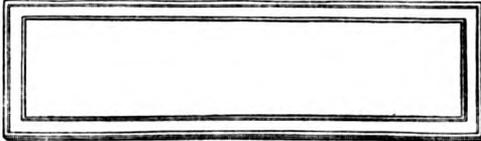
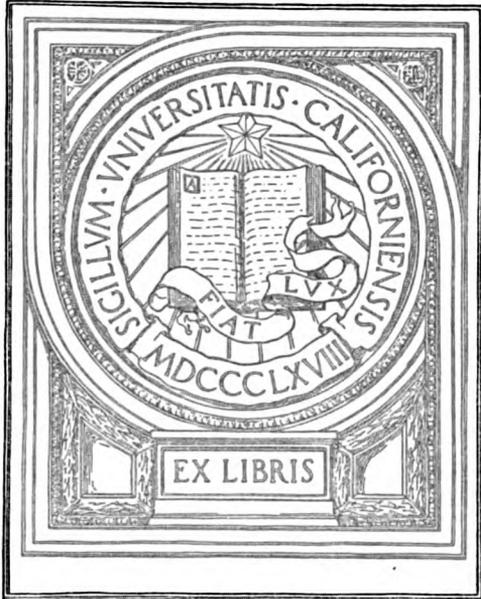


338

141686

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO









Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buehner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Aser-Bern, J. Bang-Land, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Ementhal-Berlin, A. Bonazzi-Rom, F. Bettazzi-Neapel, G. Brodlig-Zürich, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Fernes-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. Haffner-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, E. Höber-Kiel, H. Jacoby-Berlin, E. Kober-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolt-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, F. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, F. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Paull-Wien, E. Pfeiffer-Breslau, E. F. Plick-Wien, J. Fohl-Prag, Ch. Fercher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, F. Rona-Berlin, S. Salenkina-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, H. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, H. Spire-Straßburg, H. H. Starling-London, J. Steklans-Frag, A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangy-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

O. Neuberg-Berlin.

Fünfunddreißigster Band.

Anastatischer Neudruck



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1911.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Palladin, W., E. Hübbenet und M. Kossakow. Über die Wirkung von Methylenblau auf die Atmung und die alkoholische Gärung lebender und abgetöteter Pflanzen	1
Gerum, H. P. T. Über die quantitative Bestimmung des Milchfettes vermittelt der Fettkugeln	18
Buchwaldt, F. Berechnung der Fettmenge in der Milch durch Bestimmung der Lichtabsorptionsfähigkeit der Milch und der Anzahl der Fettkugeln in der Volumeinheit	30
Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Carbonsäuren im Tierkörper. (XIII. Mitteilung.)	40
Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Carbonsäuren im Tierkörper. (XIV. Mitteilung.)	49
Kikkoff, T. Über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper .	57
Friedmann, E. und H. Tachau. Über die Bildung des Glykokolls im Tierkörper. (I. Mitteilung)	88
Stolte, Karl. Eine einfache und zuverlässige Methodik der Aschenanalyse	104
Loeberer, Richard und K. Stolte, Die Zusammensetzung des Menschen- und des Hundeherzens	108
Tanaka, Masahiko. Über Kalkresorption und Verkalkung	113
Eriemeyer, E. und G. Hilgendorff. Zur Frage nach der Existenzfähigkeit molekular asymmetrischer Storaxzimtsäuren.	134
Eriemeyer, Emil. Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Athylenderivaten	149
Kreidl, Alois und E. Leuk. Bestimmung des spezifischen Gewichtes kleinster Milchmengen	166
Grefenhausen, W., J. König und A. Schell. Bestimmung der Kohlenhydrate durch Oxydation mittels Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung	169
Grefenhausen, W., J. König und A. Schell. Bestimmung der Stärke	194
Grefenhausen, W., J. König und A. Schell. Bestimmung des Leimes	217
Zaleski, W. und A. Reinhard. Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen	228

	Seite
Meyerhof, Otto. Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. I	246
Meyerhof, Otto. Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern II.	280
Meyerhof, Otto. Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. III.	316
Wolf, Charles G. L. unter Mitwirkung von Emil Österberg. Eiweißstoffwechsel beim Hunde. II.	322
Liebermann, L. v. und Franz Wiesner. Über das Sauerstoffübertragungsvermögen verschieden hoch erwärmten Blutes	363
Fries, H. Über das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Blute	368
Michaëlis, Leoner und Heinrich Davidsohn. Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin	386
Marchlewski, L. und J. Marszałek. Studien in der Chlorophyllgruppe. XI.	418
La Franca, S. Der Purinstoffwechsel bei einigen Leberkrankheiten	434
Schäfer, P. Weitere Untersuchungen zur Kenntnis hämolytischer Organextrakte	445
Berschlin, S. Über den Einfluß des Lecithins auf die Resorption der Haut	471
Loeckemann, Georg. Über den Nachweis kleiner Arsenmengen in Harn, Blut und anderen organischen Substanzen	478
Fromberg, M. Zur Kenntnis der Wirkungsweise der Phenylcinchoninsäure auf den Purinstoffwechsel des Hundes	494
Eimenthal, Ferdinand. Bemerkungen zu dem Aufsatz von Walther Schrauth und Walter Schoeller: Biochemische Untersuchungen über aromatische Quecksilberverbindungen	503
Terroine, Emile F. Lecithin und diastatische Wirkungen	506



Über die Wirkung von Methylenblau auf die Atmung und die alkoholische Gärung lebender und abgetöteter Pflanzen.

