arbeiten über die Plasmapermeabilität²⁾, welcher das gleiche Thema behandelt, einer eingehenden kritischen Nachprüfung unterzogen. Ich gestatte mir zu den Punkten, in denen zwischen Höber und mir Differenzen bestehen, folgende kurze Bemerkungen: 1. Der von mir als besonders wichtig erachtete Befund, daß der stark lipoidlösliche Sulfosäurefarbstoff Wollviolett S nicht in die Zelle aufgenommen wird, wird von Höber deshalb nicht als beweiskräftig anerkannt, weil der Farbstoff von den Leberzellen des Frosches entfärbt wird. Man kann doch aber diesen Einwand nicht auf die zahllosen Fälle übertragen, wo sicherlich nicht die mindeste Entfärbung durch die Zelle, ja nicht einmal, wie bei vielen andern Farbstoffen durch Speicherung in der Cellulosemembran stattfindet. So wird z. B. die äußerst schwach gefärbte Lösung von 1:1000000 selbst bei tagelanger Anwesenheit einer großen Menge von Spirogyrafäden nicht im mindesten entfärbt. Ich lege daher nach wie vor auf das diosmotische Verhalten des Wollvioletts besonderen Nachdruck. 2. Die von mir hervorgehobene Tatsache, daß das stark lipoidlösliche Rhodamin B nur überaus langsam eindringt, hat Höber durch den Hinweis zu entkräften versucht, daß der Farbstoff mit Gerbsäure schwerer als andere niederfällt. Es ist klar, daß dieser Einwand für die zahlreichen Fälle, wo der ausfallende Körper gar nicht Gerbstoff ist, resp. wo, wie auch mit anderen Farbstoffen diffuse Speicherungen entstehen, hinfällig wird. 3. Das schnell eindringende, aber sehr schwer lipoidlösliche Malachitgrün soll wegen seiner Giftigkeit unbrauchbar sein. Ich hatte auf die Giftigkeit bereits selbst hingewiesen (S. 20, Anm.); es ist alsdann eben nötig, zu ganz verdünnten Lösungen zu greifen, welche das von mir behauptete Verhalten einwandfrei erkennen lassen. 4. Von dem lipoidlöslichen Nachtblau hatte ich auf S. 776 nur behauptet, daß es in die von mir geprüften Objekte,

¹⁾ Diese Zeitschr. 20, 56.

²⁾ Jahrb. f. wiss. Botan. 46, 1, 1908; Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 26, 772, 1909.

insbesondere in *Spirogyra* nicht eindringe, was ich durchaus aufrecht erhalten muß. Gegen die Lipoidtheorie aber hatte ich diese Verbindung gar nicht ins Treffen geführt.

Auf weitere kleinere Differenzpunkte kann ich hier der Kürze wegen nicht eingehen. Viel wichtiger ist, daß Höber die große Mehrzahl meiner Einwände gegen die Lipoidtheorie als berechtigt anerkennt und daß er, der doch, wie Overton, gerade in dem Verhalten der Farbstoffe eine der stärksten, wohl die stärkste Stütze der Lipoidtheorie gesehen hatte, sich zu dem Eingeständnis veranlaßt sieht, daß andere Beziehungen dem diosmotischen Verhalten der Farbstoffe besser entsprechen als die Overtonsche Theorie!

Die neuen Ausführungen Höbers über „physiologische“ und „physikalische“ Permeabilität bedaure ich, mir ebensowenig wie seine früheren über den gleichen Gegenstand zu eigen machen zu können. Ich muß vielmehr nach wie vor in dieser Scheidung eine der Lipoidtheorie zuliebe ersonnene Hilfskonstruktion erblicken, da bisher nirgends der Nachweis dafür erbracht ist, daß der Zelle fettlöslichen Stoffen, also z. B. auch der wichtigen Kohlensäure gegenüber regulatorische Funktionen abgehen.

Bezüglich der Lipoidtheorie muß ich nach dem Gesagten bei dem Standpunkt verharren, daß sie mit unseren Erfahrungen über die Diosmose der Farbstoffe, der anorganischen Salze usw. im Widerspruch steht und deshalb aufzugeben ist. Letzteres dürfte auf pflanzenphysiologischem Gebiet bereits geschehen sein.¹⁾

¹⁾ Vgl. z. B. Jost in Zeitschr. f. Botan. 1, 362, 1909 und Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Aufl. — Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., 2, 342.

Über Kephalin.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Jakob Parnas.

(Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 4. Oktober 1906.)

I.

Als Kephalin bezeichnet man den phosphorhaltigen Bestandteil des Gehirns, welcher in Äther löslich, in Alkohol unlöslich ist. Es sei dabei von vornherein bemerkt, daß es sich vorläufig um eine Substanz mit mangelhaften Garantien der Einheitlichkeit handelt; es läßt sich auch nicht sagen, ob das Kephalin eine „Gruppe“ von ähnlichen Verbindungen, oder einen Körper mit anhaftenden Verunreinigungen und Zersetzungsprodukten darstellt.

Das Kephalin ist von Thudichum¹⁾ entdeckt und genau studiert worden; später haben es Koch²⁾, Cousin³⁾ und Falk⁴⁾ zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht.

Thudichum, dem wir die meisten Angaben über das Kephalin verdanken, stellte seine Präparate aus gehärtetem und getrocknetem Gehirn dar; das Kephalin wurde mit Äther extrahiert und aus der ätherischen Lösung durch Alkohol gefällt. Zur Entfernung der Aschebestandteile wurde es in wässriger Lösung mit Salzsäure behandelt; schließlich wurde es

¹⁾ Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere 1901, S. 127 f.

²⁾ Zeitschr. f. phys.Chem. 36, 134, 1902 und 37, 184, 1903.

³⁾ Journ. de Pharm. et de Chim. 24, 101, 1906.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 18, 153, 1908 und 16, 187, 1909.

durch Hühnereiweiß niedergerissen oder in Tierkohle absorbiert und daraus durch heißen Alkohol ausgezogen.

Thudichum analysierte das Kephalin frei und in Form des Chlorcadmiumsalzes, ferner einige Oxydationsprodukte des Kephalins. Er fand die Zusammensetzung entsprechend der Formel $C_{42}H_{79}O_{13}NP$; durch Hydrolyse erhielt er als letzte Spaltungsprodukte Glycerinphosphorsäure, Stearinsäure und Homologe, Olsäure (die er nicht als solche erkannte), eine ölige Säure, der er die Formel $C_{17}H_{29}O_2$ zuschreibt, die Kephalin-säure; als Basen fand er Neurin (d. h. Cholin), Methyloxäthylamin, Oxäthylamin. Er hielt das Kephalin für ein Lecithin, „in dem die Olsäure durch eine besondere, im Tierkörper nur in der Nervensubstanz, in Pflanzen gar nicht vorkommende Säure, die Kephalin-säure“, ersetzt ist; die Kephalin-säure soll dem Kephalin seine charakteristischen Eigenschaften verleihen.

Koch stellte das Kephalin wie Thudichum her, aber ohne die Reinigung durch Salzsäure; er fand in der Analyse erheblich geringere Werte für Stickstoff und Phosphor, das Verhältnis beider Elemente aber war das gleiche wie bei Thudichum. Auf Grund einer Analyse stellte er für diesen komplizierten Körper die Formel eines Dioxystearylmonomethyllecithins auf; später erkannte er, daß das Kephalin eine ungesättigte Fettsäure enthält, da es Brom entfärbt.¹⁾ Durch N-Methylbestimmung stellte Koch fest, daß das Kephalin auf jedes Stickstoffatom ein Methyl enthält.

Wesentliche Aufklärungen brachte die Arbeit von Cousin; dieser Forscher fand bei der durch Hydrolyse gewonnenen flüssigen Säure eine hohe Jodzahl neben einer geringen Acetylzahl und schloß daraus, sowie aus Analysen, daß die Kephalin-säure keine Oxysäure, sondern eine doppelt ungesättigte Säure der Linolsäurereihe sei. Seine Darstellungsmethode und seine Phosphor- und Stickstoffanalysen entsprachen denen von Thudichum und Koch. Leider fehlen in seinen Publikationen die genaueren Beschreibungen der erhaltenen Produkte, sowie analytische Daten und Belege.

¹⁾ Leider hat sich das Dioxystearylmonomethyllecithin schon in der Literatur eingebürgert. Vgl. Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. 2. Aufl., 1909, S. 149.

Falk stellte das Kephalin mittels eines komplizierteren Verfahrens sowohl aus Gehirn, als auch aus peripheren Nerven dar; im „Nervenkephalin“ fand er: P:N = 1:1; dagegen im Hirnkephalin: P:N = 1:2 Er versuchte die „Kephalinsäure“ durch Oxydation mit Permanganat in ein charakteristisches Derivat überzuführen und erhielt dabei eine bei 122° schmelzende Säure, der er auf Grund einer mit sehr wenig Substanz ausgeführten Analyse mit Vorbehalt die Formel $C_{18}H_{30}O_4$ zuschrieb.

II.

Ich stellte Kephalinpräparate dar durch Extraktion von gehärtetem, sorgfältig getrocknetem Gehirn mit leichtsiedendem Benzin. Der in der Kälte erhaltene Extrakt enthält alles Cholesterin, Kephalin, Lecithin, erhebliche Mengen von Cerebrosiden, Myelin und wenig anderer noch nicht definierter Phosphatide. Von dem Cholesterin und den Phosphatiden trenne ich das Kephalin durch Fällen mit Alkohol, von beigemengtem Cerebrosid durch Ausziehen mit wenig sehr kaltem Äther, worin Cerebroside sehr schwer löslich sind.

Benzin ziehe ich als Extraktionsmittel dem Äther vor, weil es weniger von den dunklen Zersetzungsprodukten in Lösung bringt, trockener und auch billiger ist; die angeblich oxydierenden Wirkungen des Äthers kommen gar nicht in Frage.¹⁾

Zu den Eigenschaften des Kephalins, die von den aufgezählten Forschern angegeben worden sind, ist folgendes nachzutragen:

Kephalin ist ein farbloser, fester Körper; deutliche Krystalle konnte ich niemals beobachten; aus sehr kalten ätherischen Lösungen scheidet sich das Kephalin in Globuliten, doppelbrechend, aber ohne erkennbare Struktur, ab.

¹⁾ Diese Ansicht ist zuerst von Thudichum (l. c. S. 131 und 149) geäußert, neuerdings auch von S. Fränkel (diese Zeitschr. 19, 264, 1909) vertreten worden. Wie weit der von den genannten Forschern angewandte Äther verunreinigt war, kann ich nicht beurteilen; an dem in Deutschland käuflichen, gewöhnlichen Äther ist keine Spur oxydierender Wirkungen zu beobachten. Natürlich oxydieren sich ungesättigte Körper in verdünnter Lösung bei Luftzutritt leichter als in festem Zustand. Auch dem in Äther enthaltenem Hydroperoxyd läßt sich die Bräunung von Kephalinpräparaten nicht zuschreiben (Thudichum): Durch Behandlung mit Peroxyd in Äther werden braune Kephalinlösungen farblos.

Trockenes Kephalin ist im dunklen Vakuumexsikkator monatelang unverändert haltbar.¹⁾

In wasserfreiem Äther ist es unlöslich; in Äther, der 1% Wasser enthält, löst es sich in allen Verhältnissen.

Aus wässrigen Lösungen läßt sich gequollenes Kephalin abzentrifugieren.

Die Lösungen in Benzol und in Äther sind ausgesprochen kolloidal; selbst bei hohen Konzentrationen bewirkt Kephalin keine Siedepunktserhöhung in diesen Lösungsmitteln; die Moleküle sind weitgehend assoziiert.

Als Aschebestandteile des Kephalins habe ich Ammoniak, Kalk und Kali gefunden, auch spurenweise Magnesia, niemals aber Eisen und Kupfer.²⁾

Die oft zu beobachtende Fluorescenz des Kephalins hängt mit der Verunreinigung durch Salze des ersten Abbauproduktes zusammen. Durch Ausschütteln einer ätherischen Kephalinlösung mit Salzsäure kann man die Fluorescenz beseitigen; sie kehrt wieder zurück, wenn man die ausgewaschene ätherische Lösung mit wenig Kalkwasser durchschüttelt.

Den Schmelzpunkt des Kephalins, auf den vorläufig noch kein Wert zu legen ist, fand ich bei 174°; bei 185° erfolgte Zersetzung.

Bei einem so kompliziert gebauten Körper, wie es das Kephalin ist, haben Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen keinen ausschlaggebenden Wert; dagegen ist das stöchiometrische Verhältnis von Stickstoff und Phosphor genau bestimmbar und konstant. Die zum Teil einander widersprechenden analytischen Resultate derjenigen Forscher, die bisher das Kephalin bearbeitet haben, sind oben zusammengestellt worden. Zur Kritik dieser Ergebnisse sei bemerkt:

Das Kephalin ist nach zwei Richtungen hin zersetzlich; erstens wird bei Luftzutritt die darin enthaltene ungesättigte Säure oxydiert, zweitens wird durch Wasser, Säuren, Alkali das stickstoffhaltige Radikal und ein Teil der gesättigten Fettsäure abgespalten.

Diese zweite Zersetzung kann zu großen analytischen Fehlern führen; ihr Produkt ist eine vierbasische Säure. Er-

¹⁾ In Gegensatz zu einer Beobachtung von Falk, l. c. S. 190.

²⁾ Thudichum, l. c. S. 130.

folgt die partielle Hydrolyse nicht im isolierten Kephalin, sondern schon in der rohen Gehirnmasse, so sättigt sich die Säure mit Kalk, Kali und besonders mit dem in zersetztem Gehirn reichlich vorhandenen Ammoniak. Dann findet man leicht zu hohe Stickstoffwerte.

Eine andere Fehlerquelle liegt in der Verunreinigung des Kephalins durch Cerebroside, von welchen es nicht leicht zu trennen ist.

Die Präparate von Thudichum waren sehr stark oxydiert, was auch aus den Spaltungsprodukten hervorgeht; sie enthielten sicher keinen salzartig gebundenen Stickstoff, hatten aber vielleicht einen Teil der Fettsäure abgespalten.

Die Darstellungsmethode von Cousin und von Koch würde salzartige Verunreinigungen nicht ausschließen, indessen weisen die Analysen dieser Forscher nicht auf solche hin.

Falk ging von einem Gehirnmateriale aus, das sehr weitgehend zersetzt sein mußte¹⁾; es ist in seinen Präparaten, die braun und stark fluoreszierend waren, ein hoher Gehalt an salzartig gebundenem Stickstoff wohl anzunehmen. Auch Cerebroside scheinen nicht ausgeschlossen zu sein, der absolut niedrige Phosphorgehalt deutet auf diese Verunreinigung besonders hin.

Ich habe in Präparaten, die aus frischem Kalbshirn durch Lösungsmittel bereitet, vollkommen farblos und geruchlos waren, das Verhältnis P:N gleich 1 gefunden.

Dasselbe Resultat erhielt ich an guten Präparaten aus Menschenhirn.

In ranzigen, aus schlechtem Gehirnmateriale erhaltenen Präparaten schwankte das Verhältnis P:N zwischen 1:1,3 und 1:1,5; nach der von Thudichum angegebenen Reinigung durch Wasser und Salzsäure oder durch Ausschütteln der ätherischen Lösung mit sehr verdünnter Säure steigt das Verhältnis P:N gleich auf 1.

Eine Reihe von Präparaten, die hartnäckig Cerebroside zurückhielten, wies ebenfalls einen sehr hohen Stickstoffgehalt und sehr niedrigen Phosphorgehalt auf. Nach der Entfernung der Cerebroside fand ich normale Werte.

Es scheint mir durch diese analytischen Befunde in Übereinstimmung mit Thudichum, Cousin und Koch die Formel eines Monoaminophosphatides für die Hauptmasse des Gehirn-

¹⁾ Auf Glasplatten gestrichener, bei 50° getrockneter Gehirnbrei.

kephalins gesichert. Von Falk wurde übrigens für Nervenkephalin dasselbe Verhältnis von P:N gefunden.

Durch 12stündige Hydrolyse mit Baryt bei 120° wird das Kephalin gespalten in Stearinsäure, Basen und eine phosphorhaltige, vierbasische Säure, deren Barytsalz ätherlöslich ist und der Formel $C_{27}H_{53}O_{10}PBa_2$ entspricht. Ein saures Natronsalz ist leicht wasserlöslich; die Lösung der neutralen oder basischen Seife erstarrt selbst in großer Verdünnung zu einer Gallerte. Es fehlt den Natronseifen die Erscheinung leichter Aussalzbarkeit, die das „kephalinsäure Natron“ auszeichnet.

Das Auftreten dieser vierbasischen phosphorhaltigen Säure in einer Ausbeute von 50% des Kephalins zeigt deutlich, daß die vermutete Analogie zwischen dem Bau des Kephalins und dem des Lecithins nicht besteht.

Weitere Hydrolyse mit Natronlauge lieferte die ungesättigte Säure des Kephalins, die „Kephalinsäure“ oder „Kephalinlinolensäure“, als gelbes Öl in einer Ausbeute von 18% des Kephalins. Sie wurde in ihren Methylester übergeführt und dieser durch Destillation im Vakuum gereinigt. Der bei 188° und vermindertem Druck übergegangene Teil bildet ein wasserhelles, an der Luft gelblich werdendes Öl von spez. Gewicht $D_{\frac{20}{4}}^{\frac{20}{4}}$ gleich 0,8816. Die Elementaranalyse lieferte Werte, die genau auf die Formel $C_{19}H_{34}O_2$ stimmten. Bei einer Hydrierung nach dem unten beschriebenen Verfahren nimmt der Ester 108% der für obige Formel geforderten Wasserstoffmenge auf und geht dabei in Stearinsäuremethylester vom Schmelzpunkt 37° über. Durch Verseifung erhielt ich daraus Stearinsäure vom Schmelzpunkt 69°. Eine Molekulargewichtsbestimmung bestätigte die einfache Formel $C_{13}H_{24}O_2$.

Der Kephalinsäureester nimmt leicht ein Molekül Sauerstoff auf.

Durch Verseifung erhielt ich aus dem Ester die freie Kephalinsäure als schwach gelbliche Flüssigkeit¹⁾, die gegen — 8° erstarrt und bei — 4° wieder schmilzt. Im Vakuum unter 1 mm Druck ging die Säure konstant bei 205° über; das Destillat war anscheinend ein Gemisch der freien Säure mit einem isomeren Lakton.

¹⁾ Die „pastöse, gelatinöse Masse“ von Falk (l. c. S. 193) ist nicht die freie Säure, sondern eine zähe Emulsion derselben mit Wasser.

Analysen ergaben die Formel $C_{18}H_{32}O_2$; die Hydrierung führte unter Aufnahme von 104,8% der berechneten Wasserstoffmenge zu Stearinsäure vom Schmelzpunkt 68°.

Das charakteristische Baryumsalz erhielt ich kristallinisch; seine Formel ist $Ba(C_{18}H_{31}O_2)_2$.

Das Natronsalz $C_{18}H_{31}O_2Na$ wird in wässriger Lösung erhalten, wenn man ätherische Kephalinssäure mit wässrigem Alkali ausschüttelt; durch kleine Mengen Kochsalz oder Natriumsulfat wird es irreversibel ausgesalzen. Die ausgesalzene Seife ist leicht ätherlöslich; es kann aus ihr nur über die freie Säure eine wässrige Seifenlösung hergestellt werden.

Die Säure und die Salze oxydieren sich wie der Ester leicht an der Luft; die Salze zeigen die charakteristischen Löslichkeitsverhältnisse der Linolate: sie sind in Äther, Chloroform, Benzin und Benzol leicht löslich.

Aus den beschriebenen Eigenschaften der „Kephalinssäure“ geht hervor, daß sie der Leinölsäure sehr nahesteht, vielleicht mit ihr identisch ist. Die Identität läßt sich nur wahrscheinlich machen, nicht exakt feststellen, da unsere Kenntnis der Linölsäure noch sehr mangelhaft ist; nach neueren Forschungen über die Linölsäure¹⁾ erscheint es überhaupt zweifelhaft, ob eine reine, einheitliche Linölsäure jemals dargestellt worden ist. Es stehen indessen Untersuchungen über Linölsäure von sehr maßgebender Seite bevor²⁾; vor der weiteren Untersuchung der schwer zugänglichen „Kephalinssäure“ möchte ich jene abwarten.

Es bleibt natürlich noch dahingestellt, ob die „Kephalinssäure“ einheitlich oder ein Gemisch Stereoisomerer ist.

Die Kephalinlinölsäure wurde in einer Ausbeute von 18% des Kephalins gefunden; wenn man den erheblichen Betrag der oxydierten Säure dazurechnet, die sich durch Luftsauerstoff gebildet hat, so muß man die Kephalinlinölsäure als die Hauptfettsäure des Kephalins neben Stearinsäure betrachten,

Schon Cousin hat erkannt, daß die charakteristische Säure des Kephalins eine doppelt ungesättigte Fettsäure ist; auch im

¹⁾ Erdmann und Bedford, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1324.

²⁾ Fußnote bei Erdmann, Bedford und Raspe, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1334 weist darauf hin, daß bei C. Harries über Linölsäure gearbeitet wird.

Lecithin¹⁾ fand er Fettsäuren, die ätherlösliche Barytsalze und eine Jodzahl 130 bis 150 liefern. Durch Oxydation dieser Fettsäuren mit Permanganat erhielt er Dioxystearinsäure und Tetraoxystearinsäure. Die Angaben dieses überaus zuverlässigen Forschers machen es sicher, daß die ungesättigten Fettsäuren des Lecithins aus Eigelb zum großen Teil aus einer Linolsäure bestehen.

Wenn nun die Lecithinlinolsäure und die Kephalinlinolsäure identisch wären, was wohl anzunehmen ist, so wäre dadurch die Ansicht von Thudichum, daß die „spezifische“ Fettsäure dem Kephalin seine charakteristischen Eigenschaften verleiht, unhaltbar geworden.

Nach meiner Ansicht handelt es sich im Kephalin um einen vom Lecithin verschieden konstruierten Körper. Es wären allerdings auch nach der üblichen Lecithinformel erhebliche Verschiedenheiten zu erwarten, die dadurch bedingt wären, daß Lecithin durch seine Ammoniumbase Cholin und eine freie Säurevalenz den Charakter eines Betains erhält, dagegen Kephalin mit seiner Monomethylbase einer Amidosäure zu vergleichen wäre. Gegen eine Analogie mit Lecithin spricht die Bildung einer phosphorhaltigen, vierbasischen Säure beim Abbau, und der Umstand, daß die Kephalinlinolsäure im Gegensatz zu der Stearinsäure so auffallend fest mit der Phosphorsäure verbunden ist. Schließlich scheint mir die Glycerinphosphorsäure nicht mit genügender Sicherheit als Bestandteil des Kephalins festgestellt zu sein. Über alle diese Fragen werden weitere Studien eine Aufklärung bringen.

Die Kephalinlinolsäure ist nicht die einzige Säure, die man im Kephalin findet. Sowohl aus den ätherlöslichen, als auch den unlöslichen Barytseifen kann man durch heißen Alkohol eine geringe Menge (aus 70 g Kephalin 0,6 g) Barytsalz mit 19,16% Ba ausziehen; die Seife fällt beim Abkühlen des Alkohols aus und ist wahrscheinlich ölsaurer Baryt.

Die hohen „Wasserstoffzahlen“ der Kephalinssäure und ihrer Ester sprechen für einen geringen Gehalt an 3fach ungesättigter Säure; bei einer Bromierung des rohen Methylesters erhielt ich einen in Benzin unlöslichen bromierten Ester, der 6 Bromatome

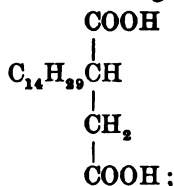
¹⁾ Cousin, Compt. rend. 137.

enthielt, in einer Ausbeute von 6% der Gesamtmenge. Dieses Hexabromid schmolz indessen höher als der Hexabromstearinsäuremethylester (178° statt 153°).

Wenn man rohe Kephalinssäure der Kalischmelze bei 260° unterwirft, so erhält man neben viel unveränderter Kephalinssäure in einer Ausbeute von 16 bis 18% eine Säure vom Schmelzpunkt 33°, deren Zusammensetzung durch Analyse, Molekulargewichtsbestimmung und Jodzahl als $C_{15}H_{34}O_2$ festgestellt wurde. Durch Destillation geht sie in ein Anhydrid vom Schmelzpunkt 13° und der Zusammensetzung $C_{30}H_{68}O_2$ über.

Dieses neue Isomere der Ölsäure ist vielleicht ein Spaltungsprodukt einer homologen Kephalinssäure von der Zusammensetzung $C_{20}H_{36}O_2$. Für die Annahme einer partiellen Hydrierung der Kephalinssäure in der Kalischmelze fehlt es vorläufig an Analogie. Die Frage nach der Beziehung dieser Säure zum Kephalin und der Kephalinlinolsäure bleibt somit offen.

Ähnlich verhält es sich auch mit dem Körper vom Schmelzpunkt 122°, den Falk¹⁾ als Produkt der Oxydation mit alkalischem Chamäleon erhielt. Ich habe diesen Körper mit dem Schmelzpunkt 121° in geringer Ausbeute erhalten, in der Analyse aber um 2 Wasserstoffatome weniger gefunden als Falk. Die Säure entfärbt Brom nicht. Die Entstehung und Natur dieser Säure bleibt noch unerklärt. Ihre Zusammensetzung und ihr Schmelzpunkt entsprechen der von Krafft und Grosjean²⁾ aus Cetenbromid hergestellten Tetracyclbernsteinsäure



jedoch ist eine Identität keineswegs erwiesen.

III.

Experimentelles.

1. Vorbehandlung des Gehirnmaterials.

Frisches Gehirn wird auf der Schlemmühle mit Aceton fein zermahlen und mit dem 3fachen Gewicht Aceton 10 Tage

¹⁾ Diese Zeitschr. 16, 193, 194, 1909.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2355.

lang gehärtet; das gehärtete Material wird koliert, abgepreßt und im Luftstrom bei 30° innerhalb 1 Stunde getrocknet. Hellbraune, harte, geruchlose, linsengroße Klümpchen; aus 10 Gehirnen von erwachsenen Menschen 1,8 bis 2 kg Trockensubstanz.

2. Die trockene Masse wird auf einer Schlemmühle mit leicht siedendem Petroläther (30 bis 60°) zu einem unfühlbaren Mehl zerrieben und mit dem 5 fachen Gewicht desselben Lösungsmittels 1 Tag lang auf der Maschine geschüttelt. Nach Absetzen und Abgießen des Extraktes wird neues Lösungsmittel zur wiederholten Extraktion hinzugefügt. Durch Zentrifugieren trennt man den Extrakt vom Rückstand. Durch die Abkühlung während des Zentrifugierens scheidet sich gewöhnlich eine große Menge der bei 20° in Lösung gegangenen Cerebroside ab.

Die Benzinlösung ist schwach gelblich gefärbt, klar; durch weitere Extraktion mit kochendem Benzin bei 30° erhält man einen farblosen Extrakt, der nicht mehr viel Phosphatide aber große Mengen Cerebroside enthält.

Die vereinigten Extrakte enthalten alles Cholesterin, Kephalin, Lecithin, große Mengen Cerebron und vielleicht auch andere Cerebroside, Myelin und andere nicht definierte Phosphatide.

3. Die vereinigten Extrakte aus 2 kg trockenem Gehirn werden von 10 Litern auf 3 Liter eingedampft; solange die Temperatur 50° nicht übersteigt, unter gewöhnlichem, dann unter vermindertem Druck. Es werden 100 ccm des bei 30° übergegangenen Benzins hinzugefügt und die Flüssigkeit durch schnelles Absaugen auf etwa — 20° abgekühlt, wodurch große Mengen Cerebroside abgeschieden werden.¹⁾

Die davon abgossene klare Lösung wird unter vermindertem Druck weiter auf 800 ccm abdestilliert und mit 1½ l absoluten Alkohols gefällt, der feste weiße Niederschlag

¹⁾ S. Fränkel (diese Zeitschr. 19, 261, 1909) gibt an, das Cerebroside, welches mit Kephalin in Petroläther geht, sei verschieden von allen bekannten Cerebroside, und stellt darüber weitere Mitteilung in Aussicht. Demgegenüber möchte ich betonen, daß ich aus demselben Rohcerebroside nach Tierfelders Vorschrift (Zeitschr. f. physiol. Chem. 49, 286, 1906) in 60% Ausbeute Cerebron gewonnen habe.

abgesaugt, mit Alkohol gewaschen, in $\frac{1}{2}$ l leicht siedenden Petroläthers (30 bis 50°) aufgelöst und wieder mit $1\frac{1}{2}$ l Alkohol gefällt. Dann wird abgesaugt, gewaschen und im Vakuum-exsiccator getrocknet. 136 g.

Nach 10- bis 14tägigem Verweilen im Exsiccator wird das Kephalin fein pulverisiert und mit dem 5fachen Gewichte kalten Äthers geschüttelt; dann läßt man die Lösung, vom Rückstand abzentrifugiert, gut verschlossen im Eis 24 Stunden lang stehen. Nach nochmaligem Zentrifugieren fällt man die ätherische Lösung mit Alkohol. Ausbeute 106 g.

In einigen Fällen reinigte ich das erhaltene Kephalin durch Auflösen in der 200fachen Menge Äther und Ausschütteln der ätherischen Lösung mit verdünnter Salzsäure, bis kein Kalk mehr in der Salzsäure nachzuweisen war. Zuerst wurde öfters mit Wasser, dann mit sehr verdünntem Soda und wieder mit Wasser gewaschen. Die ätherische Lösung wurde eingengt, mit Alkohol gefällt und getrocknet.

In der wässerigen Lösung war viel Calcium, sehr wenig Magnesium, Kalium und Natrium, eine erhebliche Menge Ammoniak nachzuweisen.

3. Die vereinigten petroläther-alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum auf 2 l eingengt und mit alkoholischem, basischem Bleiacetat gefällt. Ein kleiner Teil des Niederschlages löste sich in Äther; er bestand wohl aus Kephalinblei. Der unlösliche Teil war bis auf einen geringen Rückstand in Benzol löslich und bestand wahrscheinlich aus Thudichums Myelinblei.

Aus dem Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff das Blei, der Schwefelwasserstoff durch Kohlensäure entfernt; dann wurde das Lecithin als Chlorcadmiumsalz gefällt, in Benzol gelöst und mit Alkohol wieder gefällt.

Nachdem überschüssiges Cadmium durch Schwefelwasserstoff entfernt war, wurde die Lösung neutralisiert und stark eingengt. Man erhält daraus das Rohcholesterin, das nach Umkrystallisieren aus Aceton bei 138°, nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 142° schmilzt.