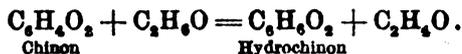
Von

W. Palladin, Elise Hübbernet und Marie Korsakow.

(Eingegangen am 4. Juli 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

Über die Reduktionsprozesse in den tierischen und pflanzlichen Geweben ist eine sehr große Anzahl von Arbeiten geschrieben worden. Bei den Pflanzen läßt sich ein gewisser Parallelismus zwischen dem Reduktionsvermögen und der Anaerobiose beobachten¹⁾. Allein die Reduktionsprozesse werden auch von Oxydationsprozessen begleitet. Bredig²⁾ bemerkt sehr richtig: „Formell ist es natürlich meist gleichgültig, ob man die Reaktion als eine sauerstoffübertragende oder als eine in umgekehrter Richtung wasserstoffübertragende ansieht, denn jede Oxydation eines Stoffes durch einen zweiten ist notwendig mit einer Reduktion dieses zweiten Stoffes verknüpft. In der Tat kann man ja bekanntlich die meisten Reduktionsmittel gleichzeitig auch als Oxydationsmittel von entsprechend niedrigem Oxydationspotential betrachten.“ So hat z. B. Ciamician³⁾ bei Einwirkung des Sonnenlichts die Oxydation verschiedener Alkohole zu Aldehyden und Ketonen in Gegenwart von Chinon beobachtet, das zu Hydrochinon reduziert wurde:



¹⁾ W. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 81, 1908; W. Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1910.

²⁾ G. Bredig und F. Sommer, Zeitschr. f. physikal. Chem. 70, 34, 1910.

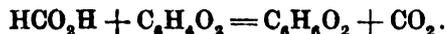
³⁾ G. Ciamician und P. Silber, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1530, 1901.

Bei allen derartigen Reaktionen traten das Chinon als Oxydationsmittel, die Alkohole dagegen als Reduktionsmittel auf. Außer den erwähnten Oxydationsprozessen, wo die Oxydation infolge der Entnahme des Wasserstoffs von dem zu oxydierenden Stoff erfolgt, geht bei typischen Oxydationsprozessen auch noch eine Verbindung des Sauerstoffs mit dem zu oxydierenden Stoff vor sich.

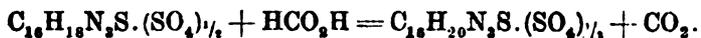
Derartige Prozesse müssen, vom physiologischen Gesichtspunkte aus betrachtet, in 2 Gruppen zerlegt werden. Bei dem einen Prozeß wird an den zu oxydierenden Stoff gebundener Sauerstoff von dem anderen Stoff abgegeben. Hierher gehören z. B. die in dem Gehirn auf Kosten des Sauerstoffs des Oxyhämoglobins vor sich gehenden Oxydationen.

Zu der anderen Gruppe von Oxydationsprozessen gehören diejenigen, die sich in Pflanzen abspielen, die den Sauerstoff unmittelbar aus der Luft absorbieren. Die in den Organismen vor sich gehenden Oxydationsprozesse sind demnach von dreierlei Art:

1. Oxydationen infolge der Entnahme des Wasserstoffs. Solche Prozesse können sogar von einer Ausscheidung von Kohlensäure begleitet sein. So erhielt Ciamician bei Einwirkung des Sonnenlichts auf eine Mischung von Ameisensäure und Chinon Hydrochinon und Kohlensäure:



Bredig und Sommer erhielten bei der Einwirkung von Methylenblau auf Ameisensäure in Gegenwart eines anorganischen Ferments ebenfalls Kohlensäure:



2. Oxydationen auf Kosten des gebundenen Sauerstoffs.

3. Oxydationen auf Kosten des atmosphärischen Sauerstoffs. Viele Stoffe, die die Fähigkeit besitzen, durch gebundenen Sauerstoff sich zu oxydieren, können nicht durch den freien Sauerstoff der Luft sich oxydieren. Die letztere Gruppe von Oxydationsprozessen erscheint daher besonders kompliziert und noch wenig erforscht. Unter den tierischen Organen nehmen die Lungen gleich den Pflanzen Sauerstoff aus der Luft auf. Vergleicht man die Beziehungen verschiedener tierischer Organe zu dem Methylenblau und verwandten Farbstoffen, so erweist es sich, daß „die Lunge den Ort des maximalen Reduktions-

vermögens darstelle, und daß dieses Organ mithin befähigt sei, energischere Reduktionsleistungen zu vollziehen als jedes andere Organ¹⁾). Im Gegensatz hierzu ist das Reduktionsvermögen des Gehirns ein ganz minimales. Diese Beobachtungen von Paul Ehrlich werden auch von anderen Autoren bestätigt²⁾).

Hieraus geht hervor, daß die Sauerstoffaufnahme direkt aus der Luft von energischen Reduktionsprozessen begleitet wird. Durch diesen Umstand wird u. a. auch das Vorhandensein besonderer Stoffe in den Pflanzen erklärt, die ein großes Oxydations- und Reduktionsvermögen besitzen, und die von einem von uns³⁾ als Atmungschromogene bezeichnet worden sind.

Engler⁴⁾, wie auch Chodat und Bach⁵⁾ haben in bezug auf die Bildung von Peroxyden während der mit Aufnahme atmosphärischen Sauerstoffs verbundenen Oxydationsprozesse wie auch bezüglich der Teilnahme von Katalysatoren an diesen Prozessen nur einen relativ kleinen Teil der komplizierten Kette von Oxydationsreaktionen aufgeklärt, die in den Pflanzen vor sich gehen.

Auf Kosten des atmosphärischen Sauerstoffs erfolgen zahlreiche von Neuberg⁶⁾ beschriebene Photokatalysen. Bei diesen werden die an sich völlig lichtbeständigen Kohlenhydrate, Proteine, Fette und andere physiologisch wichtige Substanzen bemerkenswerterweise durch kleine Mengen anorganischer Salze äußerst photosensibel und oxydativ bzw. hydrolytisch abgebaut.

Bredig und Sommer haben ein anorganisches Ferment mit Erfolg bei der Schardingerschen Reaktion angewendet. Diese Autoren weisen auch auf die Anteilnahme eines Koferments hin. Diese Tatsachen geben wiederum Anlaß zu der Annahme, daß die Reduktionsprozesse auch bei den Pflanzen durch besondere Fermente stimuliert werden, deren Rolle Bach⁷⁾ in letzter Zeit aufzuklären bemüht ist. Gewisse Reduktionsprozesse innerhalb der Zellen verlaufen augenscheinlich auch ohne Teil-

¹⁾ P. Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. 1885. S. 40.

²⁾ W. Strassor, diese Zeitschr. 29, 295, 1910.

³⁾ W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1908, 1909; diese Zeitschr. 27, 441, 1910.

⁴⁾ C. Engler und J. Weißberg, Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation. 1904.

⁵⁾ Chodat und Bach, Archives des Sciences physiques et naturelles. Genève 1904.

⁶⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 315, 1908 und die folg. Bände.

⁷⁾ A. Bach, diese Zeitschr. 31, 443, 1911.

nahme von Fermenten, indem dieselben nicht immer durch Kochen abgetötet werden. Methylenblau kann durch verschiedene einfache Verbindungen, die Sulphydrylgruppen enthalten, reduziert werden, wie z. B. durch Thioglykolsäure, Cystein, Thiophenol¹⁾.

In der vorliegenden Untersuchung haben wir uns die Aufgabe gestellt, die Wirkung des in Pflanzen eingeführten Methylenblaus auf deren Atmung festzustellen. Bekanntlich enthält Methylenblau keinen Sauerstoff und wird beim Versetzen der mit ihm gefärbten Pflanzen in ein sauerstoffreies Medium zur Leukobase reduziert, indem es gewissen in der Zelle enthaltenen Stoffen einen Teil ihres Wasserstoffs entnimmt. Zu unseren Versuchen haben wir von Grübler bezogenen Farbstoff benutzt.

Als Versuchsobjekte dienten uns etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba* und *Pisum sativum*, in Wasser aufgeweichte Samen von *Pisum sativum*, *Ricinus communis* und *Lupinus luteus*, sowie Weizenkeime²⁾. Die etiolierten Stengelspitzen von *Vicia Faba* und *Pisum sativum* wurden zuerst 1 Tag lang im Dunklen auf 10%iger Saccharoselösung kultiviert, hierauf 10 bis 30 Minuten auf Filtrierpapier getrocknet und dann auf 1 bis 2 Stunden in einen Atmungsapparat gelegt, um die Atmungsenergie unter gleichen Bedingungen vergleichen zu können. Hierauf wurde eine Kontrollportion im Dunklen 2 Tage hindurch auf 10%iger Saccharose und eine Versuchsportion auf 10%iger Saccharose + Methylenblau kultiviert und sodann die Energie der Atmung bei beiden Portionen festgestellt. Nach 24 Stunden wurden die Pflanzen abgewaschen und auf frische Lösungen verbracht. Die Samen von *Pisum sativum* (je 50 Samenkörner auf jede Portion) wurden 1 Tag hindurch in Wasser aufgeweicht, die Schalen von ihnen abgezogen und die Samen sodann in die beiden Kotyledonen zerlegt. Der weitere Verlauf des Versuchs war der gleiche wie bei den Spitzen der etiolierten Stengel, nur daß statt Saccharoselösung Wasser verwendet wurde. Bei einigen Versuchen befanden sich die Erbsensamen während der Atmung in einem flüssigen Medium statt in der Luft. Die Weizenkeime (je 3 g auf jede Portion) wurden in dünner, gleichmäßiger Schicht auf

¹⁾ W. Straßner, L. c.