Aus 2 kg trockenem Gehirn, entsprechend 10 Menschengehirnen, erhielt ich 180 g Rohcholesterin; der Rückstand der Benzinextraktion enthielt kein Cholesterin.

4. Aus folgenden Versuchen geht die leichte Verseifbarkeit des Kephalin hervor.

Es wurde eine Lösung von 1 g Kephalin in 250 ccm Wasser mit $\frac{1}{100}$ -Natronlauge titriert.

a) 25 ccm verbrauchen	5,3 ccm $\frac{1}{100}$ -NaOH
25 „ „ nach 3 Tagen bei 18° .	6,25 „ „ „
25 „ „ „ 6 Stunden bei 40°	7,55 „ „ „
25 „ „ „ 6 „ „ 80°	11,65 „ „ „

b) Zu derselben Menge Lösung wurden einmal 5 ccm, das anderemal 10 ccm $\frac{1}{100}$ -H₂SO₄ hinzugefügt; nach 4 Stunden bei 18° verbrauchte Probe 1 11,15 ccm $\frac{1}{100}$ -NaOH

„ 2 17,25 „ „ „

das ist für Versuch 1 um 0,85, für Versuch 2 um 1,9 ccm mehr als ursprünglich.

c) Macht man die Kephalinlösung mit Alkali oder Soda alkalisch, so verschwindet die alkalische Reaktion sehr schnell.

Kephalin wird also in Gegenwart von Wasser, durch Wärme, durch Säure und verdünntes Alkali leicht zersetzt; man sieht daraus, wie unzweckmäßig es ist, die rohe, alkalische Gehirnmasse hohen Temperaturen auszusetzen.¹⁾

Die Phosphorbestimmungen wurden nach Neumann, die Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt.

5. I. Ein Präparat aus frischem Kalbshirn, durch Lösungsmittel dargestellt.

0,2532 g verbrauchen 17,45 ccm $\frac{1}{2}$ -NaOH (log $T = 0,00848$)	entsprechend 3,89% P
0,3918 g „ 4,95 „ $\frac{1}{10}$ -H ₂ SO ₄	entsprechend 1,77% N
	P:N = 1:1,01.

II. Präparat aus Menschenhirn verschiedener Darstellung, ohne Reinigung durch Säure.

1. 0,2703 g verbrauchen 18,56 ccm $\frac{1}{2}$ -NaOH (T wie oben)	entspr. 3,87% P
2. 0,2635 g „ 18,05 „ „ „ („)	„ 3,86% P
3. 0,2602 g „ 17,86 „ „ „ („)	„ 3,87% P
4. 0,1982 g „ 13,7 „ „ „ („)	„ 3,90% P
1. 0,4480 g verbrauchen 5,85 ccm $\frac{1}{10}$ -H ₂ SO ₄	entsprechend 1,83% N
2. 0,4381 g „ 5,50 „ „ „ „	„ 1,76% N
3. 0,3478 g „ 4,75 „ „ „ „	„ 1,91% N
4. 0,2490 g „ 3,25 „ „ „ „	„ 1,83% N

¹⁾ S. Fränkel (l. c.) empfiehlt ein Trocknen des Gehirnbreies bei 100° und gibt an, daß durch dieses Verfahren „die wesentlichsten Substanzen nicht alteriert werden“. Ich kann dem nicht beistimmen.

1. N:P = 1,04
2. N:P = 1,00
3. N:P = 1,08
4. N:P = 1,03

III. Ein aus ranzigem Gehirn gewonnenes Präparat, durch Lösungsmittel dargestellt:

0,2110 g verbrauchen 12,64 ccm $\frac{1}{2}$ -NaOH (*T* wie oben) entspr. 3,38% P
 0,4398 g „ 7,2 „ $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ („) „ 2,29% N
 N:P = 1,49.

Dasselbe nach Thudichum mit Salzsäure gereinigt:

0,2730 g verbrauchen 21,65 ccm $\frac{1}{2}$ -NaOH (*T* wie oben) d. h. 4,47% P
 0,3152 g „ 4,16 „ $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ („) d. h. 1,98% N
 N:P = 1,00.

IV. Verschiedene cerebrosidhaltige Präparate hatten einen Phosphorgehalt von 2,65 bis 3,22% und einen Stickstoffgehalt von 1,94 bis 2,56%. Nach Beseitigung von Cerebrosiden und ev. Reinigung mit Salzsäure wurden Präparate erhalten, die normale Werte zeigten.

6. 80 g Kephalin werden in 1 l Wasser aufgelöst und unter Rühren mit 500 g Barythydrat in 3 l heißen Wassers gefällt; der Niederschlag samt der Lösung werden 18 Stunden lang im Autoklaven bei 110° erhitzt.¹⁾ Die erkalteten krystallinischen Seifen werden abgesaugt, gewaschen, in wenig Wasser suspendiert und ausgeäthert.

Der Rückstand besteht aus farblosen Barytsalzen, aus welchen sich durch Kochen mit Alkohol wenig ölsaures Barium ausziehen läßt. Mit Salzsäure zersetzt und aus Alkohol umkrystallisiert, liefern die Seifen eine farblose Fettsäure vom Schmelzpunkt 59 bis 60°; durch Umkrystallisieren aus Alkohol läßt sich der Schmelzpunkt bis auf 68° bringen. Ausbeute nach der ersten Krystallisation: 22 g. Phosphorfrei.

Das ätherlösliche Barytsalz wird aus Äther mit Alkohol gefällt und getrocknet. Ausbeute 42 g. Stickstofffrei.

Analyse: C und H durch Verbrennen im Kupferschiffchen mit Bichromat. Eine Probe wurde nach Carius verbrannt,

¹⁾ Thudichum kocht 5 Stunden mit Baryt, Falk 12 bis 16 Stunden; nach dieser Zeit soll die Kephalinssäure frei von Phosphor sein. Ich konnte bei wiederholten Versuchen selbst nach 50stündigem Kochen mit Baryt keine phosphorfreie Kephalinssäure erhalten.

Baryt mit Schwefelsäure gefällt, im Filtrat Phosphor nach Neumann bestimmt.

0,1579 g geben 0,2205 g CO_2 und 0,0869 g H_2O ,

0,5932 g geben 0,3375 g BaSO_4 und verbrauchen 37,80 $\frac{1}{2}$ -NaOH.

Gefunden: 38,09% C; 6,3% H; 33,5% Ba; 3,52% P,

Berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{53}\text{O}_{10}\text{Ba}_2\text{P}$: 38,42% C, 6,33% H, 32,60% Ba, 3,67% P.

Das phosphorhaltige Barytsalz ist leicht löslich in Äther, Benzol, Chloroform, Benzin; unlöslich in Alkohol, Aceton, Essig-äther. In seinen physikalischen Eigenschaften erinnert es vollständig an kephalinsaures Barium.

40 g des Barytsalzes werden mit 500 g Äther in Lösung gebracht und mit 20% Salzsäure ausgeschüttelt, bis kein Baryt mehr ausgezogen wird. Das saure Waschwasser wurde mit Schwefelsäure gefällt; erhalten 22,7 g Bariumsulfat, entsprechend 33,5% Ba.

Durch Ausschütteln mit Säure verliert die ätherische Lösung ihre ursprüngliche, starke Fluorescenz.

Die ätherische Lösung wurde mit 46 com normaler Natronlauge in 500 com Wasser ausgeschüttelt; die phosphorhaltige Säure ging vollständig über.

20 com der wässrigen Lösung wurden stark alkalisch gemacht und mit Bariumchlorid gefällt; das ätherlösliche Salz aus Äther mit Alkohol gefällt.

0,3207 g verbrauchen 22,1 com $\frac{1}{2}$ -NaOH und geben 0,1834 g BaSO_4 , entsprechend 3,81% P und 33,66% Ba übereinstimmend mit der vorherigen Analyse.

Die dünnflüssige, wässrige Lösung des Mononatriumsalzes wird auf Zusatz weiterer Mengen Natronlauge immer zäher und schließlich beim Auffüllen auf das 4 fache der ursprünglichen Menge zähflüssig, fadenziehend, gelatinös. Durch Kochsalz wird weder das saure noch das basische Salz ausgesalzen.

7. Die Natronseife wird mit 50 g Natronhydrat in 2 l Wasser 20 Stunden lang im Autoklaven auf 110° erhitzt. Nach dieser Zeit erweist sich eine Probe leicht aussalzbare, ätherlöslich und frei von organischem Phosphor.

Die kalte Lösung wird mit 500 com gesättigter Natriumsulfatlösung ausgesalzen, schwach alkalisch ausgeäthert, die ätherische Lösung mit Salzsäure gespalten, gewaschen, mit viel Natriumsulfat getrocknet, der Äther im Kohlensäurestrom abdestilliert. Es hinterblieben 15 g eines gelben Öles.

Davon werden 12 g in Methylalkohol (80 g) gelöst, auf 40° erwärmt und 5 g Schwefelsäure in 20 g Methylalkohol hinzugefügt. Nach einigen Minuten fällt der Ester als braunes Öl aus.

Der wie gewöhnlich isolierte Ester wurde im Vakuum destilliert;¹⁾ es ging die Hauptmenge bei ca. 0 mm von 188 bis 190° über. Eine Probe zwischen 190 und 205° wurde besonders aufgefangen, wegen ihrer kleinen Menge jedoch nicht untersucht. Es hinterblieb ein schmieriger Rückstand.

Fraktion 188 bis 190°. Schwach gelbliche, klare Flüssigkeit, bei — 20° noch flüssig.

$$D \frac{22,6}{22,6} = 0,8816.$$

Analysen: 0,1177 g gaben 0,3340 g CO₂ und 0,1236 g H₂O,
entsprechend 77,40% C und 11,75% H,
berechnet für C₁₈H₃₄O₂ 77,47% C und 11,65% H.

Molekulargewicht: 0,1484 g in 20 ccm Eisessig bewirken eine Siedepunktserhöhung von 0,06°.

(K = 25,3), Molekulargewicht gefunden 296,
berechnet 294.

Frisch destillierter Ester wurde bei 40° zur Konstanz im Sauerstoffstrom gehalten. 0,2053 g nehmen 0,0204 g an Gewicht zu, entsprechend 29,2 g auf ein Molekül.

Der Ester wurde mit alkoholische Natronlauge verseift, mit Wasser versetzt, mit Natriumsulfat ausgesalzen, ausgeäthert, in Äther mit Salzsäure zersetzt, mit Na₂SO₄ getrocknet und der Äther im Kohlensäurestrom verdampft. Es hinterbleibt ein gelbes Öl.

Die Säure ist im Vakuum nicht unzersetzt flüchtig; es geht bei 0 mm²⁾ und 205° die Hauptmenge über als fast farbloses Öl, aus dem Nadeln auskrystallisieren.

Analyse: 0,1670 g geben 0,1747 g H₂O und 0,4720 g CO₂,
entsprechend 11,70% H und 77,08% C,
berechnet für C₁₈H₃₂O₂ 11,51% H und 77,06% C.

¹⁾ Das Vakuum wurde mit einer Gaede-Pumpe erzeugt und mit einem gewöhnlichen Manometer 0 mm gemessen. Da mir kein Hochvakuum-Manometer zur Verfügung stand, haben die Angaben der Siedepunkte nicht den Wert von Konstanten.

²⁾ Siehe oben.

Nur die Hälfte des Destillates löste sich in Alkali; es bestand offenbar aus freier Kephalsäure und einem isomeren Lacton.

Die Kephalsäure wurde aus dem Destillat über das Barytsalz isoliert. Gelbliches Öl, bei -8° erstarrend, wurde bei $+4^{\circ}$ wieder flüssig.

Analyse: 0,1038 g geben 0,2929 g CO_2 und 0,1070 g H_2O ,
entsprechend 77,03% C und 11,54% H,

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 77,06% C und 11,51% H.

Äquivalentgewicht: 0,1687 g Substanz verbrauchen 5,8 com $\frac{1}{10}$ -NaOH.

Gefunden 291, berechnet $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2 = 284$.

Barytsalz: Es wird gewonnen durch Fällen der Alkaliseife mit Chlorbarium, Ausäthern, Fällen mit Alkohol und Krystallisieren aus Atheralkohol. Mikroskopisch dicke, rhombische Täfelchen. Farblos. Löslich in Ather, Benzin, Benzol, Chloroform.

Analyse: Einer ätherischen Lösung wird durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure Barium entzogen.

0,8497 g liefern 0,2785 g BaSO_4 , entsprechend 19,29% Ba,

berechnet für $\text{Ba}(\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2)_2$ 19,29% Ba.

Natronsalz. Aus der Seifenlösung durch Natriumsulfat ausgezogen, der Niederschlag ausgeäthert, mit Aceton abgeschieden. Harzige, feste braune Masse, löslich in Chloroform, Ather, Alkohol, unlöslich in Aceton.

0,2208 g liefern 0,0482 g Na_2SO_4 , entsprechend 7,07% Na,

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2\text{Na}$ 7,62% Na.

Silbersalz, Kupfersalz, Bleisalz, Kalksalz wurden erhalten aus der Seifenlösung mit den entsprechenden Metallsalzen. Alle unlöslich in Wasser, löslich in Ather.

8. Hydrierung der Kephalsäure.

Über die Anzahl der Doppelbindungen in einem Körper kann man schon durch die Elementaranalyse Aufschluß erhalten; sicherer und genauer ist jedoch die Methode, gesättigte Anlagerungsprodukte darzustellen und die Zahl der angelagerten Atome oder Radikale zu bestimmen. Als solche kommen hauptsächlich in Betracht: Halogene, Hydroxyl (durch Permanganat angelagert), Ozon.

Bei ungesättigten Säuren und ihren Derivaten wird am häufigsten die bequeme Bestimmung der Jodzahl nach v. Hübl

oder in einer der vielen Modifikationen benutzt. Diese ist für Ölsäure und ihre Glyceride ausgearbeitet und auf diesem Gebiete, d. h. in der technischen Fettanalyse, von größter Bedeutung.

Sie versagt dagegen vollkommen überall da, wo sich negative Reste in der Nähe der Doppelbindung befinden; so lagern Fumar- und Maleinsäure kein Jod an,¹⁾ Crotonsäure nur 8^o/_o,²⁾ Zimmtsäure³⁾ 33^o/_o. Ihr Nachteil liegt ferner darin, daß sie zu einem Gemisch undefinierter Produkte führt und eine Identifizierung des Reaktionsproduktes unmöglich macht. Bei Säuren mit mehreren Doppelbindungen können „sterische Hinderungen“ eintreten⁴⁾ und Substitutionsbeeinflussungen zustande kommen. Es ist durchaus nicht ratsam, bei Körpern unbekannter Struktur auf die Jodzahl größeren Wert zu legen.⁵⁾

Erdmann und Bedford (l. c.) haben in ihrer sehr schönen Arbeit über Linolsäure gezeigt, daß diese Säure in zwei Formen auftritt, die genau die gleiche Konstitution haben, von denen eine 6 Atome Brom, die andere nur 4 addiert. Die Zahl der Doppelbindungen bestimmten sie durch Bestimmung der katalytisch angelagerten Wasserstoffmenge; sie erwies sich in beiden Säuren als die gleiche.

Erdmann und Bedford stellten den Begriff „Wasserstoffzahl“ auf, d. h. derjenigen Menge Wasserstoff in Gramm, die von 100 g der ungesättigten Substanz angelagert wird.

Wasserstoff ist nun ein ideales Additionsreagens; er wirkt unter keinen Umständen substituierend, sterische Hinderungen sind ausgeschlossen, die Addition führt zu den bestdefinierten Reaktionsprodukten. Durch die Arbeiten von Sabatier und Senderens⁶⁾, Erdmann und Bedford, und vor allem die von Fokin⁷⁾ und Willstätter und Mayer⁸⁾ besitzen wir

¹⁾ Lewkowitsch, Analysis of oils. II. Edit. S. 176.

²⁾ Gomberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 1890 1902.

³⁾ Fulda, Monatsh. f. Chem. 20, 711, 1899.

⁴⁾ Erdmann und Bedford, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1333, 1009.

⁵⁾ So z. B. Ivar Bang, Ergebnisse d. Physiol. 6, 157.

⁶⁾ Ann. chim. phys. [8] 4, 319, 1905.

⁷⁾ Russisch 38, 419, 1906; 39, 607, 1907; Chem.-Zeitg. 32, 922, 1908.

⁸⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1475, 1908.

Katalysatoren, die eine glatte Addition von Wasserstoff an Doppelbindungen ermöglichen.

Erdmann und Bedford¹⁾ tropften die ungesättigte Substanz auf Nickelbimsstein in Wasserstoffatmosphäre; die Substanz war gewogen, der eingeführte Wasserstoff gemessen, der überschüssige zu Wasser verbrannt und gewogen. Die Methode liefert ausgezeichnete Resultate, erfordert aber eine sehr komplizierte Apparatur und große Substanzmengen. Erdmann arbeitet mit 5 bis 10 g Substanz und 18 l Wasserstoff.

Ich benutzte eine Methode, bei der die Wasserstoffanlagerung durch Palladium bewirkt wurde; die verbrauchte Gasmenge wurde eudiometrisch gemessen.²⁾

Palladiumschwarz ziehe ich dem Platin vor, weil es leicht darzustellen, sehr wirksam ist und keine Neigung hat, als Organosol in Lösung zu gehen. Durch Verwendung einer großen Menge des Katalysators und durch starkes Schütteln des Reaktionsgefäßes kann man die Reduktion so schnell verlaufen lassen, wie dies bei einer gasvolumetrischen Bestimmung erwünscht ist. Mit 3 g Palladium konnte ich in einer halben Stunde eine Grammdoppelbindung reduzieren.

Man läßt das Palladiumschwarz unter Äther sich mit Wasserstoff sättigen und liest das Gasvolumen ab; dann fügt man die

¹⁾ Kurz skizziert bei Erdmann und Bedford, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1325; genau bei Bedford, Dissertation, Halle a. S., 1906. Genau referiert bei Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsbestimmung, 2. Aufl., 1909, S. 956.

²⁾ Eine ähnliche Versuchsanordnung bei E. Paal und J. Gerum (Ber. 41, 813, 2273, 1908), sowie E. Paal und K. Roth (Ber. 41, 2283, 1908) in ihren schönen Arbeiten über katalytische Reduktionen mit kolloidalem Palladiumwasserstoff in Albumosenlösungen. Diese Forscher reduzierten präparativ aromatische und aliphatische Säuren, Olsäure und ungesättigte Fette; durch Beobachtung der verbrauchten Wasserstoffmenge verglichen mit der ursprünglichen Jodzahl verfolgten sie den Reaktionsverlauf. Der präparativ-technisch sicherlich sehr wertvollen Reaktion von Paal zog ich die quantitative Ausarbeitung der katalytischen Reduktion nach Fokin und nach Willstätter und Meyer vor. Wenigstens für höhere Fettsäuren eignet sich das Verfahren von Paal nicht; das Arbeiten in wässrigen Lösungen, die Beimischung von Albumosen, das vorzeitige Ausfallen der gesättigten Reaktionsprodukte, welche das Palladium samt Schutzkolloid niederreißen, gestatten die Verwertung der Paalschen Methode für quantitative Bestimmungen nicht.

Substanz in ätherischer Lösung hinzu, läßt nach vollendeter Reduktion wieder Sättigung des Palladiums eintreten und läßt bei gleicher Temperatur wie zuvor ab. Die korrigierte Differenz ergibt die verbrauchte Wasserstoffmenge.

Der Apparat läßt sich aus Teilen zusammenstellen, die in jedem Laboratorium vorhanden sind.

Das Palladiumschwarz erhält man, indem man eine Lösung von 5 g Palladiumchlorid in 100 cem Wasser mit 20 cem 15% Natronlauge und portionsweise 10 cem Formaldehyd (40%) reduziert. Das Palladium wird an der Zentrifuge mit Wasser ausgewaschen und im Vakuum getrocknet. Durch öfteren Gebrauch wird es immer feinpulvriger und büßt an Wirksamkeit nichts ein, wenn man dafür sorgt, daß es nicht an der Luft erglüht.

Ein Liebigscher Kaliapparat ist mit 3 g Palladiumschwarz beschiikt. Das eine Zuleitungsrohr ist senkrecht aufgebogen und trägt einen seitlichen Ansatz; durch die obere Öffnung tritt ein gut befestigter, kleiner Tropftrichter ein. Der seitliche Ansatz sowie das andere Zuleitungsrohr sind durch Sohläuche mit den oberen Hähnen zweier Azotometer verbunden; einer von den Schläuchen ist durch einen Dreiweghahn unterbrochen, der das Verbinden des ganzen Apparates mit einer Luftpumpe ermöglicht. Der Kaliapparat ist so an einer kräftigen Schüttelmaschine befestigt, daß er nach seiner Querrichtung geschüttelt wird.

Man evakuiert den Apparat (die Azotometer sind mit Quecksilber gefüllt und geschlossen) und füllt ihn von den Azotometern aus dreimal mit reinem, trockenem Wasserstoff; man läßt dann bei tiefgestellter Birne etwas Äther in das Absorptionsgefäß einlaufen und schüttelt bei etwa 10 mm Hg Überdruck so lange, bis sich das Gasvolumen nicht mehr verringert. Von Zeit zu Zeit treibt man das Gas durch den Kaliapparat hin und zurück.

Bleibt das Volumen bei starkem Schütteln während 5 Minuten konstant, was gewöhnlich nach 30 Minuten eintritt, so ist das Palladium gesättigt und die Dichtigkeit des Apparates erwiesen.

Man läßt das Palladium sich zu Boden senken, eine ätherische Lösung der gewogenen Substanzmenge einlaufen, schließt die Azotometer ab und liest in beiden das Volumen ab. Dann schüttelt man zur Konstanz und liest wieder ab, womöglich bei der gleichen Temperatur.

Die abgelesene Differenz wird auf 760 mm und 0° reduziert und auf Gewichtseinheiten umgerechnet.

Die anzuwendende Substanzmenge hängt von der Molekulargröße und der Zahl der Doppelbindungen ab. Die Azotometer enthalten zusammen 240 cem. 1 g Ölsäure oder 0,5 g Linolsäure verbrauchen das bequem ablesbare Volumen von 70 cem.

Die Methode hat den Vorteil genauer Bestimmung des Wasserstoffs bei geringen Substanzmengen.

Der verwendete Äther muß durch Natrium oder Wasserstoff von Sauerstoff freigemacht sein.

Als Beispiel sei die Reduktion von Ölsäure und Ölsäure-äthylester angeführt.

I. 0,8512 g Ölsäure verbrauchen bei 20° und 746 mm 73,4 ccm, entsprechend 0,00605 g Wasserstoff, der Wasserstoffzahl 0,7093.

Theoretisch berechnet 0,7140.

Es wurde verbraucht 99,34% der theoretischen Menge.

Die erhaltene Stearinsäure schmilzt bei 68,5°; sie entfärbt Brom nicht. Aus Alkohol umkrystallisiert: Schmelzp. 70°.

II. 1,2372 g Ölsäureäthylester verbrauchen bei 742 mm und 23° 98,6 ccm Wasserstoff, entsprechend 0,007985 g, der Wasserstoffzahl 0,6605; theoretisch berechnet 0,6495.

Es wurde also verbraucht 101,7% der Theorie.

Schmelzp. des hydrierten Esters: 33,5°.

Hydrierung der Kephalsäure:

0,3788 g verbrauchten bei 22° und 740 mm 70,7 ccm H₂, d. h. 0,00571 g Wasserstoff.

Die Wasserstoffzahl beträgt also 1,507, berechnet für C₁₈H₃₂O₂ 1,438.

Es wurde gefunden 104,8% der Theorie.

Durch Verdunsten des Äthers erhielt ich Stearinsäure vom Schmelzp. 64°, durch Umkrystallisieren aus Alkohol stieg der Schmelzp. auf 69°.

Analyse eines Präparates, das bei einer präparativen Reduktion mit Palladium und Wasserstoff erhalten wurde (aus Alkohol krystallisiert):

0,1145 g lieferten 0,3188 g CO₂ und 0,1269 g H₂O,
entsprechend 75,94% C und 12,40% H,

berechnet für C₁₈H₃₂O₂: 75,99% C und 12,76% H.

Hydrierung des Kephalsäuremethylesters:

0,5294 g Ester verbrauchen bei 18° und 752 mm 94,3 ccm H₂, entsprechend 0,007793 g Wasserstoff.

Gefunden die Wasserstoffzahl 1,472, berechnet für C₁₈H₃₄O₂ 1,370, also 107,5% der Theorie.

Schmelzp. des Rückstandes der ätherischen Lösung 37°; mit alkoholischem Kali verseift: Stearinsäure vom Schmelzpunkt 69°.

9. Kalischmelze der rohen Kephalsäure.

Rohe, nicht destillierte Kephalsäure wird in ihr Natronsalz übergeführt und davon 5 g mit 30 g Kali während $\frac{1}{2}$ Stunde auf 260° erhitzt. Die Seife löst sich nicht in Kali, man unterstützt die Reaktion durch fortwährendes Durchkneten.

Die Seifenmasse wird aus dem geschmolzenen Kali herausgehoben, in Wasser gelöst, mit Kochsalz ausgesalzen, der Niederschlag abfiltriert und gewaschen; dann wird er mit Äther extrahiert. Kephalin-saures Natron geht in den Äther. Der Rückstand wird mit Säure zersetzt, ausgeäthert, nach Abdestillieren des Äthers in alkoholischer Lösung mit Tierkohle gekocht. Nach Verdampfen des Alkohols hinterbleibt eine feste, farblose Säure in der Ausbeute von 0,8 g bis 0,9 g. Sie entfärbt Brom.

Die Säure krystallisiert in Nadeln, ihr Schmelzpunkt liegt bei 33°.

Es wurde das Silbersalz analysiert:

0,2005 g geben 0,4062 g CO₂, 0,1520 g H₂O und 0,0561 g Ag,
entsprechend 55,25% C, 8,48% H und 27,98% Ag.

Berechnet für C₁₈H₃₂O₂ Ag: 55,50% C, 8,54% H, 27,73% Ag.

Molekulargewicht (ebullioskopisch in Eisessig).

2005 g Substanz in 20 ccm Eisessig (bei 16° spez. Gew. 1,0543, Konst. = 25,3) geben eine Erhöhung von 0,085°.

Molekulargewicht daraus berechnet: 283 anstatt 282.

Beim Destillieren unter 30 mm Druck und bei 255 bis 260° geht die Säure über, aber unter veränderten Eigenschaften; das Destillat ist ein Anhydrid. Farblose Flüssigkeit; Schmelzpunkt +13°. Krystallisiert in flachen Nadeln.

Jodzahl: 0,1852 g verbrauchen 11,6 ccm ⁿ/₁₀-Thiosulfat (log T = 0,00669) entsprechend der Jodzahl 80.

Analyse: 0,1464 g geben 0,4250 g CO₂ und 0,1586 g H₂O,
entsprechend 79,17% C und 12,12% H.

Daraus berechnet: C₁₈H_{32,8}O_{1,48},
abgerundet: C₁₈H₃₃O_{1,5} oder C₃₆H₆₆O₃, isomer mit Olsäureanhydrid.

Das Anhydrid ist neutral; es gibt mit Resorcin ein Fluorescin.

10. Der rohe Methylester der Kephalin-säure wurde in Chloroform so lange mit Brom versetzt, bis keine Entfärbung mehr eintrat. Durch Zusatz von Petroläther zu der farblosen Lösung fiel ein Körper aus, der den Schmelzpunkt 178° und folgende Zusammensetzung hatte:

0,1394 g geben 0,2096 g AgBr, entsprechend 64,45% Br,
berechnet für C₁₉H₃₀O₂Br₆ 62,39% Br.

11. Das Oxydationsprodukt der rohen Kephalinssäure nach Falk¹⁾. Schmelzp. 121°. In Nadeln krystallisiert.

0,0907 g geben 0,2282 g CO₂ und 0,0907 g H₂O,
entsprechend 68,62% C und 11,19% H,
berechnet für C₁₈H₂₄O₄ 68,35% C und 10,83% H.

12. Das alkohollösliche Barytsalz aus der Hydrolyse des Kephalins, phosphorfrei. In heißem Alkohol (100 Teile) vollständig löslich, in der Kälte in Körnchen ausfallend. Aus 80 g Kephalin 0,6 g.

0,2866 g geben 0,0933 g BaSO₄.
entsprechend 19,16%.

¹⁾ Diese Zeitschr. 16, 194, 1909.

Zur Kenntnis der Kohlensäurebildung im Organbrei.

Von

Olav Hanssen, Christiania.

(Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut in Straßburg.)

(Eingegangen am 4. Oktober 1909.)

I.

Der Gaswechsel zerkleinerter Organe ist mehrfach Gegenstand der Untersuchung gewesen. Daß frisch entnommene Gewebe auch nach dem Zerkleinern noch Sauerstoff aufnehmen und Kohlenstoff abgeben, ist von P. Bert¹⁾, Gréhant und Quinquaud²⁾ sowie von Tissot³⁾ nachgewiesen. Lussana⁴⁾ zeigte, daß die Oberfläche der zerkleinerten Gewebsmasse einen maßgebenden Einfluß auf die Größe des Gaswechsels ausübt. Battelli und Stern⁵⁾ haben dann in einer Reihe wichtiger Arbeiten die Bedingungen des Gaswechsels eingehender studiert. Um die Sauerstoffaufnahme und die Kohlensäureabgabe vollständiger zu gestalten, bedienten sie sich bei ihren Versuchen einer Schüttelvorrichtung.

Von ihren Ergebnissen seien nachstehende hervorgehoben.⁶⁾

¹⁾ Leçons sur la physiologie de la respiration, Leç. III, IV. 1870.

²⁾ Compt. rend. 106, 1439; Compt. rend. Soc. de Biol. 1890, 29 bis 30.

³⁾ Arch. de physiol. norm. et pathol. 1894, 838; 1895, 469 u. 641.

⁴⁾ Archivio de fisiol. 2, 445. 1905; 3, 113. 1906.

⁵⁾ Compt. rend. Soc. Biol. 60, 1679. 1906; Journal de physiol. et de pathol. générale 9, 1, 34, 227, 410, 737. 1907.