²⁾ Zu beziehen bei Maggi, Zürich, Stadtmühle.

festem Filtrierpapier am Boden von Krystallisationschälchen untergebracht. Auf die Kontrollportion wurde eine dünne Schicht Wasser gegossen, auf die Versuchsportion dagegen wässrige Methylenblaulösung. Nach 1stündigem Einweichen wurde die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und die Keime samt dem Filtrierpapier in den Atmungsapparat verbracht.

Nach 2tägigem Einweichen in Methylenblaulösung werden die Erbsensamen von dem Farbstoff ganz durchdrungen und nehmen eine blaue Färbung an. An etiolierten Stengelspitzen von *Vicia faba* und *Pisum sativum* färben sich die Gefäßbündel und die Mesophyll des Blattes hauptsächlich an dessen Rändern. Einige Blättchen färbten sich ganz.

Während der Atmung wurden die Pflanzen in etwas modifizierten Chudiakowschen Apparaten¹⁾ untergebracht. Die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde vermittelt Pettenkoferscher Röhren²⁾ bestimmt. Zur Bestimmung der in sauerstofffreiem Medium ausgeschiedenen Kohlensäuremenge wurde ein Wasserstoffatom durch den Apparat hindurchgeleitet³⁾. Die Alkoholmenge wurde vermittelt des Pyknometers⁴⁾ festgestellt. Um die Atmung abgetöteter Pflanzen zu untersuchen, wurden letztere zuvor nach der Palladinschen Methode zum Erfrieren gebracht⁵⁾.

Versuch I.

Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (3,69 g)		Versuchsportion (3,66 g)		
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
	Ohne Methylenblau				
4 St. (19°)	12,0	81,9	12,6	86,0	—
	Methylenblau 0,1%				
4 St. (19,5°)	10,0	67,7	17,8	122,9	+ 78

¹⁾ N. Iwanoff, diese Zeitschr. 32, 77, 1911.

²⁾ W. Palladin und S. Kostytschew, Methoden zur Bestimmung der Atmung der Pflanzen. Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden 3, 479, 1910.

³⁾ l. c., S. 504.

⁴⁾ l. c., S. 508.

⁵⁾ W. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 407, 1906.

Versuch 2.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (4,43 g)		Versuchsportion (4,39 g)		
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
	Ohne Methylenblau				
2 St. (18°)	10,5	118,5	9,9	112,7	—
	Methylenblau 0,5%				
2 St. (18°)	9,1	102,7	15,2	173,1	+ 69
2 St. (18°)	9,0	101,5	14,8	168,6	+ 66
	Wasserstoffstrom				
2 St. (18°)	6,3	71,1	7,2	80,8	+ 11
16 St. (17–18°)	28,7	40,6	19,0	27,4	— 33
	Luftstrom				
1St.30Min.(17,5°)	7,8	117,3	6,3	96,0	— 19
	$\frac{J}{N} = \frac{6,3}{9,0} = 0,7$		$\frac{J}{N} = \frac{7,2}{14,8} = 0,48$		

Versuch 3.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (8 g)		Versuchsportion (7,8 g) Methylenblau 0,5%		
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
	Luftstrom				
1St.45Min. (19°)	7,4	52,8	15,0	109,8	+ 107,9
	Wasserstoffstrom				
1St.45Min. (19°)	6,8	48,5	9,8	71,7	+ 47
12 St. (18°)	26,2	27,3	33,3	35,5	+ 30
	$\frac{J}{N} = \frac{6,8}{7,4} = 0,91$		$\frac{J}{N} = \frac{9,8}{15,0} = 0,65$		

Versuch 4.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (6,99 g)		Versuchsportion (6,91 g)		
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
	Ohne Methylenblau				
4 St. (16,5°)	19,4	69,3	19,4	69,3	—
	Methylenblau 0,5%				
4 St. (18°)	18,1	64,7	35,4	128,0	+ 98
	Erfrorene im Wasserstoffstrom				
24 St. (18°)	15,8	9,4	14,1	8,5	— 10
	Luftstrom				
24 St. (18°)	21,0	12,5	20,2	12,1	— 3,2

Versuch 5.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (3,8 g)		Versuchsportion (3,6 g)		Methylenblau 1%
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
4 St. (18°)	8,0	52,0	13,72	95,3	+ 81
Erfrorene im Wasserstoffstrom					
7 St. (19°)	4,56	17,1	4,2	16,7	- 1,8
13 „ (18,5°)	2,8	5,6	2,4	5,1	- 7,2
Luftstrom					
24 St. (18°)	7,28	7,9	7,02	8,1	+ 1