⁶⁾ Die vorliegende Untersuchung wurde im Sommersemester 1908 abgebrochen. Die seitdem erschienenen einschlägigen Arbeiten sind daher nicht berücksichtigt, und sollen bei der zu erwartenden Fortsetzung der Untersuchung ihre Würdigung finden. Dies gilt insbesondere von der Untersuchung F. Lussanas über den Einfluß von Aminosäuren und

Der Gaswechsel der einzelnen Organe zeigt überhaupt große Schwankungen. Er ist unmittelbar nach Entnahme am größten, nimmt dann rasch ab. Das Temperaturoptimum liegt für Organe von Säugetieren und Vögeln bei 40°. Bei Erhöhung auf 48° ist schon starke Abnahme erkennbar, bei noch höheren Temperaturen (z. B. nach 10 Minuten langem Erhitzen auf 75 bis 90°) erlischt die Gewebeatmung ganz. Andererseits geht sie bei Erniedrigung der Temperatur herab, ist aber noch bei 11° deutlich vorhanden.

In reinem Sauerstoff ist der Gaswechsel lebhafter als in Luft. Zusatz von Blut oder Hämoglobinlösung begünstigt ihn viel mehr als Zufügung von Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung. Serum besitzt eine hemmende Wirkung.

Während des einzelnen Versuches ist der Gaswechsel im Anfang am lehaftesten. Die Sauerstoffaufnahme wird auf die Dauer weniger geschädigt als die Kohlensäureabgabe. Zusatz von Wasser und hypotonischer Kochsalzlösung ist von annähernd gleichem Einfluß wie der von isotonischer Kochsalzlösung. Hingegen hemmen hypertonische Lösungen stark.

Bei Verwendung von Blut ist Zusatz von wenig Alkali oder Säure ohne Einfluß; stärkerer Zusatz hemmt. Bei Verwendung von blutfreien Medien erweist sich eine schwach alkalische Flüssigkeit (z. B. 0,5%ige Sodalösung oder eine amphotere Natriumphosphatlösung, 0,8 bis 1,4 g P_2O_5 auf 1 Liter), als günstig.

Von körperfremden Stoffen erniedrigen Chloroform, Äther, Chloral stärker als Alkohol und Aceton. Blausäure und arsenige Säure hemmen schon in sehr niedrigen Konzentrationen, während Arsensäure vergleichsweise wenig wirksam ist.

Frischer Muskelbrei mit Wasser gewaschen und durch Leinen gepreßt gibt einen Rückstand und ein Filtrat, die für sich beide nur geringen Gaswechsel aufweisen. Der ausgewaschene Organbrei (Muskeln, Leber, Niere, Gehirn) kann jedoch durch Zufügung von Extrakt aus Muskeln (besonders Zwerchfell) zu beträchtlicher Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureabgabe angeregt werden.

Polypeptiden auf den Gaswechsel isolierter Gewebe (Archivio di fisiol. 6, 269). Es sei nur im Hinblick auf die von mir zum Schluß mitgeteilte Versuchsreihe erwähnt, daß Lussana in keinem Falle eine Steigerung der Kohlensäurebildung beobachtet hat.

II.

Die nachstehenden auf Anregung von Prof. Hofmeister ausgeführten Untersuchungen hatten ursprünglich die Aufgabe, die Verbrennbarkeit organischer Stoffe durch überlebendes Gewebe zu untersuchen. Als Endziel schwebte uns vor, die unmittelbaren Vorstufen der Kohlensäure zu ermitteln.

Diese Fragestellung ergab sich aus nachstehender Erwägung: Bei dem vitalen Oxydationsvorgang gehen Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureabspaltung nicht einfach parallel. Buttersäure z. B. oxydiert sich zu Oxybuttersäure und Acetessigsäure, ohne daß Kohlensäure abgegeben wird, dann aber zerfällt die Acetessigsäure, ohne daß Sauerstoffaufnahme erfolgt, zu Aceton und Kohlensäure. In dem intermediären Stoffwechsel dürfte die Kombination von Oxydationen, Synthesen und Spaltungen eine überaus wechselnde sein; immer aber erscheint die Kohlensäureabspaltung als letztes Glied einer Reihe von Vorgängen, und die Zahl der Stoffe, die die CO_2 -Gruppe abgeben, muß den übrigen Zwischenstufen gegenüber eine beschränkte sein. Es erschien von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß die unmittelbaren Vorstufen der Kohlensäure in ähnlicher Weise durch Organbrei zu CO_2 -Abspaltung gebracht werden können, wie dies durch L. Pollak¹⁾ für den Zerfall der Acetessigsäure zu Aceton und Kohlensäure nachgewiesen ist.

Es sei von vornherein bemerkt, daß es mir nicht vergönnt war, diese Vorstufen der Kohlensäure auf dem eingeschlagenen Wege sicherzustellen. Dementsprechend haben die nachstehend mitgeteilten Versuche vorwiegend methodisches Interesse.

Im Hinblick auf die gestellte Aufgabe konnte ich mich auf die Bestimmung der im Gewebebrei entstehenden Kohlensäure beschränken. Dabei mußte eine Fehlerquelle vermieden werden, die den bisher ausgeführten Untersuchungen über Gewebsatmung anhaftet. Die Gewebe und das sie durchströmende Blut enthalten vorgebildete Kohlensäure, deren Menge naturgemäß wechselt. Nun tritt, wie bekannt, im überlebenden Gewebe bald Säuerung ein; bei mechanischer Zertrümmerung ist sie, wie im hiesigen Laboratorium wiederholt festgestellt wurde, sehr beträchtlich. Es kommt dabei zu einer Abgabe

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 10, 232.

von mehr oder weniger erheblichen Mengen von Kohlensäure, die von vorgebildeten Carbonaten, nicht aber von den Kohlensäurevorstufen herkommen, und daher das Urteil über die Größe der Kohlensäurebildung unsicher machen.¹⁾

Um diese Fehlerquelle auszuschalten, wurden daher in meinen Versuchen stets Kontrollversuche ausgeführt, in denen der Gehalt vorgebildeter Kohlensäure bestimmt wurde.

Die von mir benutzte Technik unterscheidet sich überdies von jener meiner Vorgänger dadurch, daß ich die Kohlensäure mit Hilfe eines Luftstroms austrieb, in Barytwasser auffing und durch Titration bestimmte.

Vier dickwandige, ca. 500 ccm fassende Kolben, die auf einem Stativ passend befestigt waren, dienten zur Aufnahme des Organbreies und der Zusatzflüssigkeit. Sie tauchten in ein auf 40° erwärmtes geräumiges Wasserbad und wurden durch einen Motor sehr energisch geschüttelt. Als Zusatzflüssigkeit diente, wo nicht ausdrücklich anderes bemerkt ist, physiologische (0,9%ige) Kochsalzlösung in einer Menge von 150 ccm.

Durch die Flaschen wurde in langsamem Strome sorgfältig von Kohlensäure befreite Luft gesaugt; diese ging dann durch Pettenkofer'sche Röhren, die ca. 300 ccm 0,7%ige Barytlösung enthielten. Schütteln und Luftdurchleiten dauerten gewöhnlich 2 Stunden, dann wurde mit Hilfe eines Trichterrohres dem Organbrei portionsweise Säure (gewöhnlich 10%ige Citronensäure) zugesetzt, um die gebundene Kohlensäure auszutreiben, und das Luftdurchsaugen noch 1½ bis 2 Stunden fortgesetzt.

Die verwendeten Organe wurden meist ganz frisch vom nahen Schlachthof bezogen. In einzelnen Versuchen wurden solche eben getöteter Hunde benutzt. Wo nichts anderes bemerkt ist, wurden sie sofort mit der Fleischhackmaschine zerkleinert und kamen in Mengen von 30 bis 100 g zur Verwendung.

Die Barytlösung wurde nach Abschluß des Versuchs in Zylinder überführt und nach dem Absitzen mit Oxalsäure unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator austitriert.

Kontrollversuche mit gewogenen Mengen Natriumcarbonat ergaben, daß die Kohlensäurebestimmung unter den gewählten Bedingungen mit genügender Schärfe erfolgt. Es wurden 98 bis 100% wiedergefunden.

¹⁾ Battelli und Stern haben diese Schwierigkeit erkannt. Sie vermuten, daß die ungewöhnlich hohen Kohlensäurewerte in einigen Versuchen auf diese Fehlerquelle zu beziehen sind. Inwieweit die Genauigkeit ihrer Kohlensäurezahlen und des davon abhängigen Respirationsquotienten durch die Vernachlässigung dieser Fehlerquelle beeinträchtigt wird, läßt sich zunächst nicht zahlenmäßig beurteilen. Das gleiche gilt von den Versuchen Lussanas.

Zur Prüfung der allgemeinen Bedingungen der Kohlensäurebildung wurde eine Reihe von Vorversuchen ausgeführt.

1. Einfluß des Schüttelns. Die Notwendigkeit energischen Schüttelns mit Luft ergab sich sofort aus der Beobachtung, daß bei Unterlassung desselben die Kohlensäurebildung fehlte oder sehr gering blieb.

Tabelle I.

Organ	Gewicht	CO ₂		Differenz	
		im Kontrollversuch ¹⁾	im Hauptversuch		
	g	mg	mg	mg CO ₂	
Ohne Schütteln	Pferdeleber	100	77,9	75,9	- 2,0
	"	100	58,8	59,2	+ 0,4
Mit	" Schweineleber	100	30,3	110,4	+ 80,1
"	"	50	24,0	165,0	+ 141,0
"	" Hundeleber	50	23,4	48,0	+ 24,6

2. Einfluß der Zerkleinerung. Proben desselben Organs in gleichem Gewichte wurden teils mit der Schere, teils mit der Fleischhackmaschine zerkleinert, teils mit Quarzsand in der Reibschale verrieben.

Die Kohlensäurebildung war nach Zerkleinerung mit der Fleischhackmaschine am größten, nach Verreibung mit Quarzsand am geringsten.

Tabelle II.

50 g Schweineleber.

Versuch	Zerkleinert mit		Verrieben mit	
	Schere	Fleischhackmaschine	Quarzsand	Quarzsand u. Magnesia
Versuch 1: CO ₂ mg	100,8	168	71,4	—
" 2: " "	54,6	76,2	47,8	—
" 3: " "	—	132,0	76,0	—
" 4: " "	—	76,2	47,8	53,7

Aus diesem Ergebnis läßt sich jedoch nicht schließen, daß die Kohlensäurebildung durch das Intaktsein der Zellen bedingt ist, denn die Zermalmung führt rasch zur Säurebildung, die hemmend wirken kann. Indes wurde in einem Versuch (4) durch Magnesiazusatz die Herabsetzung nicht vermieden.

In einem gelegentlichen Versuche ergab der Preßsaft der Leber (mit Buchners Presse gewonnen) nur sehr geringe Kohlensäurebildung.

¹⁾ Bestimmung der vorgebildeten CO₂ in einer möglichst gleichen Parallelprobe, der gleich im Beginn Säure zugesetzt wird.

3. Einfluß von Säuren, Alkalien und Giften. Gegenüber freiem Alkali und freier Mineralsäure erwies sich das Lebergewebe als sehr empfindlich. Von Giften hob ein Zusatz von 2^o/_o Phenol die CO₂-Bildung nahezu auf, während 1^o/_o Saponin, 1^o/_o Sublimat, 2^o/_o Chininchlorhydrat und Äther nur eine Herabsetzung hervorbrachten. Zusatz von 1^o/_o Morphin zu Gehirnbrei war ohne erkennbare Wirkung.

Tabelle III.

Vers.-Nr.	Organ	Ge- wicht g	Zusatz	Kontroll- versuch mg CO ₂	Haupt- versuch mg CO ₂	Differenz mg CO ₂
1.	Schweineleber	40	0,9 ^o / _o NaCl	34,8	76,8	+ 42,0
		40	ⁿ / ₁₀ -NaOH	—	35,6	+ 1,2
		40	ⁿ / ₂₀ -NaOH	—	35,2	+ 0,4
2.	„	40	0,9 ^o / _o NaCl	14,5	40,5	+ 26,0
		40	ⁿ / ₅ -NH ₃	—	16,0	+ 1,5
		40	ⁿ / ₁₀ -NH ₃	—	14,5	0,0
3.	„	40	0,9 ^o / _o NaCl	22	60	+ 38
		40	ⁿ / ₂₀ -H ₂ SO ₄	—	36	+ 14

Tabelle IV.

Vers.-Nr.	Organ	Ge- wicht g	Zusatz	Kontroll- versuch mg CO ₂	Haupt- versuch mg CO ₂	Differenz mg CO ₂
1.	Schweineleber	50	0,9 NaCl	25	176,5	+ 151,5
		50	0,1 ^o / _o Saponin	—	150,5	+ 135,5
		50	2 ^o / _o Phenol	—	41	+ 19
2.	„	50	0,9 NaCl	39	96,6	+ 57,6
		50	0,1 ^o / _o HgCl ₂	—	69	+ 30,0
		50	Ätherwasser	—	66	+ 27,0
3.	„	50	0,9 NaCl	45,6	68,5	+ 22,9
		50	0,2 ^o / _o ChininHCl	—	60,6	+ 15,0
		50	0,1 ^o / _o „ „	—	67,2	+ 21,6

4. Einfluß der Aufbewahrung. Im Eisschrank gehaltene Organe behielten ihre Fähigkeit, Kohlensäure zu bilden, überraschend lange; doch war eine Abschwächung unverkennbar.

Tabelle V.

Vers.-Nr.	Zeit der Unter- suchung nach Entnahme	Organ	Ge- wicht g	Kontroll- versuch mg CO ₂	Haupt- versuch mg CO ₂	Differenz mg CO ₂
1.	sofort	Schweineleber	40	31,8	63,0	+ 31,2
	nach 1 Tag	„	40	30,0	64,5	+ 34,5
	nach 3 Tagen	„	40	20,8	49,0	+ 28,2
2.	sofort	Schweinsgehirn	50	21,0	100,5	+ 79,5
	nach 4 Tagen	„	50	46,0	108,0	+ 62,0

Bei der von mir gewählten Versuchsanordnung (Körpertemperatur und reichliche Luftzufuhr) nimmt die Kohlensäurebildung während des Versuches rasch ab, wie aus folgendem Versuche hervorgeht, wo die Menge der abgegebenen Kohlensäure in mehreren Zeitabschnitten bestimmt wurde.

70 g zerkleinerte Schweineleber im Wasserbad bei 40° geschüttelt, gab ab:

in der ersten halben Stunde	49,8 mg CO ₂
„ „ zweiten „ „	31,6 „ „
„ „ dritten „ „	22,8 „ „
„ „ vierten „ „	19,8 „ „
„ einer weiteren Stunde	24,6 „ „
„ zwei „ Stunden	18,6 „ „
Kontrollversuch (Zusatz von Säure im Beginn des Versuches)	12,0 „ „

Faßt man die Ergebnisse meiner Versuche zusammen, so ergibt sich, daß die Kohlensäurebildung in den Organen, wie auch Battelli und Stern gefunden haben, sehr bedeutende Schwankungen aufweist.

Berechnet man die bei Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung erhaltene Kohlensäure nach Abzug der im Kontrollversuch ermittelten präformierten auf 100 g Organ pro Stunde, so ergibt sich folgendes:

Tierart	Organ	pro Stunde mg CO ₂
Schwein	Leber	57,6
„	„	151,5
„	„	68,7
„	„	141,6
„	„	95,6
„	„	133,0
„	„	52,5
„	„	38,0
„	„	126,0
„	„	46,5
„	Milz	51,0
„	Lunge	62,5
„	Muskel	148,0
„	Gehirn	79,5
Katze	Dünndarm	21,0

Die erhaltenen Kohlensäuremengen sind erheblich niedriger als die von Battelli und Stern (bei Anwendung von Blut als Zusatzflüssigkeit) erhaltenen, aber auch niedriger als die

Werte, welche die Genannten bei Verwendung von Kochsalzlösung erhielten. Sie fanden für 100 g Leber, Gehirn, Niere, Lunge bei Anwendung von physiologischer Kochsalzlösung eine Abgabe von 58,2 ccm = ca. 114 mg. Dieser Unterschied dürfte sich daraus erklären, daß Battelli und Stern die präformierte Kohlensäuremenge nicht bestimmen und daß durch die post-mortale Säuerung während des Versuches ein nicht unbeträchtlicher Teil dieses präformierten Anteils freigemacht wird.

Da ein erheblicher Teil meiner Versuche mit Leber an gestellt ist, so sei bemerkt, daß der Glykogengehalt der Leber anscheinend keinen Einfluß auf die Menge der abgespaltenen Kohlensäure ausübt. Die Leber eines Hundes, der 8 Tage gefastet hatte, sowie die eines Hundes nach Phloridzinzufuhr, bei dem Glykosurie und „Acetonurie“ eingetreten war, zeigten keine verminderte Kohlensäurebildung.

III.

Die mitgeteilten Versuche beweisen, daß der Organbrei Substanzen enthält, die unter den eingehaltenen Bedingungen ganz zu Kohlensäure oxydiert werden oder doch CO_2 abspalten. Um die Natur dieser Vorstufen der Kohlensäure aufzuklären, habe ich eine Anzahl leicht verbrennlicher Verbindungen der Fettreihe zu frischem Leberbrei gebracht in der Hoffnung, durch diesen Zusatz die Kohlensäurebildung zu steigern.

Die nebenstehende Tabelle gibt einen Überblick über meine Ergebnisse.

Da nach meinen Erfahrungen wegen der Ungleichheit des Organmaterials Differenzen zwischen 2 Parallelproben bis zu 10 mg CO_2 auch bei Einhaltung möglichst gleicher Bedingungen nicht ganz sicher zu vermeiden sind, so können jene Substanzen, die zu keiner größeren Differenz in der Kohlensäurebildung führten, nicht als unmittelbare Kohlensäurebildner angesehen werden. Dahin gehören Versuch 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 19, 20, 21.

Ob dem geringen Plus beim Natriumlactat (Vers. 3 und 4) Gewicht beizulegen ist, muß offen bleiben. Hingegen war in Vers. 12 β -oxybuttersaures Natron ausgesprochen wirksam, und ich kann dieses Ergebnis trotz anderweitiger negativer Kontrollversuche (Vers. 14 und 15) nicht für zufällig ansehen, weil die-

selbe Leber 24 Stunden später (Vers. 13) immer noch eine ausgesprochene CO₂-Bildung aus dem gleichen Salze bewirkte.

Nummer	Zugesetzte Substanz	g	Organ	g	Zusatz- flüssigkeit	Kontrollversuch	Hauptversuch	Hauptversuch	Diffe- renz
						mg CO ₂	ohne Zusatz	mit Zusatz	
						mg CO ₂	mg CO ₂	mg CO ₂	mg CO ₂
1	Glyoxylsaures Ammon	0,20	Schweineleber	40	Phys. NaCl-Lösung	30	64,5	62	- 2,5
2	Glykokoll	0,205	"	50	"	—	92,4	96,6	+ 4,2
3	Milchsaures Natron	0,40	"	75	Blut +	—	121,8	133,3	+ 11,5
4	"	0,40	Hundeleber	60	phys. NaCl-Lösung	—	166,2	177,0	+ 10,8
5	" Ammon	0,27	Schweineleber	40	Phys. NaCl-Lösung	31,8	63	66,6	+ 3,6
6	" Natron	0,25	"	40	"	31,8	63	63,6	+ 0,6
7	" Ammon	0,308	"	40	"	25,8	63	58,2	- 4,8
8	Glykols. Natron	0,2975	"	50	"	24	165,6	95,4	- 70,2
9	" Ammon	0,20	"	40	"	25,2	101,7	99,6	- 2,1
10	"	0,20	"	30	"	21	77	70,8	- 1,2
11	Brenztraubens. Natron	0,28	"	100	"	—	216	224	+ 8,0
12	β-oxybutters. Natron (inaktiv)	0,245	"	40	"	33,6	88,5	122,4	+ 33,9
13	"	0,259	"	40	"	—	83,2	105	+ 21,8
14	" Ammon	0,218	"	40	"	45	74,4	73,2	- 1,2
15	"	0,198	Hundeleber	30	"	21	72	71,4	- 0,6
16	Isovalerians. Ammon	0,3048	Schweineleber	40	"	24,6	130,8	83,2	- 47,6
17	"	0,23	"	40	"	30,3	131,7	89,1	- 42,6
18	"	0,36	"	40	"	30,3	131,7	78,9	- 52,8
19	"	0,195	"	40	"	25,8	63	62,4	- 0,6
20	Glutamins. Ammon	0,212	"	40	"	35,4	66,9	66,9	- 0,0
21	"	0,3725	"	40	"	34,0	66,0	65,4	- 0,6
22	Malons. Natron	0,30	Rindsleber	100	Blut + phys. NaCl-Lösung	—	205,8	192,6	- 13,2

Auf der anderen Seite zeigen einzelne Verbindungen ausgesprochen hemmende Wirkung, so das Natronsalz der Malonsäure und Glycolsäure (Vers. 8 und 22) und das Ammonsalz der Isovaleriansäure (Vers. 16 bis 18).

Daß die Glyoxylsäure, die erfahrungsgemäß im Gewebeprei rasch verschwindet, keine Steigerung der Kohlensäureabgabe bewirkt, bestätigt die Anschauung Granstroems¹⁾, daß dieses Verschwinden nicht durch Oxydation bedingt ist.

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 132.

Über den Kalkgehalt der Frauenmilch.

Von

Dr. med. Hunaeus.

(Aus der Akademischen Klinik für Kinderheilkunde zu Düsseldorf.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1909.)

Die Frage nach der Aetiologie der Rachitis und ihren Beziehungen zum Kalkstoffwechsel bildet noch immer den Gegenstand lebhaftester Erörterungen. Gerade das Vorkommen rachitischer Veränderungen bei Brustkindern hat neuerdings wieder einige Autoren veranlaßt, in ihren Publikationen der Vermutung Raum zu geben, daß der als „Rachitis“ bezeichnete Knochenprozeß sich auf Basis eines mangelnden Kalkgehaltes der Nahrung entwickeln könne. Da es für den Pädiater, der in der Muttermilch das vollkommenste und beste Nahrungsmittel für den Säugling zu sehen gewohnt ist, etwas Befremdliches hat, diese als *causa peccans* beschuldigt zu sehen, habe ich, unterstützt von Herrn Dr. Engel in Düsseldorf, versucht, über den Kalkgehalt der Frauenmilch nähere Aufschlüsse zu verschaffen, da die zurzeit vorliegenden Analysen nur gering an Zahl sind und mir infolgedessen eine genügende Unterlage zur Beurteilung dieser Frage nicht zu bieten schienen.

Methodik.

Die quantitative Bestimmung des Calciums der Milch erfolgte in der Weise, daß nach vorausgegangener Zerstörung der organischen Stoffe durch vorsichtige Veraschung das Calcium in essigsaurer Lösung als Oxalat gefällt und die an Kalk gebundene Oxalsäure durch Titration mit Kaliumpermanganat bestimmt wurde.

Selbstredend wurden nur die Resultate gut stimmender Doppelanalysen verwertet.

Mit Rücksicht auf die wechselnde Zusammensetzung der Frauenmilch in den verschiedenen Phasen der Brustentleerung innerhalb eines Tages war es zunächst nötig zu prüfen, ob die bei der Fettanalyse gültigen strengen Gesetze für die Gewinnung der Milchproben auch bei der Erlangung von Milchproben für Kalkanalysen befolgt werden müssen.

Daher wurde geprüft, ob

- a) Unterschiede in der Anfangs- und Endmilch,
- b) Unterschiede in der Morgen- und Abendmilch bezüglich des Kalkgehaltes bestehen.

Tabelle I.

Prozentualer Kalkgehalt der Anfangs- und Endmilch von 6 Ammen bei einer Brustentleerung.

Nationale	Anfangsmilch	Endmilch
Amme K., 22 J., I para	0,0465	0,0471
Amme N., 19 $\frac{1}{2}$ J., I para	0,0450	0,0446
Amme v. G., 19 J., I para	0,0406	0,0389
Amme Fr., 21 J., I para	0,0460	0,0424
Amme Kl., 21 J., I para	0,0381	0,0345
Amme Ko., 22 J., I para	0,0460	0,0450

Tabelle II.

Prozentualer Kalkgehalt der Morgen- und Abendmilch von 5 Ammen.

Nationale	Morgenmilch	Abendmilch
Amme Kl., 21 J., I para	0,0382	0,0365
Amme v. G., 19 J., I para	0,0351	0,0366
Amme Fr., 21 J., I para	0,0433	0,0446
Amme Gr., 21 $\frac{1}{2}$ J., I para	0,0426	0,0421
Amme K., 22 J., I para	0,0460	0,0460

Ein Blick auf die Tabellen läßt klar erkennen, daß zwischen Anfangs- und Endmilch einer Mahlzeit gesetzmäßige Unterschiede bestehen insofern, als der Kalkgehalt der Anfangsmilch einen höheren CaO-Wert aufweist als der der Endmilch. Bei der Sekretion des Fettes ist es bekanntlich gerade umgekehrt. Ob sich die erstere Tatsache nun dadurch erklärt, daß im Beginn der Brustentleerung die Drüse viel Plasma und wenig Fett, am Ende derselben weniger Plasma und dafür reichlicher Fett

sezerniert, oder ob, wie Engel¹⁾ andeutet, bei sehr starker Fettsekretion die Absonderung der übrigen Milchbestandteile leiden kann, lasse ich dahingestellt.

Auch bei der Morgen- und Abendmilch zeigten sich geringe, wenn auch nicht gesetzmäßige Differenzen. Jedenfalls wurde, da sich Unterschiede zwischen Anfangs- und Endmilch sowie Morgen- und Abendmilch ergeben hatten, für meine Untersuchungen die Mischmilch wie bei der Fettbestimmung gesammelt — gleiche Portionen von jeder Brust vor und nach dem Anlegen bei jeder Mahlzeit —, um so eine gleichmäßige Milchmischung zu erzielen. Durch die Analysen der Tagesmischmilch wurden die folgenden Fragen bearbeitet:

1. Existieren individuelle Unterschiede des Kalkgehaltes der Milch?
2. Ist der Kalkgehalt bei derselben Frau ein konstanter?
3. Verändert sich der Kalkgehalt bei derselben Frau innerhalb der Lactation?

Tabelle III.

Prozentualer Kalkgehalt der Milch von 12 Ammen im 1. Lactationsmonat.

Nationale		CaO
Amme E., 22 J., J.-Nr. 1136, I para	12 Tage post partum	0,0333
Amme A., 20 J., J.-Nr. 1025, I para	13 „ „ „	0,0366
Amme Ko., 22 J., J.-Nr. 1238, I para	13 „ „ „	0,0383
Amme K., 22 J., J.-Nr. 1000, I para	30 „ „ „	0,0414
Amme Kr., 24 J., J.-Nr. 1183, I para	10 „ „ „	0,0416
Amme H., 25 J., J.-Nr. 1042, I para	26 „ „ „	0,0441
Amme F., 19 J., J.-Nr. 1185, I para	14 „ „ „	0,0471
Amme N., 22 ¹ / ₂ J., J.-Nr. 1102, I para	25 „ „ „	0,0474
Amme v. G., 19 J., J.-Nr. 1102, I para	23 „ „ „	0,0475
Amme N., 19 ¹ / ₂ J., J.-Nr. 1201, I para	22 „ „ „	0,0482
Amme W., 21 J., J.-Nr. 1199, II para	21 „ „ „	0,0508
Amme K., 22 J., I para	14 „ „ „	0,0518

In der vorstehenden Tabelle habe ich zur Beleuchtung der ersten Frage nur Milchen aus dem ersten Lactationsmonat zusammengestellt, weil sich mir im Laufe der Untersuchungen ergab, daß die individuellen Schwankungen während der Lactation immer gleich bleiben und weil ich aus dem ersten Monat über die größte Zahl von Analysen verfüge. Differenzen sind

¹⁾ Engel, Milchwirtschaftliches Centralblatt 1907, Heft 9, S. 4.

vorhanden und zwar sind sie so groß, daß die Werte von der Amme mit dem niedrigsten CaO-Gehalt und der mit dem höchsten — 0,0333 und 0,0518 — um 0,0185, d. i. 34,7% des Höchstwertes, differieren. Besonders wichtig erscheint mir der Hinweis darauf, daß die drei zuerst angeführten Ammen einen Kalkgehalt haben, der beträchtlich unter dem Mittelwert — 0,0440 — steht, und daß es unter Berücksichtigung der großen individuellen Konstanz des Kalkgehaltes der Milch — siehe Tabelle IV a und b — ziemlich sicher scheint, daß diese Frauen auch im weiteren Verlaufe der Lactation eine kalkarme Milch produzieren. Somit wäre die Tatsache gesichert, daß es Frauen mit kalkarmer und solche mit kalkreicher Milch gibt. Hiermit eröffnet sich die Möglichkeit, daß auch die Entwicklung der Kinder hierdurch beeinflusst werden könnte.

Die Beantwortung der zweiten Frage ergibt sich aus den Tabellen IV a und IV b, die an der Gleichheit der Kalkwerte bei derselben Frau an mehreren aufeinander folgenden Tagen deutlich die große Konstanz des Milchkalkes innerhalb kleinerer Zeitabschnitte erkennen lassen — die Differenzen bewegen sich nur in Bruchteilen von Milligrammen — eine Tatsache, auf der fußend wir experimentell den Einfluß irgendwelcher Umstände auf den Kalkgehalt der Milch prüfen und beobachten können.

Tabelle IVa.
Amme Keiter.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
30. Juni 09	1395	4	0,0407
1. Juli 09	1505	4,5	0,0403
2. "	1695	4,5	0,0406
3. "	1550	4,3	0,0408
4. "	1710	4,4	0,0405
5. "	1740	5	0,0404
6. "	1500	4,3	0,0402

Tabelle IVb.
Amme Klein. J.-Nr. 1044. 21 J. alt.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
6. August 09	2115	3,5	0,0363
7. "	2500	3,7	0,0367
8. "	2050	3,4	0,0363

Diese individuelle Konstanz hält während der ganzen Lactation an, nur daß sich mit dem Fortschreiten derselben eine langsame, nicht sehr beträchtliche Abnahme des Kalkgehaltes konstatieren läßt. Eine Verschiedenheit in dem Maße der Kalkverminderung bei kalkreichen und kalkarmen Ammen, vielleicht in dem Sinne, daß bei den ersteren eine gesteigerte, bei den letzteren eine solche mäßigeren Grades erfolgte, läßt sich aus den vorliegenden Befunden nicht ersehen. Höchstens bei der Amme Kl. (Tabelle V), die einen niederen Kalkgehalt der Milch hat, könnte man ein langsames Sinken des Kalkwertes konstatieren,

Tabelle V.

Prozentualer Kalkgehalt der Frauenmilch bei 7 Ammen im Ablauf der Lactation.

Nationale	Lactations- monat	CaO-Gehalt %	Differenz mg
Amme N., 19 $\frac{1}{2}$ J., J.-Nr. 1201	1.	0,0482	
	2.	0,0466	1,6
Amme Fr., 21 J., J.-Nr. 1208	2.	0,0444	
	3.	0,0432	1,2
Amme v. G., 19 J., J.-Nr. 1102	1.	0,0475	
	3.	0,0410	6,5
	4.	0,0381	3,1
Amme K., 22 J., J.-Nr. 1078	1.	0,0518	
	3.	0,0486	3,2
	4.	0,0465	2,1
Amme K., 20 J., J.-Nr. 906	4.	0,0425	
	5.	0,0402	2,3
	6.	0,0378	2,4
Amme Kl., 21 J., J.-Nr. 1044	3.	0,0379	
	5.	0,0372	0,7
	7.	0,0367	0,5
Amme Gr., 21 $\frac{1}{2}$ J., J.-Nr. 725	7.	0,0452	
	10.	0,0423	2,9

Wenn ich in Kürze die Ergebnisse der vorliegenden Analysen zusammenfasse, so ergibt sich, daß im Kalkgehalt der Frauenmilch erstens starke individuelle Verschiedenheiten vorkommen, daß zweitens bei jeder einzelnen Frau der Milchkalk eine sehr konstante Größe hat. Es gibt kalkreiche und kalkarme Milchen. Ferner zeigt sich, daß im Laufe der Lactation eine mäßige Abnahme des Kalkgehaltes erfolgt. Betont muß jedoch werden, daß die individuellen Differenzen bei weitem am größten sind. Hierin dürfte auch die klinische Bedeutung

des ganzen Problems liegen, insofern als die Möglichkeit einer pathologischen Entwicklung der Kinder von kalkarmen Frauen nicht ausgeschlossen erscheint. Das letzte Wort in dieser Frage wird jedoch die Klinik zu sprechen haben, und wir werden darum bestrebt sein, auch die fraglichen Kinder weiterhin zu beobachten.

Fütterungsversuche.

Nachdem sich ergeben hatte, daß man in einer Reihe aufeinander folgender Tage fast total übereinstimmende Werte für den Milchkalk erhält, war die Möglichkeit gegeben, Fütterungsversuche zu machen. Denn nun ist es statthaft, Ausschläge auch geringeren Grades mit Sicherheit auf die einwirkenden Einflüsse zu beziehen.

Angeregt durch die Versuche Dibbelts, durch Kalkzufütterung in Form anorganischer oder organischer Kalkpräparate eine Erhöhung des Kalkgehaltes der Frauenmilch zu erzielen, gab ich einzelnen Ammen Kalk in Form von Calcium phosphoricum und Calcium lacticum in der Menge, daß genau 1 g CaO pro die dem Organismus zugeführt wurde.

Im Vorversuch wurde der CaO-Gehalt der Tagesmischmilch erst einige Tage bei gewöhnlicher Kost bestimmt und dann das Kalkpräparat gegeben. Gleichzeitig wurden die während des Tages gelieferten Milchmengen und der Fettgehalt der Mischmilch der betr. Amme genau registriert, um ein Urteil über diese beiden Faktoren und ihren eventuellen Zusammenhang mit der uns speziell beschäftigenden Frage zu gewinnen.

Tabelle VI.

Kalkfütterungsversuch mit phosphorsaurem Kalk an der Amme Keiter.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
30. Juni 09	1395	4	0,0407
1. Juli	1505	4,5	0,0403
2. "	1695	4,5	0,0406
3. "	1550	4,3	0,0408
4. "	1710	4,4	0,0405
5. "	1740	5	0,0404
6. "	1500	4,3	0,0402

Vom 7. Juli an tägl. 3 g Calcium phosphoricum in Himbeerlimonade.

Tabelle VI (Fortsetzung.)

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
15. Juli	1780	5	0,0359
16. „	1940	5,4	0,0357
17. „	1760	5	0,0354
18. „	1720	5	0,0366
Am 18. Juli versehentlich kein Kalk gegeben!			
19. Juli	1635	4,8	0,0384
20. „	1430	5	0,0375
21. „	1395	4,5	0,0375
22. „	1690	4,8	0,0378

Versuch 1. Amme Keiter. 20 J. I para im 6. Lactationsmonat.

Tabelle VII.

Kalkfütterungsversuch mit phosphorsaurem Kalk an der Amme Klein.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
6. August 09	2115	3,5	0,0363
7. „	2500	3,7	0,0367
8. „	2050	3,4	0,0363
Vom 9. Aug. ab tägl. Beigabe von 3 g Calc. phosphoric.			
10. August	2215	3,5	0,0363
11. „	2030	3,4	0,0365
12. „	2200	3,4	0,0365
13. „	2060	3,0	0,0368
14. „	2230	3,3	0,0385

Versuch 2. Amme Klein. 21 J. I para im 5. Lactationsmonat.

Tabelle VIII.

Kalkfütterungsversuch mit Calcium lacticum an der Amme Koch.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
21. August 09	2270	4,6	0,0486
22. „	2175	4,4	0,0487
23. „	2090	4,4	0,0482
Seit 23. August mittags tägl. 5,5 g Calc. lactic. in Himbeerlimonade.			
24. August	2110	4,5	0,0485
25. „	2015	5,3	0,0474
2. Septbr.	2090	4,2	0,0471
10. „	2055	4,6	0,0465

Versuch 3. Amme Koch. 22 J. I para Ende des 3. Lactationsmonats.

Tabelle IX.

Kalkfütterungsversuch mit Calcium lacticum an der Amme Klein.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
26. August 09	2495	4,1	0,0387
27. „	2360	4,1	0,0374
Vom 28. August morgens 5,5 g Calc. lactic. in $\frac{1}{4}$ l Milch.			
29. August	2390	3,5	0,0377
30. „	2260	3,8	0,0377
31. „	2560	3,7	0,0374
4. Septbr. (nach 8 Tagen)	1695	3,5	0,0365

Versuch 4. Amme Klein. 21 J. I para im Beginn des 6. Lactationsmonats.

Die Versuche mit Zufütterung von organischen und anorganischen Kalksalzen haben, wie aus den vorstehenden Tabellen VI bis IX ersichtlich, keine größeren Ausschläge ergeben. Diese waren auch von vornherein kaum zu erwarten, da die mit der gewöhnlichen Kost zugeführten Kalkmengen den CaO-Bedarf stets überschreiten, besonders bei Individuen, die wie die Ammen unserer Klinik täglich mehrere Liter Milch — der kalkreichsten Nahrung, die wir kennen — zu sich nehmen.

Auffällig ist sogar, daß in den Fällen, wo der Kalkgehalt der Milch sich änderte (bes. Tabelle VI), es meist im Sinne einer Abnahme war. Im Falle der Amme Keiter war diese Verminderung offenbar größer, als der physiologischen Lactationsabnahme entspricht.

Es wurde weiter der Versuch gemacht, durch Änderung der Lösungsverhältnisse im Darm, durch Zufügung von Salzsäure in größeren Dosen auf die Resorption und Ausscheidung des Kalkes Einfluß auszuüben. Wir gaben einer Amme (v. G.) 7 Tage lang täglich 1 g Acidum hydrochloricum pro die, welche in 3 Gläser Himbeerlimonade verteilt, gern genommen wurde, und beobachteten, daß der am 3. September 09 0,0410 CaO betragende Kalkgehalt am 10. September auf 0,0360 CaO gesunken war.

Dieser eine Versuch gestattet keine besondere Deutung.

Besonders wichtig schien uns ein letzter Versuch mit Entziehung des Kalkes in der Nahrung, weil erfahrungsgemäß von allen alimentären Einflüssen der der Unterernährung die sicherste Einwirkung auf die Zusammensetzung der Milch gibt.

Wir entzogen auf die Dauer von 8 Tagen einer Amme, die nachweislich außer der gewöhnlichen gemischten Kost täglich etwa 3 bis 3 $\frac{1}{3}$ l Milch zu sich nahm, die Kuhmilch gänzlich und suchten durch tägliche regelmäßige Kalkbestimmungen in der Mischmilch, eventuelle Ausschläge festzustellen. Auch dieser Versuch gab aber ein negatives Resultat. Der Kalkgehalt der Milch nahm nicht ab.

Tabelle X.

Kalkentziehungsversuch an der Amme v. G.

Datum	Tagesmilchmenge ccm	Fett %	CaO-Gehalt %
26. Septbr. 09	2240	3,7	0,0378
Vom 27. September ab wird Kuhmilch entzogen und statt dessen Himbeerlimonade als Getränk gegeben.			
27. Septbr.	2105	3,9	0,0376
28. "	2140	3,9	0,0377
29. "	2240	4,3	0,0377
30. "	2170	4,1	0,0376
1. Oktbr. }			

Als Gesamtresümee ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen, daß der individuelle Kalkgehalt so konstant und zäh von jeder Frau festgehalten wird, daß Fütterungsversuche keine nennenswerten Einflüsse ausüben können.

Wir zweifeln nicht, daß bei hochgradiger Unterernährung auch der Kalkgehalt ebenso leiden kann wie auch sonst die Qualität und Quantität der Milch. Befunde an solchen schlecht genährten Individuen liegen noch nicht vor.

Literatur.

Aron und Sebauer, Untersuchungen über die Bedeutung der Kalksalze für den wachsenden Organismus. Diese Zeitschr. 8, 1, 1908.

Aron, Kalkbedarf und Kalkaufnahme beim Säugling und die Bedeutung des Kalkes für die Ätiologie der Rachitis. Diese Zeitschr. 12, 28, 1908.

Birk, Untersuchungen über den Einfluß des Phosphorlebertrans auf den Mineralstoffwechsel gesunder und rachitischer Säuglinge. Monatsschr. f. Kinderheilk. 7, Nr. 8, 1908.

Czerny und Keller, Des Kindes Ernährung. Handbuch, Teil I.

Dibbelt, Die Pathogenese der Rachitis. Arbeiten auf dem Gebiete der pathol. Anatomie und Bakteriologie aus dem pathol.-anatom. Institut zu Tübingen 6, Heft 3, 1908.

Engel, Die Frauenmilch aus dem „Handbuch der Milchkunde“ von Sommerfeld. Wiesbaden 1909.

L. F. Meyer, Ernährungsstörungen und Salzstoffwechsel beim Säugling in „Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde 1“.

—, Mineralstoffwechsel im frühen Kindesalter. Medizin. Klinik 1909, Nr. 16.

Kassowitz, Rachitis. Jahrb. f. Kinderheilk. 69, Heft 3.

Orgler, Bemerkungen zur Arbeit von Aron und Sebauer. Diese Zeitschr. 10, 236, 1908.

Pfeiffer, Die Zusammensetzung der menschlichen Milch bei Rachitis der Säuglinge. Jahrb. f. Kinderheilk. 24.

Schloßmann, Zur Frage der natürlichen Säuglingsernährung. Arch. f. Kinderheilk. 30.

Schabad, Die Behandlung der Rachitis mit Lebertran, Phosphor und Kalk. Zeitschr. f. klin. Med. 68, Heft 1 u. 2.

—, Der Kalk in der Pathologie der Rachitis. Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 18.

Stöltzner, Die Stellung des Kalces in der Pathologie der Rachitis. Jahrb. f. Kinderheilk. 50.

—, „Rachitis“ im Pfaundler-Schloßmannschen Handbuch der Kinderheilkunde.

Wieland, Über sogenannte angeborene und über frühzeitig erworbene Rachitis. Jahrb. f. Kinderheilk. 67, Heft 4.

—, Klinische Untersuchungen über Frührachitis. Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 36.

Versuche über Fütterung mit lipoidfreier Nahrung.

Von

Wilhelm Stepp, Gießen.

(Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut in Straßburg.)

(Eingegangen am 6. Oktober 1909.)

I.

Trotz der stetig wachsenden Erkenntnis der biologischen Bedeutung der Zellipoide¹⁾ ist das Problem, ob der Tierkörper diese Stoffe selbst bildet oder die Fähigkeit dieser Synthese der Pflanze allein zukommt, experimentell noch kaum in Angriff genommen worden.

Die Methodik für die Lösung dieser Frage ist vorgezeichnet durch den Weg, auf welchem man sich über die Unentbehrlichkeit anderer Bestandteile der Nahrung, z. B. der Salze, des Eiweißes und seiner Spaltungsprodukte Aufschluß zu verschaffen suchte. Auf dem Wege des Fütterungsversuches mußte sich entscheiden lassen, ob ein Tier mit einer lipoidfreien Nahrung am Leben erhalten werden kann oder nicht.

Für die Herstellung einer lipoidfreien Nahrung gab es zwei Möglichkeiten. Einmal konnte man eine solche aus reinen Nahrungsstoffen und Salzen künstlich zusammensetzen, was jedoch seine schwerwiegenden Bedenken hat. Da wir nämlich keineswegs alle für die Erhaltung des Lebens notwendigen Stoffe kennen, so hätte, im Falle sich die Nahrung als ungenügend erwies, immer noch die Möglichkeit vorgelegen, daß nicht der Mangel an Lipiden, sondern an einer andern unbekanntem Substanz den Tod der Tiere veranlaßt hatte. Weit übersichtlicher mußten die Verhältnisse liegen, wenn man von einer Nahrung

¹⁾ Mangels einer exakten Definition sei bemerkt, daß im nachfolgenden unter Lipiden die durch Alkohol, Ather, Chloroform extrahierbaren Zellbestandteile unter Ausschluß der Fette, also hauptsächlich Cholesterine, Lecithine und Cerebroside zu verstehen sind.

ausging, die erfahrungsgemäß zureichend, aber vorher von Lipoiden befreit war. Bei den besonderen physikalischen Eigenschaften der Lipide, d. h. ihrer relativ leichten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Äther usw. bot es keine Schwierigkeiten, ein zu derartigen Fütterungsversuchen durchaus geeignetes Futter zu bereiten.

Bei Benützung der Extraktionsmethode für die Herstellung einer lipoidfreien Nahrung war zu bedenken, daß gleichzeitig mit den Lipoiden auch die Glyceride der Fettsäuren in Lösung gehen würden, und daß somit eine mit Alkohol und Äther erschöpfte Nahrung auch vollkommen fettfrei ist.

Einwandfreie Fütterungsversuche mit vollkommen fettfreier Nahrung konnte ich außer denen von Lummert¹⁾ in der Literatur nicht finden.

Lummert wollte die Frage entscheiden, ob man mit vollkommen fettfreier Nahrung Fettmast erzielen könnte. Interesse für unsere Frage beanspruchten nur seine Fütterungsversuche an Enten. Die beiden Versuchstiere wurden durch Hungern bzw. Fütterung mit geringen Futtermengen erheblich in ihrem Gewicht reduziert (Tier I von 2150 auf 1490 g), dann wurden sie mit durch Äther entfettetem Schrotmehl und Reisstärke, das eine Tier außerdem noch mit Casein und Fruchtzucker ernährt. Geschlachtet wurden sie, „als keine weitere Gewichtszunahme mehr eintrat“. Das war bei dem einen Tier, bei dem während der Fütterung noch einmal eine 5tägige Hungerperiode eingeschaltet war, nach 21, bei dem andern nach 24 Tagen der Fall. Das eine Tier hatte sein Anfangsgewicht um diese Zeit wieder erreicht, das andere nicht. Fettmast war trotz reichlichster Fütterung bei keinem der beiden Tiere zu erzielen gewesen.

Wie man sieht, liegen hier Versuche vor, bei denen aus der Nahrung wohl mit dem Fett gleichzeitig die Hauptmenge der Lipide extrahiert worden war.

An dieser Stelle möge noch einer Reihe von Fütterungsversuchen mit zum Teil künstlich zusammengesetzter Nahrung gedacht werden, in denen möglicherweise die Lipide wenigstens zum Teil gefehlt haben. Hierher gehören die Luninschen²⁾ Versuche, in denen sich eine Mischung von Casein, Fett, Zucker und Salzen als unzureichend erwies, Mäuse am Leben zu erhalten. Ferner fütterten Falta und Noeggerath³⁾ Ratten

¹⁾ Lummert, Pflügers Archiv 71, 1898.

²⁾ Lunin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 1881.

³⁾ Falta und Noeggerath, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 1906.

mit verschiedenen Nahrungsgemischen, welche bestanden aus je einem der nachstehenden Eiweißkörper (Ovalbumin. puriss. pulv., Casein puriss. [Hammarsten], Albumin aus Blut, Fibrin. pulv. aus Blut, Hämoglobin, Blutglobulin) sowie „gereinigtem“ Schweinefett, Stärke, Traubenzucker und einem anorganischen Salzgemisch. In einem Versuch wurde einem Gemisch sämtlicher Eiweißkörper mit Amylum, Dextrose, Salzen noch Cholesterin und Lecithin hinzugefügt.

Mit keinem dieser Nahrungsgemische konnten die Tiere auf die Dauer am Leben erhalten werden, am längsten lebten die Tiere mit der letzterwähnten Nahrung. Sowohl bei der Versuchsanordnung von Lunin, wie auch bei der von Falta und Noeggerath ist an die Möglichkeit zu denken, daß der Mangel an irgendwelchen Lipoiden in der Nahrung die Ursache war, daß die Tiere nicht am Leben erhalten werden konnten.

Gegen diese Schlußfolgerung würde auch nicht der letzte Versuch mit Cholesterin- und Lecithinzusatz sprechen, denn es ist ganz wohl denkbar, daß in diesem Versuch andere wichtige Lipidstoffe gefehlt haben.

Während die nachstehend angeführten Versuche bereits im Gange waren, wurde mir eine Notiz von Röhmann¹⁾ bekannt, worin er kurz berichtet, daß er Mäuse dauernd mit einer lecithin-freien Nahrung am Leben erhalten habe, ja daß dieselben sogar Junge zur Welt gebracht hätten, welche sich bei dieser Nahrung weiter vermehrten.²⁾

II.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstiere erschienen aus verschiedenen Gründen weiße Mäuse am zweckmäßigsten. Als zur Extraktion geeignetes Futtermittel wurde Brot gewählt, da man Mäuse vorzüglich mit ausschließlicher Brotnahrung ernähren kann. Das Brot wurde aus reinem Weizenmehl mit Milch gebacken, mehrere Tage im Brutschrank getrocknet, zerschrotet und portionsweise in einem großen Soxhletapparat je etwa 12 Stunden mit 95% Alkohol und Äther extrahiert. Zur völligen Entfernung des Äthers

¹⁾ Röhmann, Lehrb. d. Biochemie. S. 109, 1908; Allgem. med. Centralbl. 1908, Nr. 9.

²⁾ Die Nahrung bestand aus Vitellin. Casein, Hühnereiweiß, Margarine, verzuckerter Weizenstärke, Traubenzucker und Salzen.

erwies es sich als notwendig, das Brot nach dem Trocknen in Wasser einzuweichen. Aus dem gequollenen Brot ließ ich dann der Äther mitsamt dem Wasser bei 40° im Luftstrom verdunsten. Ein Verlust von Salzen aus dem Brot war bei dieser Aufschwemmung in Wasser völlig ausgeschlossen.¹⁾ Nach dem Trocknen war das Brot völlig geruchlos und hatte einen wenig ausgeprägten, aber nicht unangenehmen, jedenfalls durchaus nicht an Äther erinnernden Geschmack.

Die zu den Versuchen verwandten Mäuse von einem mittleren Durchschnittsgewicht von 15 g wurden zu je 6 Stück in großen Glasstandgefäßen gehalten, deren Boden mit einer dicken Lage entfetteter Watte bedeckt war. Die Gefäße wurden täglich gründlich gereinigt, die Watte erneuert. Futter und Brunnenwasser erhielten die Tiere täglich frisch in Glasschalen.

III.

Versuche.

Versuchsreihe A. (Mit Alkohol-Äther extrahiertes Brot.)
Versuch 1.

Hauptversuch.

6 ausgewachsene Mäuse wurden unter den oben erwähnten Bedingungen mit extrahiertem Brot gefüttert. Sämtliche 6 Tiere starben und zwar:

1	nach	16	Tagen,
1	„	22	„
3	„	23	„
1	„	29	„

Aus den Versuchsprotokollen möge bemerkt werden, daß die Tiere während der ersten 14 Tage vollkommen munter waren und das dargereichte Brot gierig fraßen. Verminderte Freßlust und sonstige Erscheinungen, wie geringere Regsamkeit usw. trat bei den einzelnen Tieren meist erst wenige Tage vor dem Exitus auf. Sobald sich bei einem Tiere derartige Symptome zeigten, wurde es isoliert.

Kontrollversuch.

Um dem Einwand zu begegnen, daß die Tiere nicht an dem Mangel der extrahierten Substanzen zugrunde gegangen seien, sondern daran, daß durch die Einwirkung der Extraktionsmittel im Brote selbst eine Veränderung vor sich gegangen

¹⁾ Auf die bei der Extraktion mit 95%igem Alkohol eintretenden Salzverluste wird später einzugehen sein.]

sei, die es zur Ernährung untauglich machte, habe ich gleichzeitig noch einen Kontrollversuch durchgeführt, in dem 6 Mäuse mit alkoholätherextrahiertem Brot gefüttert wurden, dem nachträglich der Extrakt wieder zugesetzt worden war.¹⁾

Die Tiere waren mit Ausnahme einer Maus, die aus unbekanntem Gründen bereits nach 14 Tagen verendete, noch am 30. Tage vollkommen munter, also zu einer Zeit, wo sämtliche Tiere des Hauptversuches bereits gestorben waren.

Versuch 2.

Einen weiteren Versuch unter vollkommen gleichen Bedingungen stellte ich an 6 Mäusen desselben Wurfs an. Das Alter der Tiere betrug ca. 8 Wochen.

Nachdem die Tiere vom Muttertier getrennt worden waren und ich mich durch Fütterung mit gewöhnlichem Brot überzeugt hatte, daß die Tiere selbständig fressen konnten, wurde zum Versuch geschritten.

3 Tiere wurden mit alkoholätherextrahiertem Brot, 3 Tiere mit demselben Brot + nachträglichem Extraktzusatz gefüttert.

Alle 3 mit dem extrahierten Brot gefütterten Tiere gingen ein und zwar:

1 nach 21 Tagen²⁾

2 „ 35 „

Die 3 Kontrolltiere waren noch 42 Tage nach Beginn des Versuchs vollkommen munter. Der Versuch wurde dann abgebrochen.

Zu diesem zweiten Versuch möge noch bemerkt werden, daß die Tiere stets regelmäßig gewogen wurden, daß sich aber durchaus kein bestimmter Typus in der Gewichtskurve erkennen ließ. Nur in den letzten Tagen vor dem Tode nahm das Körpergewicht stets ab. Ebenso wie die Tiere des ersten Versuchs hatten die des zweiten in den ersten Wochen mit großer Gier gefressen, dann begann die Freßlust ein wenig nachzulassen.

Alle verendeten Tiere wurden möglichst sofort nach dem Tode sezziert. Irgendwelche pathologisch-anatomischen Veränderungen konnten nicht gefunden werden.

Die Tatsache, daß sämtliche 9 Tiere, welche mit alkoholäther-extrahiertem Brot gefüttert wurden, eingingen, und zwar die ausgewachsenen Tiere erheblich früher als die jungen, im starken Wachstum begriffenen Tiere, zeigt, daß das alkohol-

¹⁾ Der eingeengte, dunkelbraun gefärbte alkoholische Extrakt wurde mit dem ebenfalls eingeengten ätherischen Extrakt vereinigt, mit Wasser emulgiert, die Emulsion mit der in einer größeren Menge Wassers aufgeschwemmten Brotportion vereinigt, das Ganze im Luftstrom bei ca. 40° zur Trockne gebracht. So war die Garantie gegeben, daß die wieder zugesetzten Extraktstoffe auch gleichmäßig im Brot verteilt waren.

²⁾ Das relativ früh gestorbene Tier war erheblich kleiner als die Geschwistertiere.

äther extrahierte Brot zur Ernährung unzureichend war. Denn die zweite Möglichkeit, daß das Brot durch die Alkoholäther-Extraktion toxische Eigenschaften angenommen hätte, wird durch den Kontrollversuch beseitigt, bei dem die Tiere, mit Ausnahme eines, das aus unbekanntem Gründen frühzeitig starb, alle am Leben blieben.

Man könnte in diesem Versuchsergebnis einen Gegensatz finden zu dem schon erwähnten Versuche Lummerts, der zwei Enten je 21 und 24 Tage mit äther-extrahiertem Schrotmehl ohne Schaden fütterte. Wenn man jedoch überlegt, daß Mäuse bei ihrem geringen Gewicht nur einen sehr geringen Vorrat an alkoholäther-löslichen Stoffen, dabei aber wegen ihrer verhältnismäßig großen Oberfläche einen regeren Stoffwechsel als Enten haben müssen, so wird man nicht erwarten, daß die Störungen, die bei lipoidfreier Nahrung bei Mäusen nach etwa 3 Wochen auftreten, sich um etwa dieselbe Zeit auch bei Enten, die etwa das 120- bis 150fache wiegen, geltend machen müßten.

Hingegen sind bei der Verwertung der Resultate zwei andere Bedenken ernstlich zu erwägen.

Genaue Stoffwechseluntersuchungen sind an Mäusen nicht ausführbar. Infolgedessen wird die Entscheidung der Frage, ob die Ernährung einer Maus eine ausreichende ist, schwierig sein, besonders schwierig, wenn der exakte Nachweis gefordert wird, daß die zugeführte Calorienmenge eine genügende war. Ich glaube jedoch, diesem Bedenken kein Gewicht beilegen zu müssen, da ich mich überzeugt habe, daß die mit extrahiertem Brot gefütterten Tiere in ihrer Freßlust, wenigstens in den ersten Wochen, den Kontrolltieren nicht im entferntesten nachstanden. Daß in den letzten Tagen vor dem Tode die Freßlust nachläßt, scheint mir vielmehr der Ausdruck einer bereits vorhandenen krankhaften Störung zu sein. Übrigens habe ich vollständige Verweigerung der Nahrung nur in den letzten Stunden vor dem Tode beobachtet.

Ein weiteres schwer wiegendes Bedenken ist folgendes: Bei der stundenlangen Extraktion des Brotes mit 95%igem Alkohol gehen kleine Mengen von Salzen in Lösung. So könnte daran gedacht werden, daß die Tiere an Salzangel zugrunde gegangen seien. Dieser Salzangel könnte sich naturgemäß nur

auf die in Alkohol etwas löslichen Salze, vor allem Chloride und Alkalien beziehen.

Die Untersuchung der Asche des extrahierten Brotes ergab die Anwesenheit von Chloriden. Von völligem Salz-mangel kann daher keine Rede sein. Doch hielt ich es für wünschenswert, einen den Einwand des Salz-mangels berücksichtigenden Versuch auszuführen, nämlich mit extrahiertem Brot, dem nachträglich die Salze wieder zugesetzt waren. Der Versuch erwies sich leider aus besonderen Gründen — er war mit chloroform-extrahiertem Brot angestellt — nicht voll beweiskräftig. Immerhin sprechen meine Versuche dafür, daß das völlige Fehlen der alkohol-ätherlöslichen Substanzen (Lipoide + Fette) in der Nahrung von Mäusen auf die Dauer nicht vertragen wird.

Versuchsreihe B.

(Mit Alkohol-Äther-Chloroform extrahiertes Brot.)

In einer weiteren Reihe von Versuchen wurde ein Brot verfüttert, das nach Extraktion mit Alkohol und Äther noch einer Extraktion mit Chloroform unterworfen worden war.¹⁾

Versuch 3.

6 Mäuse wurden mit alkohol-äther-chloroform-extrahiertem Brot gefüttert. Sämtliche Tiere gingen ein, und zwar:

1	nach 13	Tagen,
3	„ 21	„
1	„ 22	„
1	„ 23	„

Versuch 3a.

In Berücksichtigung des oben erwähnten Einwandes des Mangels von Salzen wurde an 6 Mäuse ein Brot verfüttert, das die bei der Extraktion in Lösung gegangenen Salze wieder zugesetzt erhalten hatte.²⁾ Sämtliche Tiere gingen ein, und zwar:

¹⁾ Da trotz tagelangem Trocknen des extrahierten Brotes bei 100° die Anwesenheit von Chloroformspuren zwar nicht durch den Geruch, wohl aber noch deutlich beim Kauen zu erkennen war, wurde das extrahierte Brot ebenso wie bei den anderen Versuchen nochmals in Wasser eingeweicht, das Wasser durch Verdunsten verjagt. Auf diese Weise gelang es mit Leichtigkeit, die letzten Spuren des Chloroforms zu entfernen.

²⁾ Die vereinigten Extrakte wurden verascht, der Rückstand in Wasser gelöst und filtriert. Diese Lösung schmeckte schwach salzig und

1	nach	6	Tagen (intercurrent?),
1	„	13	„
1	„	16	„
1	„	18	„
1	„	19	„
1	„	24	„

Es sei hier ausdrücklich auf die fast vollkommene Übereinstimmung dieses Versuchs mit dem vorigen hingewiesen. Der Zusatz der Salze vermochte den Verlauf des Versuchs nicht zu beeinflussen.

Versuch 3b.

6 Mäuse wurden mit alkohol-äther-chloroform-extrahiertem Brot + nachträglichem Extraktzusatz gefüttert.

Auffallenderweise gingen nun auch diese Tiere ein, wenn auch bezüglich der Zeitdauer gegenüber den Versuchen ohne Extraktzusatz eine Differenz bestand. Die Tiere starben:

1	nach	18	Tagen,
2	„	19	„
1	„	20	„
1	„	26	„
1	„	44	„

Die Versuche dieser zweiten Reihe waren eigentlich nur angestellt als Erweiterung und Ergänzung der ersten Serie. Eine Extraktion mit Chloroform im Anschluß an eine vorhergegangene mit Alkohol und Äther sollte die letzten etwa noch nicht in Lösung gegangenen Lipide (Cerebroside) entfernen.

Während die Versuche mit extrahiertem Brot und mit extrahiertem Brot + Salzzusatz der ersten Versuchsreihe entsprechen fiel der Kontrollversuch mit extrahiertem Brot + nachträglichem Extraktzusatz ganz unerwartet aus. Auch diese Tiere gingen ein, allerdings zum Teil erheblich später als die der beiden anderen Versuche. Da die einzige Abweichung der Versuchsreihe B von der Versuchsreihe A die eingeschaltete Chloroformextraktion war, so mußte in einer Einwirkung des Chloroforms auf die extrahierten Stoffe oder auf das Brot selbst die Erklärung zu suchen sein. Entweder hatte das Chloroform unentbehrliche Nährstoffe des Brotes zur Ernährung untauglich ge-

zeigt eine Spur alkalischer Reaktion. Sie wurde der in Wasser aufgeschwemmten Brotportion zugesetzt, das Wasser sodann verjagt und das Brot getrocknet. Auf diese Weise war eine gleichmäßige Verteilung der Salze im Brot erreicht.

macht, oder es war dabei ein giftig wirkender, nicht flüchtiger Stoff entstanden.