Versuch 6.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion (9,17 g)	2. Portion (9,02 g)		3. Portion (8,89 g)	
	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimu- lierung %	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
2 St. (17,5°)	100,9	98,1	—	97,2	—
2% PO ₄ HNa ₂ + Methylenblau 0,5%					
2 St. (18°)	80,1	96,0	+ 20	94,4	+ 18
Wasserstoffstrom					
20 St. (17°)	41,5	42,7		50,6	+ 9
Luftstrom					
2St. 30 Min. (17°)	52,8	71,3	+ 37	68,0	+ 31
Erfrorene im Luftstrom					
18 St. 30 Min. (18°)	42,1	49,5	+ 19	52,1	+ 25
Wasserstoffstrom					
16 St. 30 Min. (18°)	17,2	26,9	+ 59	25,2	+ 50

Versuch 7.
Etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion (7,92 g)	2. Portion (7,91 g)		3. Portion (7,91 g)	
	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimu- lierung %	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
2St. 15 Min. (17°)	94,2	89,3	—	96,6	—
2% PO ₄ HNa ₂ + Methylenblau 0,5%					
4 St. (17°)	98,7	108,1	+ 9	126,0	+ 27
Erfrorene im Wasserstoffstrom					
22 St. 30 Min. (17°)	24,1	36,1	+ 42	34,0	+ 35
Luftstrom					
8 St. (18°)	26,4	16,7	- 37	17,8	- 33

Versuch 8.

Etiolierte Stengelspitzen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	Kontrollportion (0,98 g)		Versuchsportion (1,03 g)		
	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ mg	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
2 St. (20°)	4,0	204,0	4,8	233,0	—
				Methylenblau 0,5%	
2 St. (19°)	3,2	168,3	4,0	194,0	0
				Wasserstoffstrom	
2 St. (19°)	2,6	132,0	3,0	145,0	0
12 St. (19°)	7,4	62,9	10,2	82,5	0
				Luftstrom	
1 St. 30 Min. (19°)	2,2	149,6	2,6	168,0	0
	$\frac{J}{N} = \frac{2,6}{3,2} = 0,81$		$\frac{J}{N} = \frac{3,0}{4,0} = 0,75$		

Versuch 9.

Etiolierte Stengelspitzen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion (2,9 g)	2. Portion (2,89 g)		3. Portion (2,86 g)	
	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimu- lierung %	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
2 St. (18°)	182,7	174,7	—	171,3	—
				Chinin 0,1% Methylenblau 0,5%	
7 St. 45 Min. (17°)	170,3	184,8	+14,5	189,9	+19,6
				Wasserstoffstrom	
2 St. (17°)	82,9	86,6	+7	103,0	+16

Versuch 10.

Etiolierte Stengelspitzen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion (2,76 g)	2. Portion (2,79 g)		3. Portion (2,78 g)	
	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimu- lierung %	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung %
2 St. (18,5°)	188,4	207,1	—	201,4	—
				Chinin 0,1% Methylenblau 0,5%	
7 St. (18°)	207,0	207,3	0	245,0	+18
				Wasserstoffstrom	
16 St. (18°)	64,5	38,7	—40	46,7	—28
				Luftstrom	
2 St. (18°)	195,0	103,3	—40	97,1	—50

Versuch 11.

Etiolierte Stengelspitzen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion (5,66 g)	2. Portion (5,88 g)		3. Portion (5,88 g)	
	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimu- lierung ‰	CO ₂ auf 100 g pro 1 St.	Stimulierung ‰
2 St. (17°)	125,2	117,3	—	115,6	—
		Chinin 0,1‰		Methylenblau 0,5‰	
5St. 30 Min. (18°)	144,4	166,6	+ 22	159,1	+ 15
		Wasserstoffstrom			
16St. 50 Min. (17°)	57,2	51,3	— 6	48,9	— 8
		Luftstrom			
2 St. (17°)	184,3	137,7	— 25	110,5	— 40
		Erfrorene im Luftstrom			
1St. 30 Min. (18,5°)	32,9	24,9	— 24	28,3	— 15
		Wasserstoffstrom			
16St. 30 Min. (18°)	3,7	3,6	—	3,6	—
		Luftstrom			
4St. 30 Min. (18°)	7,4	5,7	— 23	5,3	— 28

Versuch 12.

Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer u. Temp.	Kontrollportion	Versuchsportion
1 St. 45 Min. (19°)	10,8	10,0
		Methylenblau 1‰
1 St. 45 Min. (19°)	14,8	15,8 (+ 7‰)
		Wasserstoffstrom
1 St. 45 Min. (19°)	13,2	17,0 (+ 29‰)
	$\frac{J}{N} = 0,68$	$\frac{J}{N} = 1,07$

Versuch 13.

Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
2 St. (18°)	10,8	10,4	10,0
		Chinin 0,1‰	Methylenblau 1‰
2 St. (17°)	14,4	10,4 (— 28‰)	15,6 (+ 8‰)
		Wasserstoffstrom	
2 St. (17°)	9,6	7,6 (— 21‰)	15,6 (+ 62‰)
13 „ 15 Min. (17°)	56,6	46,2 (— 19 „)	79,2 (+ 39 „)

Versuch 13 (Fortsetzung).

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
Luftstrom			
1 St. 30 Min. (17,5°)	13,2	7,2 (-45%)	19,6 (+47%)
	$\frac{J}{N} = 0,66$	$\frac{J}{N} = 0,73$	$\frac{J}{N} = 1,0$

Versuch 14.

Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
1 St. (17°)	5,3	5,3	5,0
		Methylenblau 1%	Methylenblau 2%
4 St. 45 Min. (25°)	48,1	70,7 (+48%)	63,0 (+36%)
1 " 35 " (25°)	22,9	31,6 (+38 ")	24,8 (+8 ")
		Wasserstoffstrom	
1 St. 35 Min. (25°)	27,5	44,2 (+64%)	36,8 (+34%)
13 " 45 " (25°)		CO ₂ war nicht bestimmt	
		Luftstrom	
1 St. 15 Min. (25°)	11,4	30,2 (+165%)	24,6 (+115%)
	$\frac{J}{N} = 1,20$	$\frac{J}{N} = 1,43$	$\frac{J}{N} = 1,48$

Versuch 15.

Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
	CO ₂ auf 100 Samen pro 1 Stunde		
2 St. (18°)	14,8	14,2	13,1
		Methylen- blau 0,5%	Methylenblau 1%
1 St. 5 Min. (17°)	19,3	21,4 (+11%)	23,5 (+21%)
		Wasserstoffstrom	
1 St. 5 Min. (17°)	15,9	22,2 (+39%)	23,5 (+47%)
7 " (17°)	12,7	21,0 (+65 ")	20,3 (+59 ")
14 " (17,5°)	13,1	19,2 (+47 ")	20,4 (+55 ")
		Luftstrom	
1 St. 5 Min. (17,5°)	17,5	33,3 (+90%)	31,7 (+80%)
8 " (17,5°)	13,3	16,8 (+28 ")	18,9 (+41 ")
		Erfrorene im Luftstrom	
1 St. 5 Min. (18°)	29,5	29,1 (-8%)	26,2 (-12%)
		Wasserstoffstrom	
1 St. 5 Min. (18,5°)	34,8	36,0 (+3%)	28,9 (-17%)
14 " (18,5°)	15,4	15,3 (-1 ")	14,3 (-8 ")

Versuch 16.
Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
	CO ₂ auf 100 Samen pro 1 Stunde		
3 St. 30 Min. (17°)	9,8	9,8	8,8
		Chinin 0,05%	Methylen- blau 0,5%
		Erfrorene im Luftstrom	
2 St. (18°)	26,8	18,4 (− 38%)	24,8 (− 8%)
		Wasserstoffstrom	
2 St. (18°)	21,6	14,0 (− 31%)	22,6 (+ 4%)
13 " 10 Min. (18°)	9,6	6,2	11,2
7 " (18°)	10,1	6,2 (− 38%)	7,5 (− 13%)
18 " (18°)	6,9	4,2	4,7
		Luftstrom	
1 St. 30 Min. (18°)	12,0	5,6 (− 53%)	8,8 (− 27%)
	$\frac{J}{N} = \frac{21,6}{26,8} = 0,8$	$\frac{J}{N} = \frac{14,0}{18,4} = 0,76$	$\frac{J}{N} = \frac{22,6}{24,8} = 0,9$

Versuch 17.
Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion
	CO ₂ auf 100 Samen pro 1 Stunde	
1 St. (16°)	8,4	8,4
	Wasser	Methylenblaulösung (0,5%)
1 St. (16°)	15,4	16,5 (+ 7%)
15 " 30 Min. (15,5°)	8,7	10,9 (+ 25 ")
	Wasserstoffstrom	
1 St. (15,5°)	13,7	17,7 (+ 29%)
7 " (15,5°)	11,0	15,9 (+ 45 ")
14 " 30 Min. (15,5°)	9,2	12,6 (+ 41 ")
	Luftstrom	
6 St. (17°)	11,3	16,1 (+ 42%)
	Erfrorene im Luftstrom	
	Wasser	Methylenblaulösung
1 St. (17°)	19,4	26,8 (+ 38%)
	Wasserstoffstrom	
1 St. (17°)	21,7	24,0 (+ 11%)
17 " 35 Min. (17°)	12,2	14,2 (+ 16 ")
21 " 45 " (17°)	7,5	4,9 (− 35 ")
	Luftstrom	
1 St. 30 Min. (17°)	24,5	25,0

Versuch 18.
Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
	CO ₂ auf 100 Samen pro 1 Stunde		
1 St. (17,5°)	20,0	17,3	16,0
	Wasser	Methylenblau- lösung (0,5%)	Methylenblau- lösung (1%)
16 St. (17,5°)	10,0	10,2 (+ 2%)	10,6 (+ 6%)
	Wasserstoffstrom		
24 St. (17°)	12,4	13,3 (+ 7%)	15,1 (+ 21%)
	Luftstrom		
5 St. (17°)	10,8	13,8 (+ 19%)	15,4 (+ 43%)
	Erfrorene im Wasserstoffstrom		
	Wasser	Methylenblaulösung	
1 St. 5 Min. (17,5°)	16,8	22,8 (+ 36%)	21,3 (+ 27%)
16 " (17°)	8,8	10,9	15,0 (+ 70%)

Versuch 19.
Samen von *Pisum sativum*.

Versuchsdauer und Temp.	1. Portion	2. Portion	3. Portion
	CO ₂ auf 100 Samen pro 1 Stunde		
1 St. (19°)	23,6	22,4	22,4
	Wasser	Methylenblau- lösung 0,5%	Methylenblau- lösung 1%
1 St. (19°)	20,4	19,6	18,8
	Wasserstoffstrom		
15 St. 30 Min. (19°)	13,1	14,4 (+ 9%)	14,8 (+ 13%)
	Luftstrom		
26 St. (19°)	14,4	17,6 (+ 22%)	17,3 (+ 20%)
	Erfrorene im Luftstrom		
	Wasser	Methylenblaulösung	
1 St. (19°)	22,6	26,4 (+ 16%)	24,4 (+ 8%)
	Wasserstoffstrom		
18 St. (19°)	9,4	13,4 (+ 42%)	14,9 (+ 58%)

Die Resultate der Versuche mit etiolierten Stengelspitzen von *Vicia Faba* und mit Samen von *Pisum sativum* sind in folgenden Kurven abgebildet:

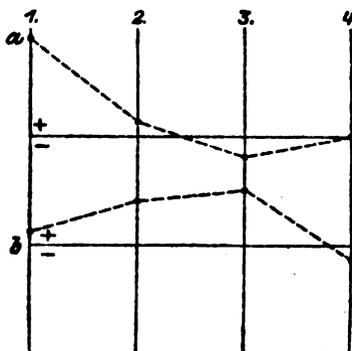


Fig. 1.

. Stengelspitzen von *Vicia Faba*.

+ Samen von *Pisum sativum*.

1. Gefärbte im Luftstrom.

2. Gefärbte im Wasserstoffstrom.

3. Gefärbte nach Wasserstoffstrom wieder im Luftstrom.

4. Gefärbte nach Erfrieren im Luftstrom.

Die zwei horizontalen Linien bedeuten die Mengen der von den Kontrollportionen ausgeschiedenen Kohlensäure.

Versuch 20.

Lebende Samen von *Pisum sativum*. 4 Portionen Samen. 2 Portionen (gefärbte) aus Methylenblaulösung und 2 Portionen (ungefärbte) aus Wasser. Versuchsdauer 24 Stunden. Temperatur 16,5°, Wasserstoffstrom.

a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 560,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 575$ mg. Alkohol in Kontrollportion = 70 mg. Also während des Versuchs wurde gebildet = 505 mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 560,4 : 505 = 100 : 90.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 680,0$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 758$ mg. Alkohol in Kontrollportion = 81,4 mg. Also wurde gebildet = 676,6 mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 680 (+ 21\%) : 676,6 (+ 34\%) = 100 : 99,5.$$

Versuch 21.

Lebende Samen von *Pisum sativum*. Temperatur 18°.

a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 498,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 513,8 - 77 = 436,8$ mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 498,4 : 436,8 = 100 : 87,6.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 700,8$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 770,6 - 80 = 690,6$ mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 700,8 (+ 40\%) : 690,6 (+ 58\%) = 100 : 98,5.$$

Versuch 22.

Lebende Samen von *Pisum sativum*. Temperatur 17,5°.a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 560,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 583,2 - 69 = 514,2$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 560,4:514,2 = 100:93,5.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 734,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 853 - 110 = 743$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 734,4 (+ 31\%):743 (+ 44\%) = 100:101,2.$$

Versuch 23.

Erfrorene Samen von *Pisum sativum*.a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 489$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 425 - 70 = 355$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 489:355 = 100:72,5.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 528$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 411,2 - 70 = 341,2$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 528 (+ 8\%):341,2 (- 4\%) = 100:62,8.$$

Versuch 24.

Erfrorene Samen von *Pisum sativum*.a) Ungefärbte Samen. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 590,4 - 91 = 499,4$ mg.b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 668,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 627 - 100 = 527$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 668,4:527 (+ 5\%) = 100:78,8.$$

Versuch 25.

Erfrorene Samen von *Pisum sativum*. Versuchsdauer 96 Stunden.a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 1198,8$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1177,8 - 135,6 = 1042,2$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1198,8:1042,2 = 100:79,3.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 1040$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 951 - 130 = 821$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1040 (- 10\%):821 (- 20\%) = 100:78,9.$$

Versuch 26.