Der Befund ist an sich nicht geeignet, das Ergebnis der Versuchsreihe A abzuschwächen. Doch hat er leider die Prüfung des oben angedeuteten Bedenkens — daß vielleicht im alkohol-äther-extrahierten Brot dem Salz-mangel eine Rolle an dem Tod der Tiere zufällt — vereitelt.

Ein diesen Punkt endgültig klarstellender Versuch soll in einer späteren Arbeit gebracht werden.

IV.

Wenn die mitgeteilten Tatsachen dafür sprechen, daß irgendwelche mit Alkohol und Äther extrahierbaren Bestandteile des Milohbrottes für Mäuse unentbehrlich sind, daß somit der Mausorganismus nicht befähigt ist, sie aus den sonst in der Nahrung enthaltenen Bestandteilen — Eiweiß, Kohlenhydraten usw. — selbst zu bereiten, so ist damit über die Natur dieser Bestandteile noch nichts ausgesagt. Nach der üblichen Bezeichnung fallen sie unter die Rubrik „Lipoide“. Es ist aber nicht ersichtlich, ob dabei eines der bekannten Lipoide eine besondere Rolle spielt. Nur daß es sich nicht um das Lecithin handeln dürfte, geht wohl aus den schon erwähnten Versuchen von Röhmann hervor. Es wird also an andere Körper zu denken sein. Es wäre aber auch noch zu erwägen, ob nicht eine, wenn auch sehr geringe Menge von Fett in der Nahrung für den normalen Verlauf der Ernährungsvorgänge unentbehrlich ist. Untersuchungen, welche sich mit diesem Gegenstand, sowie mit weiteren sich anschließenden physiologischen Fragen befassen, sind bereits in Angriff genommen.

Zur biologischen Bedeutung des Lecithins.

(IV. Mitteilung)

Über den Gehalt des Blutes bei Polycythaemia rubra megalo-splenica an Phosphor und Eisen in Lipoidform.

Von

W. Glikin.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 10. Oktober 1909.)

A. Loewy¹⁾ hat in einem Falle von Polycythaemia rubra im Blute eines Mannes in zwei verschiedenen Proben 115,6 mg Fe und 125,0 mg Fe pro 100 ccm Blut gefunden — im Mittel also 120,3 mg Fe pro 100 ccm. Bei näherer Betrachtung dieses weit von der Grenze der Norm liegenden Befundes drängt sich die Frage von selbst auf, ob die anderen Bestandteile des polycythämischen Blutes dem Eisengehalt parallel gehen, d. h. ob deren Gehalt sich ebenfalls höher gestaltet, wie der des Eisens. Da das Lecithin als primärer Zellbestandteil betrachtet wird, so muß sein Gehalt bei einer Vermehrung der Zellen, in diesem Falle der Blutzellen, entsprechend höher sein. Ich habe mein Augenmerk zunächst dem Fett-, Lecithin-, Lipoid-eisen- und Phosphorgehalt zugewendet.

Bezüglich der Methodik der Fettbestimmung im Blute bin ich hier wie bei Milch und anderen Flüssigkeiten in der Weise vorgegangen, daß ich das Blut mit verdünnter Salzsäure gekochtem, sorgfältig ausgewaschenem und dann geglühtem Seesand in einer Porzellanschale verrieben, und dann auf dem Sandbade

¹⁾ Berlin. klin. Wochenschr. Nr. 30, 1909. Das Blut stammt von einem Kranken der Senatorschen Klinik.

unter öfterem Umrühren bei gelinder Wärme zur Trockne eingedampft habe. (Das Umrühren darf nicht unterlassen werden, sonst bildet sich beim Eintrocknen ein Coagulum, das sich dann sehr schwer verreiben läßt.) Die trockne Masse wird dann im Mörser zerrieben und im Soxhletapparat mit Alkohol und Chloroform bis zur vollständigen Erschöpfung extrahiert, d. h. bis frisch aufgegossenes Extraktionsmittel sich nicht mehr färbt. Die vereinigten alkoholischen und Chloroformauszüge werden verdunstet, der Rückstand mit Petroleumäther aufgenommen, filtriert und nach dem Verdunsten des Äthers und Trocknen bei 100° C gewogen.

Die Phosphor- und Eisenbestimmungen habe ich nach dem Neumannschen Verfahren ausgeführt.

Die Analysen gaben folgende Resultate:

I. 65 ccm einer Blutprobe gaben:

1. 0,6660 g = 1,025% resp. 10,25 g Fett in 1000 ccm.
2. 0,02989 g = 0,04598% P_2O_5 Lipoidphosphor = 0,5226% resp. 5,2260 g Lecithin in 1000 ccm.
3. 0,00484 g Fe = 0,01064% resp. 0,1064 g Fe_2O_3 „Lipoid-eisen“ in 1000 ccm.

Gesamtphosphor	}	in einer beson- deren Probe be- stimmt	. . . 1,7650 g P_2O_5 in 1000 ccm
Gesamteisen			. . . 1,7857 g Fe_2O_3 „ 1000 „

II. 40 ccm einer anderen Blutprobe gaben:

1. 0,3300 g = 0,825% resp. 8,25 g Fett in 1000 ccm.
2. 0,01777 g = 0,04435% P_2O_5 Lipoidphosphor = 0,5041% resp. 5,0410 g Lecithin in 1000 ccm.
3. 9,00396 g Fe = 0,01319% resp. 0,1319 g Fe_2O_3 („Lipoid-eisen“) in 1000 ccm.

3. Gesamtphosphor	}	in einer beson- deren Probe be- stimmt	. . . 2,391 g P_2O_5 in 1000 ccm
Gesamteisen			. . . 2,069 g Fe_2O_3 „ 1000 „

Auf die Resultate der Fettbestimmungen kann ich nicht näher eingehen, da mir die Nahrung, die der Patient vor dem Aderlaß zu sich genommen hat, unbekannt ist. Daß der Fettgehalt des Blutes von der Art der Nahrung abhängt, braucht keiner besonderen Erläuterung.

Bezüglich des Lecithingehaltes liegen keine direkten Bestimmungen vor und wir müssen unsere Resultate vorläufig

mit den im Blute verschiedener Säugetiere gefundenen Werten vergleichen. Das Blut der Säugetiere dürfte nicht wesentlich von dem der Menschen verschieden sein. Abderhalden¹⁾ fand bei Säugetieren einen Lecithingehalt, der zwischen 2 und 3 g pro 1000 g liegt, während der von mir gefundene über 5 g beträgt, d. h. der Lecithingehalt nimmt im polycythämischen Blut um etwa das Doppelte zu. Somit bestätigt sich in diesem Falle die Annahme, daß bei einer Vermehrung der Zellen der Lecithingehalt entsprechend höher ist.

Ähnlich gestaltet sich die Zunahme des Phosphor- und, wie bereits erwähnt, des Gesamt-Eisengehaltes; wir konstatieren hier etwa eine dreifache Zunahme. Bunge fand im normalen Blute eines Mannes 0,9350 g P_2O_5 in 1000 g, der von mir erhaltene Wert beträgt in der ersten Probe 1,7650 g, in der zweiten 2,391 g P_2O_5 pro 1000 ccm. Der von Bunge angegebene Eisenwert beträgt 0,7400 g Fe_2O_3 in 1000 g, während ich 1,7857 g in der einen und 2,069 g in der anderen Probe gefunden habe.

Ferner ermittelte ich den Eisengehalt im Fette dieses Blutes und fand in der einen Probe 0,1064 g Fe_2O_3 und in der anderen 0,1319 g Fe_2O_3 (Lipoideisen). Vergleichen wir diese Werte mit dem Gesamteisengehalt, so sehen wir, daß der Lipoid-eisengehalt 6% des Gesamteisengehaltes ausmacht — ein Wert, der nicht zu unterschätzen ist, weder qualitativ noch quantitativ. Die Tatsache, daß das im Blutfett und somit in den Lipoiden des Blutes enthaltene Eisen bis jetzt unbekannt war und auf andere Verbindungen verteilt wurde, legt die Annahme nahe, daß man bei Berücksichtigung des Lipoideisens zu einer ganz anderen Verteilung des Eisens im Blute gelangen und somit möglicherweise auch ein ganz anderes Bild über die Zusammensetzung des Blutes erhalten würde.

Untersuchungen im normalen Blut, sowie in dem des Kranken nach dieser Richtung hin sind bereits begonnen.

¹⁾ Lehrbuch d. physiol. Chemie.

Zur Kenntnis des Hämopyrrols. II.¹⁾

Von

Z. Leyko und L. Marchlewski.

(Vorgelegt der Akademie der Wissenschaften zu Krakau.)

(Eingegangen am 13. Oktober 1909.)

In den vorhergehenden Abhandlungen über Hämopyrrol hat der eine von uns mit Goldmann, Hetper, Buraczewski, Mostowski und Retinger²⁾ gezeigt, daß Hämopyrrol leicht mit Diazoniumsalzen reagiert, hierbei ausgezeichnet krystallisierende Farbstoffe liefernd. Als Hauptprodukt wird ein Körper gebildet, dem die Formel (Produkt I):



zuerteilt wurde. Außer dieser Substanz bildet sich vorübergehend eine Verbindung, die wir als das Monoazoderivat auffassen, sodann ein prächtig krystallisierendes Produkt mit dem Schmelzpunkt 268° (Produkt II) und schließlich zwei andere nur in sehr kleinen Mengen einmal beobachtete Produkte (III und IV).

In der vorliegenden Mitteilung sind wir in der Lage, über Produkt II genauer zu berichten.

Produkt II.

Dasselbe hatten wir bis vor kurzem nur in geringen Mengen zur Verfügung. Es war daher unmöglich zu entscheiden, welcher empirischen Formel es entspricht. Wir sind jetzt in der Lage diese Lücke auszufüllen.

¹⁾ Die erste Abhandlung dieser Serie erschien in dieser Zeitschr. 10, 437, 1908.

²⁾ Zusammenstellung der Literatur findet sich in L. Marchlewski: Die Chemie der Chlorophylle und ihre Beziehung zur Blutfarbstoffchemie, Braunschweig 1909.

Eine Anzahl von Versuchen überzeugte uns, daß die besten Ausbeuten des Produktes II unter folgenden Umständen erzielt werden:

5 g Hämin werden in 100 g Eisessig suspendiert, 100 g Jodwasserstoffsäure (spez. Gew. 1,96) zugefügt, die Mischung auf ein kochendes Wasserbad gesetzt und nach und nach 8 g Jodphosphonium zugesetzt. Die Reduktion soll nicht länger als 30 Minuten dauern.

Die Mischung wird nun mit 500 ccm Wasser versetzt, die Säuren vollständig neutralisiert und unter Einleitung von Kohlensäure das gebildete Hämopyrrol abdestilliert. Das wässrige Destillat wird mit 750 ccm Äther ausgeschüttelt und mit einer mittlerweile hergestellten Diazobenzollösung vermischt. Letztere wurde erhalten, indem 50 ccm $\frac{2}{3}$ -salzsauren Anilins wie üblich diazotiert wurde; die Diazolösung enthielt ein Mol-Salzsäure im Ueberschuß. Das Schütteln der ätherischen Lösung mit der Diazolösung dauerte $\frac{1}{2}$ Stunde. Nach dieser Zeit wurde die saure Lösung abgetrennt und die ätherische der Krystallisation überlassen. Die nach längerem Stehen abgetrennten Krystalle wurden sodann der folgenden Behandlung unterworfen. Nach dem Abtrennen der Mutterlauge wurden die Krystalle zunächst in der Kälte mit Chloroform erschöpft. Das Lösungsmittel nahm hierbei eine blau-violette Farbe an. Auf dem Filter blieb Produkt I, welches in Chloroform schwer löslich ist. Produkt II befand sich in der Lösung. Um es krystallisiert zu erhalten, wurde die Chloroformlösung stark konzentriert und sodann mit dem zweifachen Volum Alkohol versetzt. Hierbei entstand ein prächtiger, glitzernder, krystallinischer Niederschlag, der abfiltriert und noch zweimal aus einem Gemisch von Chloroform und Alkohol umkrystallisiert wurde. Wählt man hierzu ein Gemisch, in welchem die Menge des Chloroforms nicht so bedeutend wie oben angegeben im Verhältnis zum Alkohol zurücktritt, dann erfolgt die Krystallisation langsam, und man erhält wohl ausgebildete Krystalle des rhombischen Systems,¹⁾ welche ziemlich scharf bei 268° schmelzen.

Für die Analyse wurde das gepulverte Produkt bei 110° bis zum konstanten Gewicht getrocknet:

¹⁾ Vgl. diese Zeitschr. 10. 447, 1908.

1. 0,1213 g gaben 0,3047 g CO₂ und 0,0744 g H₂O
entsprechend 68,51% C und 6,86% H,
2. 0,1060 g gaben 0,2668 g CO₂ und 0,0646 g H₂O
entsprechend 68,65% C und 6,82% H,
3. 0,1051 g gaben 16,0 ccm N bei t = 16°, b = 743,8 mm
entsprechend 17,28% N,
4. 0,1102 g gaben 16,8 ccm N bei t = 16°, b = 749 mm
entsprechend N = 17,42%.
5. 0,1608 g gaben 0,0472 g AgCl
entsprechend 7,26% Cl.

Aus den mitgeteilten Werten berechnet sich die folgende Formel:

Ber. für C ₂₀ H ₂₃ N ₆ Cl	Gef. im Mittel
%	%
C: 68,70	68,56
H: 6,81	6,84
N: 17,22	17,35
Cl: 7,27	7,26
100,00	100,01

Die Substanz ist also chlorhaltig, ein Ergebnis, welches der eine von uns auch mit Retinger für nicht ausgeschlossen hielt, was aber damals aus Mangel an Substanz nicht sicher gestellt werden konnte. Damals erhielten wir 68,39% C, 6,57% H und 17,80% N, also Werte, welche von dem obigen nicht wesentlich verschieden sind.

Bezüglich der Eigenschaften des Produktes II sei folgendes bemerkt:

Es kristallisiert im rhombischen System. Den früher gemachten Angaben von Morozewicz haben wir nichts hinzuzufügen. In größeren Mengen erscheint das Produkt als metallisch glänzende Schuppen von rotvioletter Farbe. Am leichtesten löst es sich in Chloroform, schwer in Alkohol und Äther. Unter dem Einfluß von Alkalien wird die Substanz leicht verändert. Die Reaktion verläuft in zwei Hauptstadien, auf die wir noch zu sprechen kommen werden.

Die Chloroformlösung verursacht, wie bereits früher beschrieben, zwei Absorptionsbänder, die nicht scharf begrenzt sind. Besonders stark ist die Absorption des Ultrarots und des äußersten Rotes sowie des Violettes und Ultraviolettes.

Sorgfältige photographische Aufnahmen haben die Anwesenheit von drei Absorptionsbändern im stärker gebrochenen Spektrumteil ergeben, von denen das am stärksten gebrochene allerdings sehr schwach und verwaschen ist. Wir photographierten eine Lösung, die entstand, indem 10 ccm einer Chloroformlösung, welche im Liter 0,2 g Substanz enthält, mit 90 ccm Äther verdünnt wurden.

Schichtendicke	Band III	Band II	Band I
7,5 mm		399,0—407,0 $\mu\mu$	421,5—425,0 $\mu\mu$
10,0 "		397,0—408,0 "	418,5—426,0 "
12,5 "	377,0—390,5 $\mu\mu$	395,0—409,5 "	417,5—427,5 "
15,0 "		394,5—410,5 "	416,0—429,0 "
17,5 "		393,5—411,0 "	414,0—430,5 "

Die sog. Endabsorption beginnt bei der 17,5-mm-Schicht bei etwa 340 $\mu\mu$. Endlich wurde auch der Extinktionskoeffizient im Apparate von Martens-König bestimmt, und zwar für Na-Licht. Die angewandte Lösung enthält 0,1 g in 1000 ccm Chloroform; zur Untersuchung gelangte eine 1-mm-Schicht. $E = 3,83$.

Unter dem Einfluß von Wasserstoff in statu nascendi werden die ursprünglichen blauvioletten Lösungen des Farbstoffs nahezu entfärbt. Zunächst bemerkt man einen fleischfarbigen Ton, welcher schließlich einem gelblichen Platz macht.

Besonders interessant ist das Verhalten des Farbstoffs zu Alkalien. Wird seine Chloroformlösung mit alkoholischem Kali versetzt so schlägt die Farbe sehr bald in Grün und dann in Orange um, und die ursprüngliche Farbe kann durch Säurezusatz nicht mehr hergestellt werden. Der gebildete Farbstoff ist in Äther leicht löslich, verursacht aber gar keine charakteristische Absorptionen. Ammoniak wirkt schwächer; auch hier wird nach einiger Zeit die ursprüngliche blauviolette Farbe in eine grüne und eine orange umgewandelt. Der Farbstoff des Endstadiums kann krystallisiert erhalten werden, aber bis jetzt waren wir nicht in der Lage eine größere Menge desselben herzustellen.

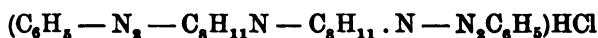
Da die genannten Alkalien den Farbstoff wie ersichtlich zu stark angreifen, und es uns daran lag, den Charakter des durch die Analyse angezeigten Chloratoms aufzuklären, versuchten wir das Chlor durch Natriumacetat zu eliminieren; das gelingt in der Tat wie folgende Versuche zeigen. Wird die

Chloroformlösung des Farbstoffs mit einer methylalkoholischen Lösung von Natriumacetat versetzt, so wird die Farbe ganz bedeutend blauer. Versetzt man nun das Gemisch mit Wasser und extrahiert mit Äther, so erhält man eine rein dunkelblaue Lösung, welche im durchfallenden Lichte rot erscheint. Das Spektrum dieser Lösung ist im sichtbaren Teil durch ein Band ausgezeichnet, dessen Lage je nach der Konzentration durch die folgenden Wellenlängen charakterisiert wird:

Konzentration A	Konzentration B (2 Vol. A + 1 Vol. Äther)	Konzentration C (2 Vol. B + 1 Vol. Äther)
653,5—539,5 $\mu\mu$	644,0—558,0 $\mu\mu$	536,5—568,0 $\mu\mu$

Diese Werte charakterisieren das Spektrum des freien Farbstoffs, was daraus folgt, daß, wenn man die obige ätherische Lösung mit HCl-haltigem Äther versetzt, der Farbton violett wird und im Spektrum zwei Bänder erscheinen, welche dieselbe Lage einnehmen, welche für die Bänder des ursprünglichen Farbstoffs charakteristisch sind.

Was die Natur des Produktes II anbelangt, so sprechen die angeführten Analysenwerte sowie die Erkenntnis, daß das Chloratom durch gelinde Alkaliwirkung entfernt und durch Salzsäure wieder angelagert werden kann, dafür, daß man es mit einem Körper von folgender Zusammensetzung zu tun hat:

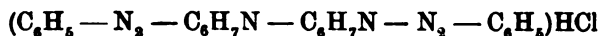


wonach derselbe als Chlorhydrat einer Kombination zweier Moleküle des Monoazofarbstoffs des Hämopyrrols anzusehen ist.

Dieses Resultat ist aus zweierlei Gründen wichtig. Erstens könnte dasselbe als neuer Beweis angesehen werden, daß Hämopyrrol die Zusammensetzung $C_8H_{13}N$ und nicht $C_7H_{11}N$ besitzt. Zweitens, daß Hämopyrrol als Gemisch zweier Körper aufzufassen wäre, von denen der eine $C_8H_{13}N$ den Disazofarbstoff, dessen Chlorhydrat bei 233° schmilzt, liefert, und der andere etwa ein Dihämopyrrol $C_8H_{13}N - C_8H_{13}N$ ist, welcher Produkt II gibt.

Die bis jetzt im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen sprechen aber für die Annahme, daß Produkt II als Repräsentant einer Klasse von Pyrrolabkömmlingen anzusehen ist, welche bis jetzt nicht beobachtet wurden und welche

entstehen, wenn zwei Moleküle eines Pyrrolmonoazofarbstoffs auf eine noch aufzuklärende Art miteinander verknüpft werden. Wie ich mit Robel an anderer Stelle zeigen werde liefert nämlich α_1 - β_2 -Dimethylpyrrol mit Benzoldiazoniumchlorid unter gewissen Bedingungen einen Farbstoff von der Zusammensetzung:



welcher dem Hämopyrrol-Produkt II in allen Details ähnlich ist. Unsere Absicht ist, Produkt II noch weiter zu untersuchen, und zwar seine Bildung in Abhängigkeit von verschiedenen Reduktionsarten des Hämins und seine Umwandlungsprodukte unter dem Einfluß von Alkalien und Natriumacetat.

Endlich sei noch bemerkt, daß bei der jetzt angewandten Reduktionsweise des Hämins aus 60 g folgende Ausbeuten erhalten wurden:

Produkt I: 2,27 g,

„ II: 1,58 g,

Analysen des Produktes I lieferten Werte, welche mit den früher erhaltenen übereinstimmen.

0,1022 g gaben 0,2460 g CO_2 und 0,0625 g H_2O

entsprechend 65,65% C und 6,85% H,

0,1009 g gaben 17,1 ccm N bei $t = 20$ und 741,1 mm

entsprechend 18,74% N.

Die Formel $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{Cl}$ verlangt 65,25% C, 6,03% H und 19,08% N.

Anhang.

Vor einiger Zeit publizierte Piloty¹⁾ eine Abhandlung über den Blutfarbstoff, welche Küster²⁾ veranlaßte, einige nur zu billigende Äußerungen zu machen. Küster kennzeichnet die Art, wie Piloty die diesbezüglichen früheren Arbeiten zur Wiedergabe bringt, und mit welcher Hartnäckigkeit er bereits von anderen Geleistetes mit Schweigen übergeht. Diese Art „wirkt unerfreulich, weil sie den Genuß an der Sache und die reine Freude am Erkennen und an wissenschaftlicher Arbeit trübt“. Es wäre gut, wenn diejenigen Forscher die jetzt, nachdem die

¹⁾ Liebigs Annalen 366, 237, 1909.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 164, 1909.

allergrößten Schwierigkeiten in der Chlorophyll- und Blutfarbstoffforschung überwunden sind, nachdem das Herumtappen im Dunkeln aufgehört hat, an dieselben Probleme treten — und die Erfahrungen ihrer Vorgänger ausnutzen, sich des obigen Satzes wohl bewußt bleiben. Ob Küster selbst niemals, nicht bez. des sachlichen Inhalts seiner Arbeiten, aber bez. der Art, dieselben dem Leser vorzulegen, zu kritisieren war, lasse ich dahingestellt.

Aber noch in einer anderen Richtung ist ein Vorwurf gegen Piloty zu erheben: er beschreibt den Stand der bisherigen Forschung direkt unrichtig. Piloty irrt, indem er behauptet, aus Küsters Arbeiten folge, Hämopyrrol wäre β_1 - β_2 -Methyl-n-Propylpyrrol. Dies folgt auch nicht aus Pilotys eigenen Arbeiten, welche überdies keinen Beweis enthalten, daß Hämopyrrol überhaupt ein Pyrrolhomologes ist. Daher ist es befremdend, daß ihm die Tatsache unbekannt blieb, daß Hämopyrrol mit Diazoniumsalzen zu reagieren vermag. Dem nur flüchtigen Studium der einschlägigen Literatur ist wohl auch der Umstand zuzuschreiben, daß Piloty die Geschichte der Entdeckung der chem. Verwandtschaft des Blut- und Blutfarbstoffs ganz falsch wiedergibt. Nenckis Abhandlung¹⁾ ist ihm offenbar unbekannt geblieben.

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, 2877, 1896.

Über den Energieverbrauch bei der Atemarbeit.

Von

Felix Reach und Ferdinand Röder.

(Aus dem Physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur
in Wien.)

(Eingegangen am 14. Oktober 1909.)

Die Größe des Energieverbrauchs, den die Tätigkeit der Atemmuskulatur verursacht, ist in mehrfacher Beziehung von Interesse. Bei Versuchen am ruhenden Organismus ist dieser Teil des Energieverbrauches sowie der durch die Herzarbeit verursachte als „Leistungszuwachs“ aufzufassen, so daß erst der Rest als wahrer „Grundumsatz“¹⁾ zu betrachten ist. Noch wesentlicher als für unsere Erkenntnis für die Vorgänge am ruhenden Organismus ist die Abschätzung des auf die Atemarbeit entfallenden Stoffwechsels für die Beurteilung der Ergebnisse von am arbeitenden Menschen oder Tiere ausgeführten Stoffwechselversuchen. Denn es ist wünschenswert, den Nutzeffekt der belebten Maschine möglichst rein abschätzen zu können, d. h. eine bestimmte, meßbare äußere Arbeit ausschließlich mit jenem Energieverbrauch vergleichen zu können, der auf die Kontraktion der arbeitenden Muskeln entfällt. Da aber erhöhte Muskeltätigkeit irgendwelcher Art stets auch mit erhöhter Atemtätigkeit verbunden ist, so kann jener Forderung nur dann vollständig Genüge geleistet werden, wenn man von dem gefundenen Arbeitsverbrauch nebst dem Ruheverbrauch auch den Verbrauch für gesteigerte Atemtätigkeit abzieht.

Es ist denn auch die Atemarbeit und der ihr zugehörige Stoffwechselanteil schon wiederholt Gegenstand von Unter-

¹⁾ Nach der Terminologie von Magnus-Levy im Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. v. Noorden 1, 215.

suchungen gewesen. Von den Versuchen, die äußere Arbeit der Atemtätigkeit nach mechanischen Prinzipien zu bestimmen, wie dies Hutchinson, Donders und Fick unternommen haben, können wir wohl absehen. Einerseits ist eine derartige Berechnung immer sehr unsicher, andererseits ist es auch kaum möglich, bei einer solchen Arbeit, wie es die des Atmens ist, einen Schluß von der Größe der äußeren Arbeit auf den Energieverbrauch zu machen, weil es sich hier um eine komplizierte Verbindung von dynamischer und statischer Tätigkeit handelt, wie Zuntz und Hagemann hervorgehoben haben.

Über die Messung des mit der Atemarbeit verbundenen Stoffumsatzes selbst liegen ebenfalls Berichte in der Literatur vor. Zur Vornahme einer solchen Messung ist es nötig bei sonst gleich bleibenden Umständen, die Atemgröße zu variieren. Zwei Wege sind zu diesem Zwecke beschritten worden. Teils hat man dadurch, daß man der Inspirationsluft eine merkbare Menge von CO_2 zusetzte, das Atemzentrum gereizt und so erhöhte Respirationstätigkeit hervorgerufen, teils hat man den Umsatz bei willkürlich verstärkter Atmung untersucht. A. Loewy¹⁾ hat beide Wege betreten und keinen wesentlichen Unterschied darin gefunden, ob die Atmung willkürlich oder durch CO_2 -Zufuhr erhöht war.

Bei Besprechung der Resultate verschiedener Autoren brauchen wir die älteren Versuche von Vierordt, Lossen, Panum und Berg nur kurz zu erwähnen. Diese Autoren untersuchten die CO_2 -Ausscheidung von Menschen, die abwechselnd kurze Zeit normal und verstärkt atmeten. Die CO_2 -Ausscheidung steht schon im allgemeinen als Maß des Energieumsatzes hinter dem O_2 -Verbrauch zurück, und insbesondere gilt dies für Versuche dieser Art, aus Gründen, auf die wir noch zurückkommen werden. Überdies hat, seitdem jene Versuche angestellt worden sind, die Methodik der Respiationsversuche auch wesentliche Fortschritte gemacht.

Eingehende Versuche über die uns hier beschäftigende Frage hat Speck ausgeführt.²⁾ Er findet, daß im Durchschnitt auf 1 l Mehrventilation 10 ccm Mehrverbrauch von Sauerstoff entfällt. Zuntz und Hagemann³⁾ sehen sich veranlaßt, an Specks Ergebnissen eine Korrektur vorzunehmen. Bei Speck schließen sich nämlich die Perioden verstärkter Atmung mit Probenahme häufig unmittelbar an Perioden

¹⁾ Verhdl. d. Berl. physiol. Ges. 1891.

²⁾ Physiologie des menschlichen Atmens, Leipzig 1892.

³⁾ Landwirtschaftl. Jahrb. 27, 1898, Ergänzungsbd. 3.

normaler Atmung an. Ein Teil des aus der Inspirationsluft verschwindenden Sauerstoffes ist aber nicht auf Mehrverbrauch, sondern auf Änderung in der Zusammensetzung der Residualluft zu beziehen. Zuntz und Hagemann korrigieren deshalb die obige Zahl Specks auf 6 ccm O_2 pro Liter Mehrventilation.

A. Loewy¹⁾ findet den O_2 -Verbrauch pro Liter expirierter Luft zwischen 3 und 7 ccm. Bei einzelnen Individuen jedoch noch viel höher, so daß nach diesem Forscher bei einer Atemgröße von ca. 18 bis 20 l pro Minute der aus der erhöhten Atemtätigkeit herrührende Mehrverbrauch an O_2 bis 40% des Gesamtsauerstoffverbrauches ausmachen kann.

Zuntz und Hagemann haben bei ihren umfassenden Forschungen über den Stoffwechsel des Pferdes auch die Atemarbeit in den Kreis ihrer Untersuchungen gezogen. Die vertiefte Atmung war durch Kohlendioxyd hervorgerufen. Die für den Liter mehr ausgeatmeter Luft gefundene Größe schwankt innerhalb sehr weiter Grenzen, ohne jedoch jenen Wert zu erreichen, der sich aus Specks Versuchen am Menschen (auch bei Anbringung der oben erwähnten Korrektur) ergibt. Zuntz und Hagemann suchten die gesetzmäßige Abhängigkeit des Mehrverbrauches von der Mehrventilation dadurch genauer zu präzisieren, daß sie ihre Resultate auf eine Formel 2. Grades und eine solche 3. Grades brachten. Wenn y den Mehrverbrauch an O_2 und x die Mehrventilation bedeutet, so erwies sich, wie oben erwähnt, die Größe $\frac{y}{x}$ in ihren Ver-

suchen nicht als Konstante. Der Mehrverbrauch ist also keine lineare Funktion der Mehrventilation. Zuntz und Hagemann nahmen deshalb als Ausdruck jener Gesetzmäßigkeit die Formel: $y = ax + bx^2$ oder die Formel: $y = ax + bx^2 + cx^3$ an und berechneten nach der Methode der kleinsten Quadrate für jede dieser beiden Formeln die Koeffizienten a , b und c . Es zeigte sich aber, daß die nach diesen Formeln berechneten einzelnen Werte mit den direkt gefundenen sehr wenig übereinstimmten. Es kann also in keiner dieser beiden Formeln ein sehr adäquater mathematischer Ausdruck für die Abhängigkeit des Mehrverbrauches von der Mehrventilation gesehen werden. Wir erwähnen diese Berechnungen hier deshalb eingehender, weil wir in dieser Mitteilung über ähnliche Berechnungen auf Grund eigener Versuche berichten. Zuntz und Hagemann heben überdies hervor, daß der Atemtypus für die Größe des Verbrauches wesentlich von Einfluß sein dürfte. Sie sagen diesbezüglich: „Wir haben vorher schon ausgeführt, daß bei wachsender Atemtiefe der Energieverbrauch für die Einheit geatmeter Luft wachsen muß, dagegen ist nicht abzusehen, daß ein solches Wachsen zustande komme, wenn die Atemgröße allein durch Zunahme der Frequenz sich erhöht.“²⁾ Ihre Tiere atmeten sehr unregelmäßig, und daraus erklären sich wohl zum Teil die Differenzen in ihren Resultaten. Aus alledem ist wohl ersichtlich, daß zur Aufklärung der ganzen Frage Ver-

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c. S. 368.

suche nötig sind, die außer der Mehrventilation auch den Atemtypus berücksichtigen.

In neuester Zeit haben Bornstein und v. Gartzzen¹⁾ Selbstversuche über den Stoffverbrauch bei modifizierter Atmung im Zuntz'schen Laboratorium ausgeführt. Ihre Werte schwanken einigermaßen; beispielsweise verbrauchte B. pro Liter Mehrventilation zwischen 11,5 und 30,9 kleine Calorien. Im Mittel finden sie diese Größe für B. zu 23 und für G. zu 31.

Der Versuchsplan der hier zu berichtenden Versuche ist folgender: Die Größe des Stoffumsatzes sollte eruiert werden bei normaler Atmung und bei gesteigerter Atmung, wobei diese Steigerung des pro Minute geatmeten Volumens das eine Mal die Folge erhöhter Frequenz der Atemzüge, das andere Mal die Folge größerer Tiefe der einzelnen Atemzüge war. Ursprünglich bestand die Absicht diese Versuche auf mehrere Versuchspersonen auszudehnen. Äußere Umstände veranlaßten uns jedoch, die Versuchsreihe schon abzubrechen, obzwar nur Versuche an einem von uns (Reach) vorlagen. Sämtliche Versuche sind in nüchternem Zustande bei vorsätzlicher Muskelruhe ausgeführt. Die Versuchsperson lag auf einem Liegestuhl und atmete mittels eines Mundstücks und zweier Ventile, so daß die Inspirationsluft aus dem Freien kam, während die Expirationsluft durch die Gasuhr strich, wie das die Zuntz'sche Methode der Respirationmessung erfordert. Die Anzahl der Respirationen stellte die Versuchsperson durch Zählen fest. Jedem Versuche ging mindestens 5 Minuten Voratmung in gleichem Atemtypus voraus. Der Versuch, die Atemgeschwindigkeit nach dem Takte des Metronoms zu regeln, wurde bald aufgegeben. Die Probenahme dauerte bei modifizierter Atmung ca. 5 Minuten, bei normaler Atmung ca. 10 Minuten. Die Ventile hatten die von Durig²⁾ angegebene Form; die Absorption des Sauerstoffs geschah mit der von Durig²⁾ in die Stoffwechselmethodik eingeführten alkalischen Natriumhydrosulfidlösung.

Hinsichtlich der Berechnung der Versuche muß auf einen Punkt näher eingegangen werden. Die Messung des Stoffwechsels durch die Analyse der während kurzer Perioden expirierten Luft hat zur Voraussetzung, daß die in der Lungenluft, in dem Blute und in der Gewebsflüssigkeit aufgestapelte Menge von

¹⁾ Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 109.

²⁾ Diese Zeitschr. 4, 65, 1907.

O₂ und CO₂ am Anfange und am Ende der Probenahme dieselbe sei. Wir nehmen an, daß jener inspirierte Sauerstoff, der in der Expirationsluft nicht wieder erscheint, zu den vitalen Verbrennungen gedient habe, und daß das Kohlendioxyd, mit dem sich die Luft bei der Atmung beladen hat, den Verbrennungen entstammt, die während der Versuchszeit vor sich gehen. Eine andere, etwa physikalische, Retention von Sauerstoff während der Versuchsperiode würde eine Fehlerquelle bilden, ebenso Kohlendioxydmengen, die aus dem Körper in vermehrter Menge abgegeben werden, ohne erhöhten Oxydationsprozessen zu entsprechen.

Derartige Fehlerquellen müssen um so mehr in die Wagschale fallen, je kürzer die einzelnen Versuchsperioden sind; also bei Versuchen nach der Zuntz'schen Methodik überhaupt und insbesondere bei derartigen Versuchen mit willkürlich modifiziertem Atemtypus, die ihrer Natur nach in vielen Fällen nur einige Minuten dauern können. Die Veränderung des Atemtypus bringt aber direkt eine Veränderung der Expirationsluft mit sich, die nur daher rührt, daß die Lungenluft und der Organismus ihren Gehalt an Sauerstoff und Kohlendioxyd ändern. Das nähere Verhalten der im Körper aufgespeicherten Gase bei Veränderung des Atemtypus, oder was für uns hier auf das gleiche herauskommt, bei Veränderungen in der Zusammensetzung der inspirierten Luft, hat Durig¹⁾ eingehend studiert, und seine Resultate zeigen gerade, zu wie weitgehenden Fehlschlüssen diese Fehlerquelle führen kann. Aus seinen Untersuchungen, auf die wir im übrigen verweisen, geht nun hervor, daß sich der Sauerstoffgehalt der Lungenluft und des Organismus nach etwa 3 Minuten den veränderten Respirationsverhältnissen angepaßt hat, während das beim Kohlendioxyd länger dauert. Es kann also etwa nach dieser Zeit wohl das O₂-Defizit, nicht aber der CO₂-Zuwachs als Maß des Stoffwechsels dienen. Zu ähnlichem Resultate kommen auch Bornstein und v. Gartzten.

In diesen Verhältnissen liegt der Grund dafür, warum Versuche mit willkürlich modifiziertem Atemtypus, in denen nur die CO₂-Ausscheidung gemessen wird, keine verlässlichen Resultate für die uns hier beschäftigende Frage geben, worauf

¹⁾ Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1903, Suppl., S. 209.

wir eingangs kurz hingewiesen haben. Auch die schon oben erwähnte Korrektur wurde deshalb von Zuntz und Hagemann an Specks Resultaten angebracht, weil letzterer diesen Verhältnissen nicht Rechnung trug.

Tabelle I.
Normalversuche.

Nr.	Atem- volum pro Minute in l	Atemtiefe in l	O ₂ -Ver- brauch pro Minute in ccm	R. Q.	Energie- umsatz pro Minute in großen Calorien	Abweichung vom Mittel
1	8,08	0,362	223,0	0,764	1,060	+0,015
3	7,62	0,448	216,6	0,843	1,051	+0,006
7	7,15	0,392	222,6	0,789	1,066	+0,021
13	7,89	0,429	223,5	0,787	1,067	+0,022
(17)	(7,27)	(0,365)	(199,5)	(0,851)	(0,970)	
22	7,68	0,378	209,0	0,830	1,011	-0,0034
26	8,33	0,408	209,8	0,911	1,036	-0,0009
30	7,06	0,388	217,3	0,776	1,037	-0,0008
33	7,48	0,410	212,0	0,839	1,028	-0,0016
Mittel (8)	7,66	0,402	216,7		1,0445	

In den hier berichteten Versuchen wurde stets eine „Vor-
atmung“ von ca. 5 Minuten ausgeführt. Es ist mithin, wie
oben ausgeführt, nur der O₂-Wert bei den Versuchen mit
modifizierter Atmung zu verwerten. Daß sich der Organismus
hinsichtlich des CO₂-Gehaltes noch nicht auf den neuen Atem-
typus eingestellt hatte, zeigte sich dadurch, daß der respira-
torische Quotient sehr groß, meist größer als 1, war. Es ist
nun ein wesentlicher Vorteil der von Zuntz eingeführten
Methodik und Berechnungsart der Gaswechselversuche, daß
auf Grund des respiratorischen Quotienten der Energiewert des
Verbrauchten O₂ geschätzt wird. In den hier berichteten Ver-
suchen begann die Versuchsreihe jeden Tag mit einem Normal-
versuch, in dem die Versuchsperson zwanglos durch den Apparat
atmete. Hierauf folgten die Versuche mit modifizierter At-
mung. Es war daher an jedem Tage für die Versuche, die
etwa 2 bis 3 Stunden in Anspruch nahmen, durch den ersten
Versuch ein brauchbarer respiratorischer Quotient gegeben, der
auch zur Berechnung der weiteren Versuche dieses Tages diente.
Die Berechnung des Energiewertes aus den Daten des Re-

spirationsversuches war im übrigen ganz die von Zuntz eingeführte.¹⁾

Die Resultate der Versuche sind in der am Schlusse angefügten Generaltabelle mitgeteilt. Die vorhergehende Tabelle I gibt eine Übersicht der Normalversuche. Sieht man von dem Versuche Nr. 17 ab, der bei den weiteren Berechnungen vernachlässigt wurde, so zeigt die Reihe ziemlich gute Übereinstimmung und normale Werte.

Tabelle II.

Sauerstoffverbrauch in den Versuchen mit verstärkter Atmung (nach dem Minutenvolum und der Atemtiefe geordnet).

Nr.	Liter pro Minute	I.		II.		III.		IV.	
		Versuche mit einer Atemtiefe bis zu 0,40 l		Versuche mit einer Atemtiefe zwisch. 0,40 und 0,85 l		Versuche mit einer Atemtiefe zwisch. 0,85 und 1,30 l		Versuche mit einer Atemtiefe von mehr als 1,3 l	
		Liter pro Atemzug	O ₂ ccm pro Min.	Liter pro Atemzug	O ₂ ccm pro Min.	Liter pro Atemzug	O ₂ ccm pro Min.	Liter pro Atemzug	O ₂ ccm pro Min.
18	12,3	0,210	220	—	—	—	—	—	—
(34)	(15,7)	(0,216)	(262)	—	—	—	—	—	—
19	16,1	0,229	245	—	—	—	—	—	—
20	16,1	0,237	229	—	—	—	—	—	—
36	16,3	—	—	—	—	—	—	1,799	314
27	16,5	—	—	—	—	1,240	249	—	—
23	16,5	0,442	236	—	—	—	—	—	—
8	17,3	—	—	—	—	1,200	270	—	—
14	17,5	0,312	254	—	—	—	—	—	—
21	18,1	—	—	0,770	222	—	—	—	—
31	18,15	0,239	247	—	—	—	—	—	—
24	18,7	0,228	243	—	—	—	—	—	—
25	20,1	—	—	0,809	228	—	—	—	—
29	21,0	0,205	203	—	—	—	—	—	—
35	21,6	—	—	—	—	—	—	1,624	310
4	22,1	—	—	—	—	1,246	271	—	—
2	24,9	—	—	—	—	—	—	1,505	330
12	25,0	—	—	0,402	263	—	—	—	—
11	25,2	—	—	0,466	280	—	—	—	—
(9)	(27,0)	—	—	—	—	(0,973)	(338)	—	—
5	28,1	—	—	—	—	—	—	1,512	327
32	28,2	—	—	—	—	—	—	1,978	333
28	28,8	—	—	—	—	—	—	1,584	322
6	30,1	—	—	0,594	292	—	—	—	—
15	32,9	—	—	0,809	273	—	—	—	—
10	38,0	—	—	—	—	—	—	1,322	316
16	39,5	—	—	—	—	1,115	351	—	—

Über den Einfluß modifizierter Atmung auf den Sauerstoffverbrauch gibt zunächst Tabelle II Aufschluß. Die Modi-

¹⁾ Siehe beispielsweise Magnus-Levy im Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. v. Noorden. 1, 203ff.

fikation der Atmung war, wie schon erwähnt, eine zweifache. Das höhere Minutenvolumen war teils durch Vermehrung, teils durch Vertiefung der Atemzüge hervorgerufen. Von selbst ergaben sich dabei noch vielfache Übergänge. Einige Lücken wurden dadurch ausgefüllt, daß in einer längeren Vorperiode die Atmung so lange modifiziert wurde, bis ein bestimmter Typus erreicht war. Um die Wirkung der beiden Faktoren, Vertiefung und Beschleunigung, zu zeigen, sind in Tabelle II die Versuche nach doppeltem Prinzip geordnet. In vertikaler Richtung folgen die Versuche nach steigendem Minutenvolumen aufeinander. In die vier Hauptkolonnen, die auf die Angabe des Minutenvolumens folgen, sind die Versuche je nach der Atemtiefe eingetragen. In der ersten Kolonne sind nur jene Versuche aufgenommen, in welchen pro Atemzug weniger als 400 ccm (unreduziert) ausgeatmet wurden. Die zweite Hauptkolonne enthält die Versuche mit der Atemtiefe 400 bis 850 ccm, die dritte zwischen 850 und 1300 ccm, die vierte mit mehr als 1300 ccm. Jede dieser Hauptkolonnen zerfällt wiederum in zwei Teile. Die erste gibt die Atemtiefe an, die zweite zeigt fettgedruckt den pro Minute verbrauchten Sauerstoff.

Die Betrachtung dieser Tabelle läßt erkennen, daß die zur Verstärkung der Atmung nötige Energie nicht bloß eine Funktion dieser Verstärkung ist, sondern daß sie auch wesentlich vom Atemtypus beeinflußt wird. Die Zahlen für den Sauerstoffverbrauch wachsen in unserer Tabelle II nicht nur von oben nach unten (also mit dem Minutenvolumen), sondern auch von links nach rechts (also bei gleichbleibendem Minutenvolumen auch mit der Atemtiefe). Selbstverständlich gibt es dabei einige größere und kleinere Abweichungen bei einzelnen Versuchen. Ist das schon bei derartigen physiologischen Versuchen überhaupt kaum vermeidlich, so muß man hier bedenken, daß es auch nicht ganz leicht ist, eine einmal gewählte, willkürliche Modifikation der Atmung durch mehrere Minuten vollkommen gleichmäßig durchzuführen. Die Versuche Nr. 9 und 34, deren abweichende Resultate in Tabelle II besonders auffallen, haben wir ebenso wie den eben schon erwähnten Normalversuch Nr. 17 für die nunmehr zu besprechenden weiteren Berechnungen nicht verwendet.

Wir haben uns bemüht, für die Abhängigkeit des Energieverbrauchs von der Atmung einen mathematischen Ausdruck zu finden, was, wie schon erwähnt, auch Zuntz und Hagemann anstreben. Die hier mitgeteilten Versuche bieten den Vorteil, daß unsere Formeln auch den Einfluß des Atemtypus ausdrücken können.

Wenn wir zunächst diese Abhängigkeit des Energieverbrauchs von der Atemtiefe außer acht lassen und den Energieverbrauch pro Minute ausschließlich als lineare Funktion des Minutenvolums ansehen, so erhalten wir die Formel:

$$s = A + Bv.$$

(Dabei bedeutet s die während einer Minute entwickelte Energie und v das Volumen der in der gleichen Zeit ausgeatmeten Menge). Diese Art der Auffassung ermöglicht den Vergleich unserer Resultate mit denen früherer Autoren und illustriert außerdem im Zusammenhang mit einer Berechnungsart, die auch die Atemtiefe berücksichtigt, den Unterschied in der Genauigkeit der Abschätzung der auf die Atmung entfallenden Energie nach beiden Arten.

Die einfachste Art der Mitberücksichtigung der Atemtiefe ist die, daß der Energieverbrauch (s) gleichzeitig als lineare Funktion des Minutenvolums (v) und der Atemtiefe (t) aufgefaßt wird. Dies entspricht also der Formel: $s = A + Bv + Ct$. Dadurch, daß wir nun die 33 Einzelbeobachtungen, die uns nach Weglassung der oben erwähnten Versuche Nr. 9, 17 und 34 übrig bleiben, nach der Methode der kleinsten Quadrate auf die genannten zwei Formeln ausglich, nahmen diese folgende Gestalt an:

$$s = 0,915 + 0,0177 v, \quad (\text{Formel I})$$

$$s = 0,879 + 0,0105 v + 0,226 t. \quad (\text{Formel II})$$

Tabelle III zeigt nun das Ergebnis dieser Berechnungen. Bei jedem Versuche ist außer der Atemtiefe und dem Minutenvolumen zuerst der aus den analytischen Daten in üblicher Weise berechnete Energiewert als „gefunden“ angegeben. Hierauf folgen die nach den beiden Formeln berechneten Werte jedesmal mit der Abweichung des Gefundenen vom Berechneten. Die Reihenfolge der Versuche ist nach steigender Atemtiefe geordnet. Die Tabelle läßt nun sofort erkennen, daß bei der Formel I am Anfange der betreffenden Vertikalkolonnen lauter

Tabelle III.

Energieverbrauch pro Minute in großen Calorien (nach der Atemtiefe geordnet).

Nummer	Atemtiefe in l	Minutenvolumen in l	Calorien gefunden	Calorien berechnet nach Formel I	Differenz	Calorien berechnet nach Formel II	Differenz
29	0,05	20,97	1,005	1,285	-0,279	1,146	-0,141
18	0,210	12,26	1,070	1,131	-0,061	1,056	+0,014
24	0,228	18,74	1,175	1,245	-0,070	1,128	+0,047
19	0,229	16,11	1,190	1,199	-0,009	1,101	+0,089
20	0,237	16,12	1,113	1,200	-0,087	1,102	+0,011
31	0,239	18,15	1,179	1,235	-0,056	1,124	+0,055
23	0,242	16,54	1,140	1,207	-0,067	1,144	-0,004
14	0,312	17,57	1,216	1,216	-0,009	1,135	+0,081
1	0,362	8,08	1,060	1,057	-0,003	1,046	+0,014
22	0,378	7,68	1,011	1,050	-0,039	1,014	-0,003
30	0,388	7,06	1,037	1,042	-0,005	1,042	-0,005
7	0,392	7,15	1,066	1,041	+0,025	1,044	+0,022
12	0,402	24,95	1,253	1,355	-0,102	1,233	+0,020
26	0,408	7,48	1,036	1,062	-0,025	1,059	-0,023
33	0,410	7,48	1,028	1,047	+0,049	1,051	-0,023
13	0,429	7,89	1,067	1,054	+0,013	1,060	+0,007
3	0,448	7,62	1,051	1,051	-0,002	1,061	-0,010
11	0,466	25,15	1,341	1,359	-0,018	1,250	+0,091
6	0,594	30,13	1,427	1,447	-0,020	1,331	+0,096
21	0,770	18,08	1,082	1,234	-0,152	1,244	-0,162
25	0,809	20,10	1,101	1,270	-0,169	1,274	-0,173
15	0,809	32,94	1,308	1,496	-0,193	1,409	-0,106
16	1,115	39,46	1,679	1,611	+0,068	1,547	+0,132
8	1,200	17,28	1,292	1,220	+0,072	1,332	-0,040
27	1,240	16,53	1,228	1,206	+0,022	1,334	-0,106
4	1,246	22,13	1,319	1,305	+0,014	1,394	-0,075
10	1,322	38,08	1,512	1,587	-0,075	1,579	-0,067
2	1,505	24,88	1,572	1,354	+0,218	1,482	+0,090
5	1,512	28,12	1,590	1,411	+0,179	1,518	+0,072
28	1,584	28,84	1,593	1,424	+0,169	1,542	+0,051
35	1,624	21,64	1,506	1,297	+0,209	1,475	+0,031
36	1,799	16,28	1,526	1,202	+0,324	1,458	+0,068
32	1,978	28,22	1,587	1,413	+0,174	1,624	-0,037
Summe der Abweichungen . . .					+1,492 -1,485		+0,981 -0,975
Durchschnittliche Abweichung . .					+0,0903		+0,0593
Mittlere Abweichung der einzelnen Beobachtung					+0,1283		+0,0791

negative Abweichungen sind, am Ende lauter positive. Wir sehen also auch hier bestätigt, daß es abgesehen von der Abhängigkeit vom Minutenvolumen auch eine solche von der Atemtiefe gibt, und zwar in dem Sinne, daß Vertiefung der Atmung auch abgesehen von der dadurch hervorgebrachten

Vergrößerung des Minutenvolumens eine Vermehrung des Energieverbrauchs zur Folge hat. Wir haben ferner in der Tabelle III auch je zwei nach den Regeln der Fehlerausgleichsrechnung gefundenen Genauigkeitsmaße angegeben und zwar den „durchschnittlichen Fehler“ $\left(\frac{\sum |\lambda_i|}{n}\right)$ und den „mittleren Fehler“ $\left(\frac{\sum (\lambda^2)}{n-u}\right)$. (Dabei bedeutet λ die einzelne Abweichung, n die Zahl der Einzelbeobachtungen, also in unserem Falle 33, und u die Zahl der durch die Ausgleichsrechnung ermittelten Unbekannten, also in unserem Falle bei Formel I: 2 und bei Formel II: 3.) Auch der Vergleich dieser Werte zeigt die große Überlegenheit der Formel II über die Formel I, also mit anderen Worten, die Wichtigkeit der Berücksichtigung der Atemtiefe bei Abschätzung des auf die Atemarbeit entfallenden Energieverbrauchs.

Wir haben uns weiterhin bemüht, ähnlich wie Zuntz und Hagemann dies taten, durch kompliziertere Formeln einen mehr adäquaten Ausdruck für die in Rede stehende Abhängigkeit zu finden. Wir kamen so unter anderen (bei Verwendung von abgekürzten Zahlen) noch zu folgenden Formeln:

$$s = 1,008 + 0,006 v + 0,00017 v^2 - 0,14 t + 0,18 t^2,$$

$$s = 0,869 + 0,024 v + 0,56 t - 0,135 \sqrt{vt},$$

$$s = 0,764 + 0,0031 z + 0,0057 tz + 0,354 t.$$

(In der zuletzt genannten Formel bedeutet z die Zahl der Respirationen pro Minute, tz also dasselbe wie in den früheren Versuchen v .)

Wir haben uns jedoch davon überzeugt, daß durch diese komplizierteren Formeln keine wesentlich bessere Übereinstimmung zwischen dem Gefundenen und dem Berechneten erreicht wird. Das Ergebnis dieser Betrachtungen läßt sich daher dahin zusammenfassen, daß wir die Formel II vorläufig als den besten Ausdruck für die Abhängigkeit der Energieentwicklung von der Atemarbeit ansehen müssen. Wenn wir dieser Formel zu jeder der gefundenen Zahlen auch noch ihren „mittleren Fehler“ als Fehlergrenze hinzufügen, so nimmt sie folgende Form an:

$$s = 0,879 \pm 0,034 + (0,0105 \pm 0,0018) v + (0,226 \pm 0,030) t.$$

Wir sind uns bei Aufstellung dieser Formel bewußt, daß sie nur einen relativen Wert haben kann; denn einerseits ist sie nur an einer einzigen Versuchsperson gewonnen, andererseits ist das ihr zugrunde liegende Versuchsmaterial noch kein sehr reichliches. Zur Aufstellung einer genaueren Formel würde es noch zahlreicher Versuche bedürfen. Das ist um so mehr der Fall, als in derartigen Versuchen sich einige unregelmäßige Schwankungen nicht vermeiden lassen. Es ist natürlich möglich, daß die Formel für ein kleines Gebiet des untersuchten Argumentintervalles weniger paßt als für den übrigen Teil. Das würde sich darin ausdrücken, daß in diesem Gebiete die Differenzen zwischen den gefundenen und den berechneten Werten besonders groß ausfallen würden. In unserem Falle überschreitet diese Differenz 6mal die Größe 0,1 Calorien. Davon 2mal nur sehr wenig (0,106). Die übrigen 4 Fälle wollen wir etwas genauer betrachten. 2 Fälle stellen Extreme vor. Im Versuche Nr. 16 haben wir das größte in unserer Versuchsreihe überhaupt erreichte Minutenvolum (39,5 l). Der gefundene Wert ist hier um 0,132 Calorien (7,9% des Gefundenen) größer als der berechnete. Im Versuche Nr. 29 haben wir die kleinste erreichte Atemtiefe (0,205 l pro Atemzug). Der gefundene Wert ist um 0,141 Calorien (14,1%) kleiner als der berechnete. In diesem Versuche wurde die besonders große Anzahl 102,5 Atemzüge pro Minute festgestellt. Diese beiden Abweichungen deuten also nur darauf hin, daß besonders starke Änderungen in der Art zu atmen vielleicht stärkere Ausschläge hervorrufen, als die Formel angibt. Was den zuletzt genannten Versuch anlangt, ist zu bemerken, daß es der einzige Versuch mit modifizierter Atmung ist, in dem Sauerstoffverbrauch und Energieentwicklung kleiner sind als im Durchschnitt der Normalversuche. Diejenigen Versuche, die diesem Falle hinsichtlich des Atemtypus am nächsten kommen (s. Tabelle II), das sind solche, in denen die Atemtiefe kleiner ist als bei natürlichem Atmen, und das Minutenvolum zwischen 12 und 21 l liegt, zeigen alle annähernd den gleichen Energieverbrauch wie in der Norm. Damit stimmen die nach der Formel berechneten Werte ziemlich gut überein. In 6 von den weiteren 7 hierher gehörigen Versuchen ist der gefundene Wert noch etwas höher als der berechnete, und im 7. ist die Differenz sehr gering. (— 0,004). Es kann also aus der Abweichung des Versuches Nr. 29 nicht darauf geschlossen werden, daß etwa die entwickelte Formel (II) für diese Versuche mit geringer Atemtiefe und mäßig erhöhtem Minutenvolum weniger passe als für die Gesamtheit der Versuche. Von den vier Experimenten mit besonders großer Differenz zwischen gefundenem und berechnetem Werte bleiben mithin noch zwei zu erwähnen übrig. Es sind dies die Versuche Nr. 21 und 25, bei welchen diese Differenz dem absoluten Werte nach ihr Maximum erreicht (— 0,162 und — 0,173 oder 10,5 und 10,6%). Diese 2 Versuche zeigen, wie aus Tabelle II ersichtlich, den gleichen Atemtypus. Das Minutenvolum ist hier mäßig erhöht, ungefähr ebenso wie bei den eben erwähnten 8 Versuchen, die Atemtiefe aber im Gegensatz zu jenen Versuchen etwas größer als bei natürlichem Atmen. Da für diesen Atemtypus keine weiteren Versuche vorliegen, so

bleibt immerhin die Möglichkeit offen, daß bei diesem Minutenvolum die Steigerung der Atemtiefe nicht jene Wirkung hat, die ihr unsere Formel zuspricht. Sieht man von diesen 2 Versuchen und von dem Versuche Nr. 29 mit mehr als 100 Atemzügen pro Minute ab, so ist bei unseren Untersuchungen die besprochene Differenz zwischen berechnetem und gefundenem Werte stets kleiner als 9% des gefundenen Gesamtenergieverbrauchs, und zwar fast immer bedeutend kleiner.

Das erste Glied unserer Formel II (0,879) stellt jenen Energieverbrauch dar, der sich ergibt, wenn v und t gleich 0 werden. Die Differenz zwischen diesem Werte und dem Mittelwerte aus den Normalversuchen, d. i. 1,0445, stellt mithin den auf die Atemarbeit bei vollständiger Ruhe und ungezwungenem Atmen entfallenden Verbrauch vor. Er beträgt, wie man sieht, ungefähr 15,5%.

Zum Vergleiche unserer Werte mit denen früherer Autoren eignet sich nach dem Gesagten hauptsächlich die Formel I, weil die früheren Autoren den durch die Atemarbeit hervorgerufenen Energieverbrauch stets nur als Funktion der geatmeten Luftmenge betrachteten. Die Formel I besagt also, daß auf 1 l mehr geatmeter Luft 19,7 kleine Calorien entfallen. Wir wollen diesen Wert mit einigen früher gefundenen vergleichen. Bornstein und v. Gartzzen finden auch für denjenigen von ihnen, der den geringeren Verbrauch hatte (B), 23 Calorien. Bei Loewy schwankt der pro Liter mehr verbrauchte Sauerstoff in der Mehrzahl der Fälle zwischen 3 und 7 ccm, was etwa einem Energieverbrauch von 13 bis 31 kleinen Calorien entspricht. Unser Wert fällt, wie man sieht, innerhalb dieser allerdings recht weiten Grenzen. Ziemlich gut stimmt unser Wert mit dem von Zuntz und Hagemann¹⁾ am Pferde gefundenen überein. Ihr Pferd III verbrauchte im Mittel von 10 Versuchen mit verstärkter Atmung pro Liter mehr ausgeatmeter Luft 3,62 ccm Sauerstoff mehr, wobei die einzelnen Versuchswerte allerdings ziemlich voneinander abweichen. Nimmt man einen durchschnittlichen respiratorischen Quotienten von 0,800 an, so entspricht das einem Energieverbrauch von 17,4 Calorien.

Aus unseren Befunden hinsichtlich der Wirkung der Atemtiefe geht hervor, daß eine bestimmte Vermehrung der geatmeten Luftmenge mit weniger Energieaufwand vor sich geht,

¹⁾ l. c. S. 366.

wenn die Frequenz der Atemzüge erhöht wird, als wenn ihre Tiefe zunimmt. Wenn die Steigerung der Atmung unwillkürlich erfolgt, wie beispielsweise bei der Arbeit, so kommt es aber für das Resultat der Atemtätigkeit nicht darauf an, daß ein bestimmtes Luftquantum eingeatmet wird, sondern darauf, daß dem Blute in der Lunge die Möglichkeit geboten wird, das vermehrte Kohlendioxyd möglichst rasch abzuscheiden und den mangelnden Sauerstoff möglichst rasch zu ersetzen. Hierfür ist es aber keineswegs gleichgültig, ob eine Vermehrung des geatmeten Luftvolumens auch mit Vertiefung der Atemzüge einhergeht oder nicht. Die Inspiration führt nicht zu einer vollständigen Erneuerung der Lungenluft, sondern nur zu einer Vermischung des inspirierten Gases mit der Residualluft und der Reserveluft, die CO_2 -reicher und O_2 -ärmer sind als die atmosphärische Luft. Je öfter und je flacher respiriert wird, um ein gewisses Minutenvolum zu erzielen, um so tiefer sinkt die O_2 -Tension und um so höher steigt die CO_2 -Tension in den Lungenalveolen an, um so ungünstiger ist also die Zusammensetzung der Lungenluft. Bei geringerer Atemtiefe ist daher ein größeres Minutenvolum dazu nötig, denjenigen CO_2 - und O_2 -Gehalt in den Alveolen zu bewirken, der sich bei tieferem Atmen (das gleiche Atembedürfnis vorausgesetzt) schon bei kleinerem Minutenvolum einstellen muß.

Zur Illustration des Gesagten diene Tabelle IV, aus der die Zusammensetzung der Alveolenluft bei unseren Versuchen ersichtlich ist. Die Berechnung geschah nach A. Loewy¹⁾ unter der Annahme eines schädlichen Raumes von 140 ccm. Die Anordnung der Tabelle ist die gleiche wie die der Tabelle II; doch sind hier auch die Normalversuche eingetragen, aber die Versuche Nr. 9, 17 und 34 weggelassen (s. oben). Nach dem früher Gesagten müssen wir unser Augenmerk hauptsächlich den Sauerstoffwerten zuwenden. Bei den Normalversuchen schwankt naturgemäß die Atemtiefe nur sehr wenig; trotzdem sehen wir den Sauerstoffgehalt der Alveolenluft in deutlicher Abhängigkeit nicht nur von dem Minutenvolum, sondern auch von der Atemtiefe. Das gleiche Verhalten zeigen die Versuche mit Vermehrung der Atemtiefe bis zu 21 l. Von da ab tritt der Einfluß

¹⁾ Pflügers Archiv 58, 416, 1894.

Tabelle IV.

O₂- und CO₂-Gehalt der Lungenluft (Versuche nach dem Minutenvolum und der Atemtiefe geordnet).

Nr.	Mi- nuten- volum in l	I. Versuche mit einer Atemtiefe bis zu 0,40 l			II. Versuche mit einer Atemtiefe zwisch. 0,40 und 0,85 l			III. Versuche mit einer Atemtiefe zwisch. 0,85 und 1,30 l			IV. Versuche mit einer Atemtiefe von mehr als 1,30 l			Nr.
		Atem- tiefe in l	O ₂ % %	CO ₂ % %	Atem- tiefe in l	O ₂ % %	CO ₂ % %	Atem- tiefe in l	O ₂ % %	CO ₂ % %	Atem- tiefe in l	O ₂ % %	CO ₂ % %	
30	7,1	0,388	15,87	4,14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Normalversuche
7	7,15	0,392	15,93	4,16	—	—	—	—	—	—	—	—	7	
33	7,5	—	—	—	0,410	16,24	4,05	—	—	—	—	—	33	
3	7,6	—	—	—	0,448	16,44	3,94	—	—	—	—	—	3	
22	7,7	0,378	16,25	3,98	—	—	—	—	—	—	—	—	22	
13	7,9	—	—	—	0,429	16,46	3,70	—	—	—	—	—	13	
1	8,1	0,362	16,11	3,89	—	—	—	—	—	—	—	—	1	
26	8,3	—	—	—	0,408	16,73	3,93	—	—	—	—	—	26	
18	12,3	0,210	15,13	4,86	—	—	—	—	—	—	—	—	18	
19	16,1	0,229	16,75	3,30	—	—	—	—	—	—	—	—	19	
20	16,1	0,237	17,18	3,21	—	—	—	—	—	—	—	—	20	
36	16,3	—	—	—	—	—	—	—	—	1,799	18,59	2,36	36	
27	16,5	—	—	—	—	—	—	1,240	18,93	2,43	—	—	27	
23	16,5	0,242	17,38	2,85	—	—	—	—	—	—	—	—	23	
8	17,3	—	—	—	—	—	—	1,200	18,84	2,77	—	—	8	
14	17,5	0,312	18,16	2,21	—	—	—	—	—	—	—	—	14	
21	18,1	—	—	—	0,770	19,13	2,17	—	—	—	—	—	21	
31	18,5	0,239	17,41	3,17	—	—	—	—	—	—	—	—	31	
24	18,7	0,228	17,47	2,65	—	—	—	—	—	—	—	—	24	
25	20,1	—	—	—	0,809	19,31	1,96	—	—	—	—	—	25	
29	21,0	0,205	16,97	2,68	—	—	—	—	—	—	—	—	29	
35	21,6	—	—	—	—	—	—	—	—	1,624	19,08	2,22	35	
4	22,1	—	—	—	—	—	—	1,246	19,27	2,08	—	—	4	
2	24,9	—	—	—	—	—	—	—	—	1,505	19,23	2,05	2	
12	25,0	—	—	—	0,402	19,14	1,95	—	—	—	—	—	12	
11	25,0	—	—	—	0,466	19,18	1,85	—	—	—	—	—	11	
5	28,1	—	—	—	—	—	—	—	—	1,512	19,41	1,81	5	
32	28,2	—	—	—	—	—	—	—	—	1,978	19,39	2,06	32	
28	28,8	—	—	—	—	—	—	—	—	1,584	18,48	1,74	28	
6	30,1	—	—	—	0,594	19,48	1,74	—	—	—	—	—	6	
15	32,9	—	—	—	0,809	19,72	1,60	—	—	—	—	—	15	
10	38,0	—	—	—	—	—	—	—	—	1,312	19,88	1,21	10	
16	39,5	—	—	—	—	—	—	1,115	19,75	1,34	—	—	16	

der Atemtiefe nicht mehr deutlich hervor. Die Erklärung dafür liegt wohl darin, daß sich die Alveolenluft, je mehr die Atmung über das Bedürfnis forciert wird, in ihrer Zusammensetzung der Inspirationsluft nähert; um so weniger können daher hier die feineren Unterschiede, die durch den Atemtypus bedingt sind, zum Ausdruck kommen.

Die Zusammensetzung der Alveolenluft bestimmt aber in erster Linie den Gasgehalt des Blutes. (Wir sehen hier von der von Bohr angenommenen Gassekretion in der Lunge ab.) Der Gasgehalt des arteriellen Blutes aber ist, wie wir wissen, das hauptsächlichste Moment, nach dem das Nervensystem die Atmung auf das genaueste reguliert. Es wäre demnach unrichtig, aus unseren Versuchen zu folgern, daß die Befriedigung eines erhöhten Atembedürfnisses durch Beschleunigung der Atemzüge ökonomischer erfolge als durch Vertiefung. Überdies konnte in unseren Versuchen durch maximale Atembeschleunigung (102,53 Atemzüge in der Minute) nur ein Minutenvolum von 21 l (Versuch Nr. 29) erreicht werden. In der Tat wissen wir, daß bei unwillkürlicher Steigerung der Atemtätigkeit, beispielsweise bei der Arbeit, stets sowohl die Zahl als auch die Tiefe der Atemzüge wächst.

Der aus Tabelle IV ersichtliche CO_2 -Gehalt der Lungenluft kann zur Beurteilung einer anderen Frage herangezogen werden. Unsere Versuche gaben nämlich zu einer merkwürdigen Beobachtung Veranlassung, die wir noch nicht erwähnt haben. Zwischen den Versuchen mit vertiefter und jenen mit beschleunigter Atmung machte sich ein überraschender Unterschied hinsichtlich der subjektiven Gefühle geltend. Gegen Schluß der Versuche mit forcierter Atemtiefe traten auffallende, unangenehme Empfindungen auf, die in Schwindel, dem Gefühle des Ameisenlaufens in den Extremitäten und im Gesichte (besonders an der Stelle, wo die Nasenklemme saß), ferner in tonischen Krämpfen in der Hand bestanden. Diese Zustände hielten manchmal einige Minuten nach Schluß der Versuche an. Gleichzeitig zeigte sich ein auffallend kleiner, fast nicht tastbarer Puls. Merkwürdigerweise findet sich in der Literatur sehr wenig über derartige Erscheinungen. Es bemerken zwar mehrere Versuchsansteller, daß sich die willkürlich modifizierte Atmung nicht lange durchführen läßt, ohne jedoch darauf näher einzugehen. Speck¹⁾, der die Atmung in zahlreichen Selbstversuchen studierte und in dem sich selbst auferlegten Zwange sehr weit ging, bemerkt nebenbei, daß am Ende eines Versuches (Nr. 441), in dem das forcierte Atmen mit Aufbieten

¹⁾ l. c. S. 25.

aller Energie $3\frac{1}{2}$ Minuten fortgesetzt wurde, der Kopf so eingenommen war, daß ein halb bewußtloser Zustand eintrat. In jüngster Zeit hat Yandell Henderson¹⁾ hervorgehoben, daß vertiefte Atmung zum Shock führen kann. Er erwähnt, daß schon die Vedanta vertiefte Atmung als ein Mittel angibt, um die Herztätigkeit zu ändern, um Unempfindlichkeit gegen Schmerz, ja selbst Bewußtlosigkeit hervorzurufen und seelische Exaltation und Halluzinationen zu verursachen. Henderson führt den ganzen Erscheinungskomplex auf Akapnie, d. h. Mangel an CO_2 im Organismus, zurück. Für diese Annahme kann man in unseren Versuchen eine Bestätigung suchen. Sie müßte sich bei Tabelle IV darin ausdrücken, daß die Versuche mit vertiefter Atmung wesentlich geringere CO_2 -Werte aufweisen als die Versuche mit beschleunigter Atmung. Denn die abnormen Sensationen traten stets in den Versuchen mit vertiefter Atmung auf und fehlten in den Versuchen mit beschleunigter Atmung. Die Tabelle zeigt jedoch diesen scharfen Unterschied im CO_2 -Gehalt der Lungenluft bei den beiden Gruppen von Versuchen nicht. Während beispielsweise bei Nr. 36, 27, 8, 35, 4 und 28 trotz der vermehrten Atemtiefe der Kohlendioxyd-Gehalt größer als 2 % ist, sinkt er bei Nr. 25, 12 und 11 unter diese Größe, obzwar das Versuche mit verminderter Atemtiefe sind. Die Versuche sprechen also nicht für die erwähnte Anschauung Hendersons, und man wird die Ursache für die abnormen Erscheinungen bei vertiefter Atmung, die Speck und wir am Menschen, Henderson am Tiere beobachteten, wohl auf andere Ursachen zurückführen müssen. Möglicherweise ist es der Widerstand gegen die Regulierung der Atembewegungen, die diese Erscheinung mit sich bringt. Wir müssen aber betonen, daß unsere Resultate, sofern sie sich auf diese Erscheinungen beziehen, nur ein Nebenergebnis unserer Arbeit sind, da die Versuche, die wir speziell in dieser Richtung anzustellen beabsichtigten, bisher unausgeführt geblieben sind.

¹⁾ The Amer. Journ. of Physiol. 21, 126, 1908.

Generaltabelle.

Nr.	Datum	Atemvolum pro Min. in l		Respi- ration- en pro Min.	Atem- tiefe in l	Zusammen- setzung der Expira- tionsluft		O ₂ - Ver- brauch pro Min. in ccm	R. Q.	Ene- gieum- satz pro Min. in großen Calo- rien
		beob- achtet	redu- ziert			O ₂ %	CO ₂ %			
1	15. IV. 09	8,08	7,22	22,3	0,36	17,97	2,40	223,0	0,764	1,060
2	"	24,88	22,64	16,5	1,51	19,39	1,86	330,5		1,572
3	25. IV. 09	7,62	6,79	17,1	0,45	17,84	2,72	216,6	0,843	1,051
4	"	22,13	19,69	18,8	1,25	19,45	1,85	271,7		1,319
5	"	28,12	25,01	18,6	1,51	19,55	1,65	327,5		1,590
6	"	30,13	26,78	50,7	0,59	19,77	1,43	291,9		1,427
7	29. IV. 09	7,15	6,63	18,3	0,39	17,71	2,68	222,6	0,789	1,066
8	"	17,28	15,97	14,4	1,20	19,08	2,45	269,9		1,292
9	"	26,97	24,86	27,7	0,97	19,52	1,61	338,2		1,619
10	"	38,00	35,08	28,8	1,32	19,99	1,09	315,8		1,512
11	"	25,15	23,16	52,7	0,47	19,70	1,30	280,2		1,341
12	"	24,95	22,96	62,1	0,40	19,76	1,29	262,8		1,253
13	1. V. 09	7,89	7,10	18,4	0,43	17,92	2,50	223,5	0,787	1,067
14	"	17,57	15,79	56,3	0,31	19,40	1,23	254,2		1,216
15	"	32,94	29,60	40,7	0,81	19,93	1,33	272,3		1,303
16	"	39,46	35,44	35,4	1,12	19,90	1,18	350,9		1,679
17	3. V. 09	7,27	6,46	19,9	0,37	17,93	2,66	199,5	0,851	0,970
18	"	12,26	10,89	58,4	0,21	18,99	1,64	219,9		1,070
19	"	16,11	14,22	70,2	0,23	19,30	1,30	244,7		1,190
20	"	16,12	14,29	68,2	0,24	19,39	1,33	228,7		1,113
21	"	18,08	16,00	23,5	0,77	19,46	1,78	222,4		1,082
22	5. V. 09	7,68	6,97	20,3	0,38	17,98	2,52	209,0	0,830	1,011
23	"	16,54	15,00	68,4	0,24	19,43	1,22	235,6		1,140
24	"	18,74	16,99	82,3	0,23	19,59	1,04	243,0		1,175
25	"	20,10	18,06	24,9	0,81	19,59	1,63	227,6		1,101
26	10. V. 09	8,33	7,47	20,4	0,41	18,17	2,59	209,8	0,911	1,036
27	"	16,53	14,80	13,3	1,24	19,15	2,16	248,7		1,228
28	"	28,84	25,82	18,2	1,58	19,61	1,69	322,7		1,593
29	"	20,97	18,76	102,5	0,21	19,67	0,87	202,7		1,005
30	11. V. 09	7,06	6,41	18,2	0,39	17,69	2,66	217,3	0,776	1,037
31	"	18,15	16,46	75,9	0,24	19,47	1,33	246,9		1,179
32	"	28,22	25,59	14,3	1,98	19,50	1,92	332,7		1,587
33	13. V. 09	7,48	6,71	18,2	0,41	17,84	2,68	212,0	0,839	1,028
34	"	15,69	14,07	72,7	0,22	19,14	1,51	261,6		1,269
35	"	21,64	19,38	13,3	1,62	19,24	2,03	310,1		1,506
36	"	16,28	14,57	9,1	1,80	18,77	2,18	314,6		1,526

Beitrag zur Kenntnis des Nucleoproteids der Milz.

Von

T. Sato aus Tokio.

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der
Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1909.)

Nachdem das Nucleoproteid der Leber ein Objekt gründlicher Untersuchungen geworden war, lenkte auch dasjenige der Milz die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich. Da das Nucleoproteid vielfach nicht als eine einheitliche Verbindung aufgefaßt wird, so empfiehlt es sich, Präparate verschiedener Darstellung und namentlich solche aus verschiedenen Organen vergleichend zu untersuchen. Nun habe ich auf Anregung und Leitung des Herrn Prof. Salkowski einige Untersuchungen über das Nucleoproteid der Rindermilz vorgenommen, die ich im folgenden mitteilen möchte.

1. Darstellung.

Die Darstellung der Substanz aus der Rindermilz geschah nach der Methode, wie sie Hammarsten¹⁾ und nach ihm Wohlgemuth²⁾ in seiner Arbeit über das Nucleoproteid der Leber, und Capezzuoli³⁾ über das der Milz beschrieben hatte.

Die ganze Milz eines Rindes wurde möglichst von der bindegewebigen Kapsel befreit, mit destilliertem Wasser wiederholt gewaschen, fein zerhackt, gewogen und mit 1,5 bis 2 l destillierten Wassers 15 Minuten lang gekocht, eine halbe bis eine volle Stunde stehen gelassen, durch Filtrierpapier filtriert, und mit warmem, destilliertem Wasser nachgewaschen.

¹⁾ Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 19.

²⁾ Wohlgemuth, Ebenda 37, 475.

³⁾ Capezzuoli, Ebenda 60, 10.

Das Filtrieren mußte mitunter wiederholt werden, da das erste Filtrat nicht ganz klar war. Die Anwendung eines Leinwandfilters ist nicht zu empfehlen, weil die Geschwindigkeit der Filtration dadurch keineswegs vergrößert und die nachträgliche Filtration durch Filtrierpapier nicht erleichtert wird.

Das klare Filtrat wurde gemessen, vorsichtig mit Essigsäure (30%ig) angesäuert, solange sich noch ein Niederschlag bildete. Am nächsten Tage wurde die obere klare Schicht nochmals durch Zusatz von ein paar Tropfen Essigsäure geprüft, ob wirklich kein Niederschlag mehr entstand. Nun wird die Flüssigkeit filtriert, was viel rascher vor sich geht als das erstmal, der Rückstand, das Nucleoproteid, mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen, dann durch längere und wiederholte Behandlung mit Alkohol absolut und Äther entwässert und entfettet. Das ätherfeuchte Präparat wurde zwischen Filtrierpapierlagen abgedrückt, dann in der Reibschale unter Vermeidung von Andrücken trocken gerieben. So dargestellt, bildete das Nucleoproteid ein staubfeines, schwach gelblich gefärbtes, leicht stäubendes Pulver. Nur das stärker eisenhaltige Präparat aus Milz I war leicht bräunlich gefärbt.

Der einmal gekochte Milzrückstand wurde nochmals mit 1,5 bis 2 l destillierten Wassers 15 Minuten lang gekocht und weiter genau wie das erstmal behandelt. Dabei war aber die Filtration bedeutend schwerer, und die Quantität des gewonnenen Nucleoproteids viel geringer. Das bei der zweiten Abkochung erhaltene Nucleoproteid war fast weiß.

Die Ausbeute an Nucleoproteid läßt sich aus folgender Tabelle ersehen.

Tabelle I.

	Gewicht der zerhackten Milz g	Gewicht des Nucleoproteides			Prozentgehalt an Nucleoproteid
		1. Abkochung g	2. Abkochung g	Summe g	
Milz I	500,0	3,5466		3,5466	0,709
" II	748,0	3,0423		3,0423	0,406
" III	585,0	2,0766	0,7406	2,8172	0,481
" IV	606,0	2,0852	0,9366	3,0218	0,498

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Rindermilz etwas mehr Nucleoproteid enthält als die Rinderleber, denn die Leber von 1 kg liefert nach Wohlgemuth¹⁾ durchschnittlich 3 bis 4 g Nucleoproteid.

Bei der Darstellung wurden noch folgende zwei Fragen berührt:

a) Läßt sich die Ausbeute durch des Eindampfen des wässerigen Extraktes vergrößern?

¹⁾ l. c.

Um festzustellen, ob etwa das Eindampfen des wässerigen Auszuges der gekochten Milz vor dem Essigsäurezusatz einen günstigen Einfluß auf die Größe der Ausbeute ausüben könnte, wurde bei der Milz IV das Filtrat der ersten Abkochung samt dem Waschwasser in zwei gleiche Teile (je 650 ccm) geteilt, dem ersten direkt, dem zweiten nach dem Eindampfen bis ca. 100 ccm die Essigsäure zugesetzt. Aus dem ersten Teile wurden 1,0965 und aus dem zweiten 0,9887 g Nucleoproteid gewonnen.

Das Eindampfen des wässerigen Auszuges vor dem Essigsäurezusatz hat also keine günstige Wirkung bezüglich der Ausbeute.

b) Wie groß muß der Zusatz von Essigsäure sein?

Die bei der Fällung des Nucleoproteides nötige Menge der Essigsäure hat Hammarsten (l. c.) für das Pankreas-Nucleoproteid auf 5 bis 10⁰/₁₀₀, Capezzuoli (l. c.) auf etwa 10 ccm 30⁰/₁₀₀ige Essigsäure zu etwa 2 l geschätzt. Wie in der folgenden Tabelle ersichtlich, ist diese Menge ziemlich variabel, sie schwankt nämlich zwischen 0,4 und 1,15 Volumprozent einer 30⁰/₁₀₀igen Essigsäure. In einem Falle, wo das Filtrat zunächst bis 100 ccm eingedampft wurde, waren sogar 6,5 Volumprozent Essigsäure erforderlich. Ferner war bei der zweiten Abkochung regelmäßig weniger Essigsäure nötig als bei der ersten.

Die Wirkung der Essigsäure beansprucht eine gewisse Zeit. Das Stehenlassen bis zum nächsten Tage empfiehlt sich also nicht allein mit Rücksicht auf die vollständigere Senkung des Niederschlages.

Die Menge der Essigsäure scheint nicht ausschließlich von der Menge des wässerigen Auszuges, sondern vielmehr von dem Gehalt desselben an Nucleoproteid abhängig zu sein. Demnach ist ein bestimmtes prozentuales Verhältnis von Essigsäure zu Filtrat, wonach alles Nucleoproteid in dem letzteren vollständig ausgefällt werden kann, nicht festzusetzen.

Tabelle II.

	Menge des Auszuges ccm	Nötiges Quantum von 30%iger Essig- säure	Gewonnenes Nucleoprotein g
Milz I {	1	7,5 ccm = 0,536%	} 3,5466
	2	1000 4,0 " = 0,400%	
" II {	1	8,0 " = 0,755%	} 3,0423
	2	1260 6,0 " = 0,476%	
" III {	1	9,0 " = 0,900%	} 2,8172
	2	860 6,0 " = 0,698%	
" IV {	1a	7,5 " = 1,154%	} 3,0218
	1b	100 6,5 " = 6,500%	
	2	950 8,5 " = 0,895%	

Die Ziffern 1 und 2 bedeuten die erste und zweite Abkochung. Bei der Milz IV ist die Hälfte a) des Auszuges der ersten Abkochung wie sonst behandelt, dagegen die andere Hälfte b) zunächst bis auf 100 ccm eingedampft und dann mit Essigsäure angesäuert, wie oben erwähnt.

2. Bindung des Eisens.

Salkowski hat (Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 19) darauf hingewiesen, daß der Eisengehalt der Nucleoproteide der Leber großen Schwankungen unterworfen ist und daß das Eisen im Nucleoprotein äußerst locker gebunden ist. Da die Frage, ob das Eisen im Milz-Nucleoprotein sich ebenso verhält, nicht ohne Interesse ist, so habe ich mit meinen Präparaten einige Untersuchungen in dieser Richtung ausgeführt.

Zunächst ist hervorzuheben, daß meine Präparate bedeutend ärmer an Eisen sind als die von Capezzuoli. Das Eisen wurde nach dem Schmelzen der Substanz mit Salpeterminschung in üblicher Weise als Ferriphosphat bestimmt.

Für die Milz I und Milz II, bei welchen Nucleoproteide erster und zweiter Abkochung vereinigt wurden, fand ich den Eisengehalt = 0,80 resp. 0,34%. Auch für die Nucleoproteide der zweiten Abkochung der Milz III und Milz IV waren die Werte ebenso niedrig, nämlich 0,31 und 0,15%.

Tabelle III.

	Eisengehalt	
	1. Abkochung %	2. Abkochung %
Capezzuolische Präparate	1,48—2,00	0,41—0,97
Meine Präparate . . .	{ I II III IV	0,80
		0,34
		0,31
		0,15

Ich hebe die Tatsache des geringen Eisengehaltes deshalb hervor, weil sie möglicherweise für das Verhalten des Nucleoproteids zu Alkalien von Bedeutung ist.

In einer größeren Anzahl von Versuchen wurde die Frage untersucht, ob sich das Eisen des Milznucleoproteids ebenso leicht durch schwache Natriumcarbonatlösung abspalten läßt, wie dies E. Salkowski für das Lebernucleoproteid angegeben hat.

Das war nicht der Fall. Es gelang auch bei Steigerung der Stärke der Natriumcarbonatlösung bis auf 1% und Verlängerung der Kochdauer bis 30 Minuten nicht, das Eisen vollständig abzuspalten: das durch Fällung der alkalischen, von Ferrihydrat abfiltrierten Lösung mit Essigsäure erhaltene Nucleoproteid erwies sich vielmehr noch eisenhaltig, und aus demselben konnte durch Kochen mit der alkalischen Lösung (Na_2CO_3) aufs neue eine gewisse Quantität Eisen als Ferrihydrat abgespalten werden. Dieses Ferrihydrat erwies sich übrigens stets schwach phosphorsäurehaltig. Dagegen wurden diese Reste vom Eisen durch Erwärmen mit salzsäurehaltigem Wasser (1% HCl) gelöst. Die Lösungen gaben Eisenreaktion und enthielten Phosphorsäure. Wurden sie mit Ammoniak alkalisiert und mit Magnesiamischung gefällt, so war das durch Abfiltrieren des Niederschlages, Auswaschen und Glühen erhaltene Magnesiumpyrophosphat stets rötlich gefärbt und eisenhaltig.

Sehr bemerkenswert ist ein abweichendes Verhalten der sehr schwach eisenhaltigen Nucleoproteide der zweiten Milzabkochung. Diese gaben beim Kochen der Lösung mit Na_2CO_3 überhaupt keine Ausscheidung von Ferrihydroxyd; es trat nur eine leichte Trübung ein, die kein Eisen enthielt.

Das aus dem Filtrat durch Essigsäure gefällte Nucleoproteid erwies sich eisenhaltig; ob der Gehalt ganz unverändert war, ist allerdings nicht untersucht.

Es scheint demnach, als ob das Eisen in dem Nucleoproteid der Milz in zwei Formen vorhanden ist, einer festeren und einer lockerer gebundenen und daß in den eisenärmeren Präparaten die locker gebundene Form überhaupt fehlt.

Das Verhalten des Milznucleoproteids zu Eisenreagenzien stimmte mit den von E. Salkowski für das Lebernucleoproteid gemachten Angaben überein.

Vergleichung des Hämoglobins einiger Weichtiere mit dem der Wirbeltiere.

Von

Raffaele Paladino.

(Aus der Chemischen Abteilung der Zoologischen Station und dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 18. Oktober 1909.)

Mit 3 Figuren im Text.

Im Verlaufe vorhergegangener Untersuchungen über die Farbstoffe der Seetiere hatte ich mehrmals Gelegenheit zu beobachten, daß das Hämoglobin bei einigen Klassen der wirbellosen Tiere weit verbreitet, dagegen in den Mollusken sehr selten anzutreffen ist; man würde nämlich irren, wenn man jede rote Substanz im Blute der letzteren für Hämoglobin ansehen würde.

Zur Bekräftigung dieser Tatsache brauche ich nur an Cuenôt zu erinnern, der bei Untersuchung des rötlichen Blutes aus dem Herzen der *Aplysia depilans* einen roten Eiweißkörper fand, welcher sich vom Hämoglobin unterschied, bei Einleiten von Sauerstoff sich nicht veränderte und zwischen 58 und 70° C coagulierte.

Aus früheren, über die Farbstoffe der Weichtiere angestellten Untersuchungen geht hervor, daß das Hämoglobin mit Sicherheit nur im Blute eines Gasteropoden — *Planorbis corneus* — sowie in einigen Schnecken nachgewiesen ist. Lankester stellte in der Tat fest, daß das Blut des *Planorbis corneus* Hämoglobin enthält, denn im Gegensatz zum Blute anderer Gasteropoden reagiert das Blut des *Planorbis* mit Guajactinktur. Sorby zweifelte jedoch, daß dieser Farbstoff dem Hämoglobin der Wirbeltiere gleichzustellen wäre; er gibt an, die Absorptionstreifen lägen dem Blau näher und die Zersetzung des Farbstoffes beim Erhitzen geschähe früher (bei ungefähr 45 bis 49° C), als dies beim Hämoglobin der Wirbeltiere der Fall ist.

Krukenberg beobachtete, daß das Hämoglobin des *Planorbis corneus* erst bei 60° C gerinnt und daß sein Absorptionsspektrum mit dem des gewöhnlichen Hämoglobins identisch ist.

Maly und Mac Munn gelang es, aus diesem Hämoglobin Häminkrystalle zu gewinnen. Nach diesen Forschern ergab das Hämoglobin des *Planorbis corneus* bei Sättigung mit Kochsalz und Magnesiumsulfat einen Niederschlag. Essigsäure verursachte eine braune Färbung, gab aber keinen Niederschlag. Während sich indes das Hämoglobin des *Planorbis corneus* im Blutplasma gelöst findet, ist das Hämoglobin der anderen Weichtiere an die Blutkörperchen gebunden.

Zweck dieser Arbeit war nun, festzustellen, ob die rote Substanz im Blute einiger von mir untersuchter Mollusken wirkliches Hämoglobin ist und ob dieselbe in diesem Falle mit dem Hämoglobin der Wirbeltiere identisch ist oder nicht. Die von mir in erster Reihe herangezogenen Weichtiere sind *Cardita sulcata*, *Pectunculus glycoimeris*, *Capsa fragilis*, *Tellina planata* und *Solen legumen*.

Wenn man eine *Cardita sulcata*, einen *Pectunculus* oder ein ähnliches Weichtier rasch öffnet, bemerkt man vor allem eine Ansammlung roter Flüssigkeit, die das Blut dieser Tiere darstellt. Die rote Flüssigkeit, die ich jedesmal sammelte, war je nach den auszuführenden Versuchen aus einer mehr oder weniger großen Anzahl von Mollusken gewonnen worden; die Versuche führte ich parallel mit identischen Untersuchungen des Blutes eines dem Versuchstier am nächsten stehenden (*Scyllium*) und eines ihm entfernter stehenden Wirbeltieres (Hund) aus; außerdem diente mir eine 1^o/_oige reine Hämoglobinlösung als Kontrolle. Anfangs bediente ich mich immer gleichstarker Lösungen von Molluskenblut, *Scyllium*blut, Hundeblood und 1^o/_oigen reinen Hämoglobins, die ich in vier ganz gleiche Eprovetten tat, und ging hierauf an die verschiedenen spektroskopischen und chemischen Versuche; in Fortsetzung deren fand ich es dann für meinen Zweck genügend, nur das Weichtierblut und das Blut des demselben nächststehenden Wirbeltiers (*Scyllium*) miteinander zu vergleichen, da ich festgestellt hatte, daß zwischen dem *Scyllium*blut, dem Hundeblood und der 1^o/_oigen Hämoglobinlösung kein Unterschied bemerkbar war. Von den fünf oben erwähnten Mollusken zog ich die *Cardita sulcata* vor, da sie reicher an Blut ist als die anderen und ich von ihr eine größere Anzahl zur Verfügung hatte.

Ich begann mit einer vergleichenden Untersuchung, indem ich aus einer gewissen Anzahl *Cardita sulcata* ungefähr 50 g des trüben Blutes sammelte, das ich sofort in zum Zentrifugieren

geeignete Gläser tat, um es von allen fremden Stoffen zu reinigen. Das nunmehr klare Blut goß ich in einen Zylinder und beobachtete vor allem die Farbe; sie war braunrot, also nicht so hellrot, wie die des Scyllium- oder die des Hundebutes, weloß letzteres ich schon vorher zum Vergleich gesammelt hatte. Die Reaktion war alkalisch; das spezifische Gewicht fand ich zu 1030. Die mikroskopische Untersuchung eines Tropfens ergab das Vorhandensein eines Plasmas, in dem die Blutkörperchen suspendiert waren. Was die Gerinnung des Blutes der Mollusken, wie *Cardita sulcata*, *Pectunculus*, *Capsa fragilis* usw. betrifft, so geht dieselbe nicht spontan vor sich. Wenn man Alkohol hinzufügt, so bemerkt man anfangs keinen Niederschlag, aber durch wiederholtes Mischen kommt ein Gerinnen zustande; das Gerinnsel sammelt sich an der Oberfläche, während die Flüssigkeit leicht gelblich gefärbt zurückbleibt. Hinzufügen eines Alkali, z. B. Ammoniak, macht das Blut dicker und die Färbung heller. Atzkali dagegen läßt das Blut sofort gerinnen. Mineralische Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, dem Blute in sehr geringer Menge hinzugefügt, bewirken einen Niederschlag, indem sie das Pigment verändern.

Um den Einfluß der Wärme zu studieren, tat ich in drei enge, dünnwandige Glasröhren — ähnlich denen, wie man sie zur Bestimmung des Schmelzpunktes einer Substanz anwendet — gleiche Mengen Blut der *Cardita* oder *Pectunculus* oder *Capsa fragilis*, dann von Scyllium oder Hund, und ferner von reiner Hämoglobininlösung. Die drei Röhren wurden an der Kugel des Thermometers befestigt, und zwar so, daß die Böden der Röhren auf dem gleichen Niveau mit dem Boden der Thermometerkugel standen. Das Ganze tat ich dann in ein Ölbad und erhitzte langsam. So oft ich dieses Verfahren wiederholte, fand ich stets, daß das Blut der *Cardita* oder *Pectunculus* oder *Capsa fragilis* bei 60° C zu gerinnen anfang ebenso wie das des Scylliums oder des Hundes und wie Hämoglobininlösung, woraus hervorgeht, daß, was die Gerinnungstemperatur angeht, das Weichtierblut sich wie andere Arten Blut verhält.

Um ferner den Einfluß einer konstanten Temperatur auf das Hämoglobin der Weichtiere und der Wirbeltiere zu bestimmen, bediente ich mich eines auf 40° C eingestellten Thermostaten.

In diesen tat ich zwei Röhren, eine mit *Cardita*-, die andere mit Scylliumblut. Nach einigen Stunden zeigten beide Lösungen, außer einer Veränderung in der Färbung, das Spektrum des Methämoglobins. Das Blut von *Cardita sulcata*, *Pectunculus*, *Capsa fragilis*, *Solen legumen* ergibt unter dem Einflusse einer sehr hohen Temperatur ein flockiges Gerinnsel. Läßt man den Niederschlag entweder von selbst oder durch Zentrifugieren sich absetzen, so scheidet sich eine Flüssigkeit ab, die dieselbe Farbe wie Blut hat, nur etwas heller ist, so als ob das Blut verdünnt wäre. Im Spektroskop zeigt sie die Streifen nicht mehr, die vor der Einwirkung der Wärme zu sehen waren. Bei ziemlich 100° C unterliegt der Farbstoff des Molluskenblutes denselben Veränderungen wie das Oxyhämoglobin, das, wie bekannt, allein oder mit Säure oder Alkali erhitzt, sich in Hämatin und Eiweiß scheidet.

Einige Tropfen Blut von *Cardita sulcata*, *Pectunculus*, *Capsa fragilis* usw. in eine Mischung aus altem Terpentinöl und frischer Guajactinktur gegossen, geben eine Färbung, die erst grün ist, dann blaugrün und endlich blau wird. Wenige Tropfen des Blutes der obenerwähnten Weichtiere zeigen Eisen- und Stickstoffreaktion, genau wie eine reine Hämoglobinlösung, oder wie Scyllium- oder Hundeblood.

Spektroskopisches Verhalten.

Zu diesem Zwecke bediente ich mich eines kleinen Brown'schen Spektroskops, sowie des großen, dreiarmligen Modells. Bei den einzelnen Versuchen hatte ich zur Kontrolle eine 1%ige Hämoglobinlösung, deren Intensität der Färbung einigermaßen mit der des betreffenden Blutes übereinstimmen mußte. Dieses stellte ich übrigens leicht durch Vergleich der Absorptionsstufen fest, d. h. ob dieselben bei gleicher Dicke der Blutschicht, bzw. der 1%igen Hämoglobinlösung gleich breit und gleich intensiv wären. Durch Vergleich einer Blutlösung von *Cardita sulcata*, *Pectunculus*, *Capsa fragilis*, mit einer gleichfarbigen reinen Hämoglobinlösung, sowie einer Lösung von Scyllium- und Hundeblood, habe ich mich überzeugt, daß die verschiedenen Spektren keinerlei Unterschiede untereinander aufwiesen. Der Blutfarbstoff der von mir geprüften Weichtiere

hat also ein Absorptionsspektrum, das mit dem des Hämoglobins der Vergleichstiere (Scyllium, Hund) gleichwertig ist. Nach Feststellung dieser ersten Tatsache habe ich die Einwirkung der verschiedenen Reagenzien, wie Alkalien, Säuren, reduzierende und oxydierende Substanzen, sowie die des Vakuums,

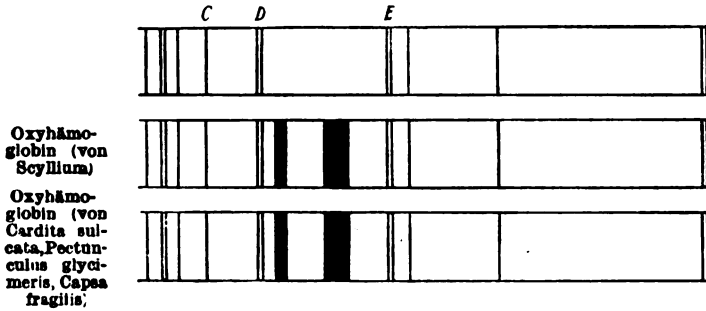


Fig. 1.

der Fäulnis usw. auf das Weichtierblut studiert. Der Einfachheit wegen bemerke ich gleich hier, daß ich bei diesen Versuchen allemal die Kontrolle mit Hämoglobinlösungen (Scyllium, Hund) ausführte, welche dieselbe Färbung hatten wie das in Rede stehende Weichtierblut und in gleicher Schicht und Quantität vorhanden waren wie jene.

Prüfung der Einwirkung von Atzkali. Ich stelle drei Lösungen von gleicher Farbenintensität her, eine aus dem Blute der *Cardita sulcata*, eine aus Scylliumblut und die dritte aus Hundeblood; alle drei weisen die beiden Streifen α und β des Oxyhämoglobins auf. Einer jeden dieser Lösungen füge ich nun einige Tropfen verdünnten Atzkalis hinzu, und jetzt geht die Farbe des Scyllium- und des Hundebloodes sofort in Gelb über, während das Blut der *Cardita* keinerlei Farbenveränderung aufweist; nur bildet sich hier ein leichter flockiger Niederschlag. Während jedoch das Scyllium- und Hundeblood seine Streifen verloren hat, zeigt das Carditablut noch immer das Oxyhämoglobinspektrum, welches auch noch nach 24 Stunden, wiewgleich abgeschwächt, anhält. Unter dem Einflusse des Atzkali verhalten sich die Lösungen also verschieden; das Hämoglobin der Weichtiere ist gegen Atzkali widerstandsfähiger.

Prüfung der Einwirkung der Weinsäure. Ich bereite drei gleichfarbige Lösungen, die Streifen von gleicher Breite aufweisen, also von *Cardita sulcata*, von Scyllium und vom Hunde. Hierzu gieße ich nur zwei Tropfen Weinsäure: Das Carditablut verändert seine Färbung nicht und zeigt den Streifen des sauren Hämatins; das Scyllium- und das Hundeblood wird augenblicklich gelblich und zeigt keine Streifen. Also dieselbe Menge Weinsäure, die das Weichtierhämoglobin sofort zersetzt und saures Hämatin bildet, bringt bei dem Scyllium- und dem Hundeblood erst nach 48 Stunden dieselbe Reduktion hervor.

Zu gleichen Mengen Blutlösungen von *Cardita*, von Scyllium und von Hund füge ich gleiche Mengen einer vor kurzem hergestellten Ferricyankaliumlösung. Ich bemerke bei allen drei Lösungen einen Streifen im Rot, das Blut nimmt eine gelbbraunliche Färbung an. Dies steht in Übereinstimmung mit der Beobachtung Jaederholms¹⁾, daß, wenn man einer Hämoglobinlösung Ferricyankalium zufügt, sich eine Braunfärbung ergibt und sich Methämoglobin bildet. — Zu den gleichen Blutlösungen fügte ich nun gleiche Mengen Ferrocyanium: die Lösungen ändern ihre Farbe nicht, und das Spektrum des Oxyhämoglobins bleibt bestehen. Am nächsten Tage beobachtete ich neuerdings und finde bei *Cardita sulcata* den Streifen im Rot zwischen $7\frac{1}{2}$ und 8, während das Grün, das Blau und das Violett absorbiert sind. Im Blut des Scylliums und des Hundes ist am folgenden Tage keinerlei Veränderung eingetreten; bei der Lösung, der ich Ferrocyanium hinzugefügt hatte, ist das Oxyhämoglobinspektrum vom Tage vorher verschwunden, und es bleibt nur das des Hämoglobins. Also, das Ferricyankalium verändert das Oxyhämoglobin sofort in Methämoglobin, während das Ferrocyanium den Blutfarbstoff der Weichtiere und der Wirbeltiere langsam reduziert.

Ich behandle nun eine Blutlösung von *Cardita sulcata* und von Scyllium, welche gleiche Farbenintensität und gleiche Konzentration haben, mit gleichen Mengen Ammoniumsulfid: Das Spektrum des Oxyhämoglobins ist aus dem Scylliumblut ver-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 8, 186, 1883.

schwunden, und an Stelle der beiden Streifen α und β sehe ich den breiten Hämoglobinstreifen. Der Luft ausgesetzt und wiederholt geschüttelt, erscheinen die beiden Oxyhämoglobinstreifen von neuem. — Dagegen zeigt das Weichtierblut unter dem Einfluß des Ammoniumsulfids das Spektrum des Hämochromogens. Das Hämoglobin der Weichtiere verhält sich also unter der Einwirkung einer reduzierenden Substanz, wie z. B. Ammoniumsulfid nicht wie das der Wirbeltiere, sondern unterliegt einer bedeutenderen Reduktion.

Zwei Lösungen, eine von *Cardita*-, die andere von *Scyllium*-blut, die von gleicher Färbung sind und unter dem Spektroskop zwei gleichartige Streifen ergeben, werden in zwei Glasröhren von gleichem Durchmesser getan und auf lange Zeit dem Vakuum ausgesetzt, und zudem noch auf 38 bis 40° C erhitzt. Während der Einwirkung des Vakuums beobachtete ich von Zeit zu Zeit die Glasröhren unter dem Spektroskop; dabei bemerkte ich, daß, während die *Scyllium*blutlösung selbst unter dem Einfluß der Wärme lange Zeit zur Reduzierung brauchte, ehe sich der Hämoglobinstreifen zeigte, das Weichtierblut schneller reduziert wurde und somit eine geringere Widerstandsfähigkeit gegen das Vakuum aufwies. Zwischen dem Oxyhämoglobin der Weichtiere und dem der Wirbeltiere besteht also ein Unterschied in der Widerstandsfähigkeit gegen die Reduktion.

Um die Wirkung des Kohlenoxyds zu prüfen, wird, wie bei den vorhergehenden Versuchen in zwei Röhren von gleichem Durchmesser das Weichtierblut und das Wirbeltierblut, die dasselbe Absorptionsspektrum (des Oxyhämoglobins) aufwiesen, getan. Durch die beiden Röhren ließ ich dann gleichzeitig ungefähr 8 Minuten langsam Kohlenoxyd strömen. (Das Kohlenoxyd hatte ich durch Einwirkung von reiner Schwefelsäure auf Oxalsäure — 30 g Oxalsäure und 180 g Schwefelsäure — erhalten; es wurde gereinigt, indem ich es durch Kalilauge strömen ließ.)

Die Weichtierhämoglobinlösung nahm bei der Einwirkung des Kohlenoxyds eine hochrote Färbung an, und gleichzeitig modifizierte sich das Oxyhämoglobinspektrum. Bei der Wirbeltieroxyhämoglobinlösung war, um zur Modifizierung des Spektrums zu gelangen, nicht nur eine längere Einwirkung des Kohlenoxyds, sondern auch eine Abkühlung nötig; auf diese

Weise finde ich nach einem Tage in beiden Lösungen die Streifen des Kohlenoxydhämoglobins.

Zur Prüfung der Fäulniseinwirkung wurden Lösungen von reinem Cardita- und Scylliumblut 10 bis 11 Tage lang in Eprouvetten bei 14 bis 15° C gehalten; nach diesem Zeitpunkt zeigten sich identische Veränderungen in Farbe, Klarheit sowie hinsichtlich der spektroskopischen Eigenheiten. Man bemerkte Reduktion des Oxyhämoglobins zu Hämoglobin und die Bildung von Methämoglobin.

Weitere Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit oder Veränderlichkeit des Hämoglobins der genannten Weichtiere.

Die meisten der vorher angegebenen Versuche hatten mich überzeugt, daß das Hämoglobin meiner Weichtiere im allgemeinen eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen die Reagenzien aufwies. Da nach Körber und Krüger die Streifen α und β des Oxyhämoglobins des Blutes der verschiedenen Tiere in ungleichen Zeiträumen verschwinden, sobald gleiche Quanten von Oxyhämoglobinlösung mit gleichen Mengen ebenso konzentrierter Essigsäure oder Kalilauge behandelt werden,¹⁾ habe ich den Blutfarbstoff meiner Weichtiere erst mit einer 10%igen Essigsäurelösung und dann mit einer 10%igen Kalilauge geprüft, indem ich mich dabei nach den Angaben Körbers und Krügers richtete. Die Ergebnisse sind wie folgt ausgefallen:

Ich tue in zwei Eprouvetten von gleichem Durchmesser gleiche Mengen von Weichtierblut (*Cardita sulcata*) und Wirbeltierblut (*Scyllium*). Beide Lösungen zeigen das gleiche Spektrum, d. h. das des Oxyhämoglobins. Ich füge nun zu beiden Eprouvetten eine gleiche Menge 10%iger Essigsäure (10 Tropfen). Wiederholte Beobachtung zeigt, daß das Spektrum des Oxyhämoglobins beim Scylliumblut erst nach 25 Minuten verschwindet, während dasselbe beim Carditablut schon nach 13 Minuten verschwindet, dafür aber das des Hämochromogens sich zeigt. Daraus geht klar hervor, daß

¹⁾ Körber, Über Differenzen des Blutfarbstoffes. Inaugural-Dissertation, 1866. — Krüger, Über die ungleiche Resistenz des Blutfarbstoffs verschiedener Tiere gegen zersetzende Agenzien. Zeitschr. f. Biol. 24, 318, 338, 1888.

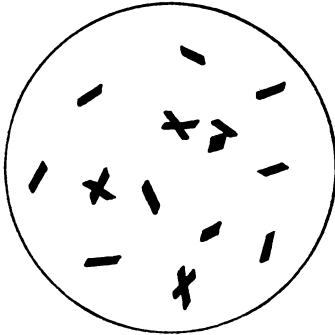
der Farbstoff des Weichtierblutes kürzere Zeit als der des Scylliumblutes widersteht und daher leichter der Veränderung unterworfen ist. Außerdem erhält das Scylliumblut sich fortwährend klar und durchsichtig, indem es nur seine Färbung von Hellrot in Rotgelb ändert. Dagegen trübt sich das Carditablut bei Zugabe von Essigsäure und zeigt die obenerwähnten Veränderungen.

Auf ganz gleiche Weise verfähre ich, um die Widerstandsfähigkeit meiner Lösungen gegen eine 10%ige Kalilauge festzustellen. Ich tue wiederum in zwei Eprouvetten gleiche Mengen von Weichtier- und von Wirbeltierblut. Beide Lösungen zeigen das Oxyhämoglobinspektrum mit gleich breiten Streifen. Die Färbung des Scylliumblutes verändert sich bei Hinzufügung von nur 2 Tropfen 10%iger Kalilauge sofort von Rot in Grün gelb und zeigt keine Streifen; das Carditablut dagegen behält in diesem Falle seine ursprüngliche Färbung; es zeigt sich hier Beginn eines flockigen Niederschlages, und das Oxyhämoglobinspektrum verschwindet erst beim Zugießen von 10 Tropfen Kalilauge. Daraus geht hervor, daß umgekehrt wie bei der Essigsäure, das Hämoglobin der Weichtiere den Alkalien besser widersteht als das der Wirbeltiere.

Versuche über die Krystallisation des Hämoglobins der erwähnten Weichtiere.

Das Hämoglobin der Weichtiere — *Cardita sulcata*, *Pectunculus glycymeris*, *Capsa fragilis*, *Tellina planata*, *Solen legumen* — ist krystallisierbar, wengleich viel schwieriger als das der Wirbeltiere. Die Mittel, zu denen man gewöhnlich greift, um das Oxyhämoglobin der verschiedenen Blutarten im Krystallzustande zu erhalten — Behandlung des Blutes mit Ather und Alkohol, Verfaulenlassen in geschlossenen Röhren usw. —, gaben mir anfangs keine günstigen Resultate, was mich zu der Annahme veranlaßte, daß das Blut dieser Tiere überhaupt nicht krystallisierbar sei, um so mehr als niemand bisher, soviel mir bekannt ist, das Krystallisieren desselben versucht hatte. Durch ein höchst einfaches Mittel, durch langsames und spontanes Verdampfen, ist es mir jedoch nach einem sehr langen Zeitraum (6 bis 7 Monaten) gelungen, charakteristische

Krystalle zu erhalten, die in Gestalt den schon aus anderen Blutarten gewonnenen gleichen. Die Bereitung der Häminkrystalle ist leicht und auf dem gewöhnlichen Wege zu erreichen. Die große Schwierigkeit jedoch, das krystallisierte Hämoglobin in zufriedenstellender Reinheit und genügender



Häminkrystalle (von *Cardita sulcata*,
Pectunculus glycymeris, *Capsa fragilis*, *Solen*
legumen, *Tellina planata*)

Fig. 2.



Häminkrystalle (von *Cardita sulcata*,
Pectunculus glycymeris)

Fig. 3.

Menge zu gewinnen, hat mich verhindert, die chemische Zusammensetzung festzustellen. Doch genügen die obenerwähnten Versuche und das spektroskopische Verhalten, das mit dem der anderen Arten von Hämoglobin übereinstimmt, um die große Analogie des von mir studierten Hämoglobins mit dem Hämoglobin der Wirbeltiere zu betonen.

Zusammenfassung.

Aus dem vergleichenden Studium über den Blutfarbstoff dieser wirbellosen Seetiere und dem der zum Vergleiche gewählten Wirbeltiere geht folgendes hervor:

I. Es ist zweifellos, daß der rote Blutfarbstoff der Weichtiere — *Cardita sulcata*, *Pectunculus glycymeris*, *Capsa fragilis*, *Solen legumen*, *Tellina planata*, und anderer ähnlicher — echtes Hämoglobin ist.

II. Dies Hämoglobin ist dem des Scylliums und des Hundes analog, aber nicht identisch mit demselben. Es weicht von letzterem im allgemeinen ab: durch sein Verhalten zu einigen Reagenzien, und zwar durch die verschiedene Widerstandsfähig-

keit, die es dem Einflusse der Alkalien und Säuren, dem Ammoniumsulfid und dem Vakuum gegenüber besitzt. Es ist außerdem leichter veränderlich unter der Einwirkung 10%iger Essigsäure, weniger jedoch unter dem Einflusse 10%iger Kalilauge; endlich ist es auch schwerer krystallisierbar.

Literatur.

Ermann, Wahrnehmungen über das Blut der Mollusken. Abh. d. k. Akad. d. Wissensch. Berlin, 1816—1817, 199 bis 218.

Sorby, On the evolution of Haemoglobin. Quart. Journ. of microsc. science 16, 77 bis 85, 1876.

Lankaster, Über das Vorkommen von Hämoglobin in den Muskeln der Mollusken usw. Pfügers Archiv 4, 315 bis 320, 1871.

Griesbach, Über das Blut acephaler Mollusken. Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 63, 1896.

Griffiths, On the Blood of the Invertebrate. Proc. Roy. of Edinburgh 18, 1890 bis 1891.

Witting, Über das Blut einiger Mollusken. Zeitschr. f. prakt. Chem. 73, 121, 1858.

Schloßberger, Über das Blut der Cephalopoden. Annal. d. Chem. u. Pharmakol. 1857, 86 bis 91.

Harleß, Über das blaue Blut einiger wirbelloser Tiere und dessen Kupfergehalt. Müllers Archiv 1847.

M. Nencki und N. Sieber, Untersuchungen über den Blutfarbstoff. Arch. f. experim. Pathol. 18, 401, 1884.

Hoppe-Seyler, Über die chem. u. opt. Eigenschaften des Blutfarbstoffs. Virchows Archiv 29, 233, 1804.

Jederholm, Untersuch. über d. Blutfarbstoff. Zeitschr. f. Biol. 13, 206, 1877.

Laidlaw, Observations on blood pigments. Journ. of Physiol. 31, 464, 1904.

Eppinger, Untersuchungen über den Blutfarbstoff. Dissertation: München 1907.

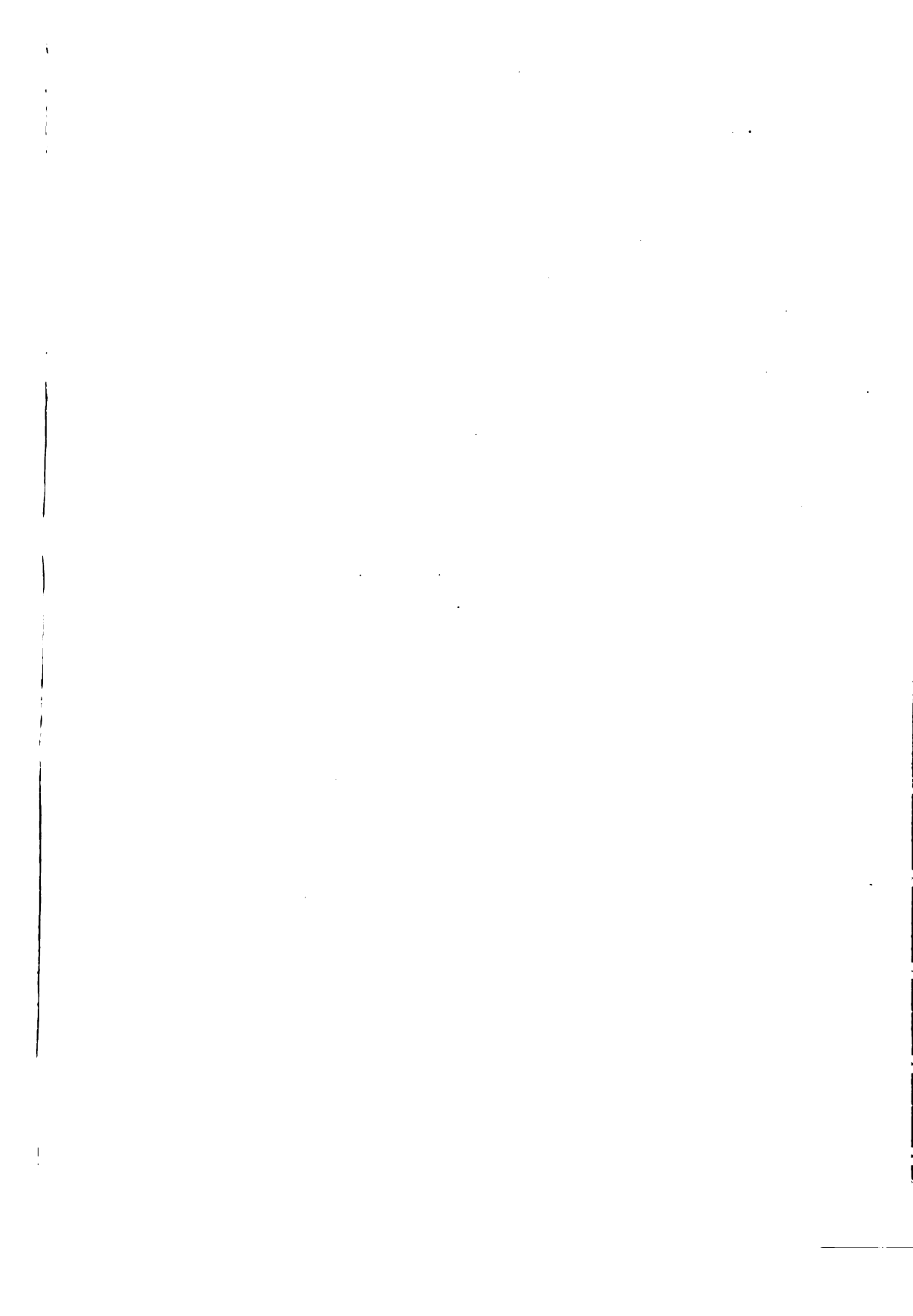
M. Nencki u. Zaleski, Untersuch. über d. Blutfarbstoff. Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 384, 1900.

Marchlewski u. S. Mostowski, Zur Kenntnis des Blutfarbstoffs. Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 464, 1907.

Autorenverzeichnis.

- Backman, E. Louis und J. Runnström.** Physikalisch-chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung. S. 290.
- Brasch, Walther.** Weitere Untersuchungen über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte. S. 401.
- Buglia, G.** Hängt die Resorption von der Oberflächenspannung der resorbierten Flüssigkeit ab? S. 1.
- Burri, R. und Ths. Nußbaumer.** Über Oberflächenspannungs- und Viscositätsbestimmungen bei Kuhmilch unter Verwendung des Traubeschen Stalagmometers. S. 90.
- Cominotti, Luigi.** Über das Vorhandensein der Pentosen im Harn des Menschen und der Tiere. S. 106.
- Dietrich, M.** Über phosphorhaltige Caseinpeptone. S. 120.
- Frey, Walther und Alfred Gigon.** Über quantitative Bestimmung des Aminosäuren-N im Harn mittels Formoltitrierung. S. 309.
- Gigon, Alfred,** siehe Frey und Gigon.
- Glikin, W.** Zur biologischen Bedeutung des Lecithins. IV. S. 461.
- Hanssen, Olav.** Zur Kenntnis der Kohlensäurebildung im Organbrei. S. 333.
- Higuchi, Sigeji.** Zur Kenntnis des Fibrinenzym der Placenta. S. 337.
- — Ein Beitrag zur chemischen Zusammensetzung der Placenta. S. 341.
- — siehe Löb und Higuchi.
- Hunaeus.** Über den Kalkgehalt der Frauenmilch. S. 442.
- Ibrahim, J.** Trypsinogen und Enterokinase beim menschlichen Neugeborenen und Embryo. S. 24.
- Irvine, James Colquhoun.** Über die Verwendung alkylierter Zucker zur Bestimmung der Konstitution von Disacchariden und Glucosiden. S. 357.
- Izar, Guido.** Über den Einfluß einiger Quecksilberverbindungen auf den Stoffwechsel. S. 371.
- Krauß, Ludwig.** Die Jodsäurereaktion des Adrenalins. S. 131.
- Krogh, Mentz L. v.** Ein Versuch zur Stöchiometrie der Hämolyse. S. 132.
- — Über die Reversibilität der Hämolyse. S. 345.
- Leimdörfer, Alfred.** Über die Gasspannung in der Lunge, bei der zwingend ein neuer Atemzug ausgelöst wird. S. 45.
- Leyko, Z. und L. Marchlewski.** Zur Kenntnis des Hämopyrrols. II. S. 464.
- Löb, Walther.** Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen. VI. S. 103.
- — und Sigeji Higuchi. Zur Kenntnis der Placentaenzyme. S. 316.
- Marchlewski, L.** siehe Leyko und Marchlewski.
- Moruzzi, Giovanni.** Untersuchungen über die Gelatinierung des Eiweißes. S. 232.
- Nußbaumer, Ths.,** siehe Burri und Nußbaumer.
- Oguro, Y.** Über eine Methode zum quantitativen Nachweis des Antipepsins im Serum. S. 266.
- — Über die Wirkung des Pepsins bei niederen Temperaturen. S. 278.
- Paladino, Raffaella.** Vergleichung des Hämoglobins einiger Weich-

- tiere mit dem der Wirbeltiere. S. 495.
- Parnas, Jakob. Über Kephalin. S. 411.
- Poggenpohl, S. von. Über die Bindungsweise hämolytischer Amboceptoren. S. 64.
- Reach, Felix und Ferdinand Röder. Über den Energieverbrauch bei der Atemarbeit. S. 471.
- Reichel, Heinrich. Zur Theorie der Desinfektion. I. S. 149.
— — Desgl. II. S. 177.
— — Desgl. III. S. 201.
- Röder, Ferdinand, siehe Reach und Röder.
- Ruhland, W. Erwiderung. S. 409.
- Runnström, J., siehe Backman und Runnström.
- Sato, T. Beitrag zur Kenntnis des Nucleoproteids der Milch. S. 489.
- Schloß, Ernst. Zur biologischen Wirkung der Salze. II. S. 283.
- Schütz, Julius. Über den Einfluß der Pepsin- und Salzsäuremengen auf die Intensität der Verdauung, speziell bei Abwesenheit „freier“ Salzsäure. S. 33.
- Simon, J. Schnelligkeit der Absorption des Strychnins in Gegenwart von Kolloiden. S. 394.
- Sörensen, S. P. L. Ergänzung zu der Abhandlung: Enzymstudien II: Über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen. S. 352.
- Stepp, Wilhelm. Versuche über Fütterung mit lipoidfreier Nahrung. S. 452.
- Stockhausen, J. Beitrag zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Hundekörpers. S. 244.
- Yoshimoto, S. Beitrag zur Chemie der Krebsgeschwülste. S. 299.



RETURN TO the circulation desk of any
University of California Library

or to the

NORTHERN REGIONAL LIBRARY FACILITY
Bldg. 400, Richmond Field Station
University of California
Richmond, CA 94804-4698

ALL BOOKS MAY BE RECALLED AFTER 7 DAYS

- 2-month loans may be renewed by calling
(510)642-6753
- 1-year loans may be recharged by bringing
books to NRLF
- Renewals and recharges may be made
4 days prior to due date

DUE AS STAMPED BELOW

FEB 24 2006

DD20 12M 1-05