Lebende Samen (165) von *Ricinus communis*. Temperatur 26°.a) Ungefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 126,6$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 74,2$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100:58,9.$$

b) Gefärbte Samen. $\text{CO}_2 = 134,4$ mg. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 80$ mg.

$$\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100:59,9.$$

Versuch 27.

Erfrorene gefärbte Samen (325) von *Lupinus luteus*.

$$\text{CO}_2 = 76 \text{ mg. } \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 0 \text{ mg.}$$

Versuch 28.

Weizenkeime (3 g). Temperatur 19,5°.

	Luftstrom 2 Stunden	Waasserstoff 2 Stunden	J N
Ungefärbte	9,6	6,2	0,64
Gefärbte (0,5%)	9,3	6,2	0,34

Versuch 29.

Weizenkeime (3 g). Temperatur 17,5°.

	Lebende 2 Stunden	Erfrorene 26 Stunden 25 Min.
Ungefärbte	9,6	27,2
Gefärbte (0,1 ‰)	10,0	28,1
„ (1 ‰)	9,8	27,8

Versuch 30.

Erfrorene Weizenkeime (3 g). Temperatur 19 bis 20°. Wasserstoffstrom.
Versuchsdauer: 28 Stunden.

Ungefärbte	35,6
Gefärbte (0,1 ‰)	38,2
„ (1 ‰)	34,9

Auf Grund der von uns ausgeführten Versuche kann man nachstehende Schlussfolgerungen ziehen.

1. Bei Zutritt von Luft scheiden lebende, mit Methylenblau gefärbte etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba* beträchtlich mehr Kohlensäure aus als die Kontrollstengelspitzen. Das Stimulieren schwankt zwischen 65 und 107°. Gefärbte etiolierte Stengelspitzen von *Pisum sativum* werden in sehr geringem Maße stimuliert, und zwar von 11 bis 18‰. Eine noch schwächere Wirkung übt das Methylenblau auf die Atmung der Samen von *Pisum sativum* aus.

Eine ähnliche Wirkung hat auch das Chinin, das die Atmung der etiolierten Stengelspitzen von *Vicia Faba* stark, diejenige der etiolierten Stengelspitzen von *Pisum sativum* dagegen schwach stimuliert und die Atmung der Samen von *Pisum sativum* vermindert.

Diese verschiedenartige Einwirkung des Methylenblaus und des Chinins auf die Atmung der erwähnten Pflanzen steht in Abhängigkeit von den besonderen Eigenschaften ihrer chemischen Zusammensetzung. Je reicher das Objekt an Atmungschromogenen ist, um so stärker wird seine Atmung durch Methylenblau und Chinin stimuliert. Die wenig Chromogene enthaltenden Erbsensamen werden durch Methylenblau fast gar nicht stimuliert und durch Chinin häufig vergiftet.

2. Die bei Zutritt von Luft beobachtete stimulierende Wirkung von Methylenblau auf die Atmung etioletter Stengelspitzen von *Vicia Faba* hört auf, nachdem dieselben vermittelst niedriger Temperatur abgetötet worden sind. Sowohl die

Versuchs- wie auch die Kontrollportion beginnen eine gleiche Menge von Kohlensäure auszuschcheiden.

Eine derartige Erscheinung wurde von dem einem von uns¹⁾ bei der Einwirkung von Chinin auf abgetötete Pflanzen beobachtet. Methylenblau muß gleich dem Chinin für etiolierte Stengelspitzen als ein schädlicher Stimulator (ein Gift) angesehen werden, indem die Wirkung nützlicher Stimulatoren auch noch nach erfolgtem Abtöten der Pflanzen andauert²⁾.

3. Im sauerstofffreien Raum beginnt die bei Luftzutritt beobachtete erhöhte Ausscheidung von Kohlensäure durch lebende gefärbte Stengelspitzen von *Vicia Faba* rasch nachzulassen und nähert sich allmählich dem von der Kontrollportion im sauerstofffreien Raum ausgeschiedenen Kohlensäurequantum. Das Verhältnis der anaeroben Atmung (J) zur normalen (N) wird unter der Einwirkung von Methylenblau ein viel geringeres. Bei der Kontrollportion ist $\frac{J}{N} = 0,7$, bei

der Versuchsportion dagegen $\frac{J}{N} = 0,48$ (2. Versuch). Für die stimulierende Wirkung des Methylenblaus auf die Menge der von etiolierten Stengelspitzen von *Vicia Faba* ausgeschiedenen Kohlensäure ist demnach die Anwesenheit von Sauerstoff erforderlich, unter dessen Mitwirkung der Kampf mit dem eingeführten Gift vor sich geht, der von einer erhöhten Kohlensäureausscheidung begleitet ist.

Lebende, gefärbte Samen von *Pisum sativum* fahren im Gegenteil in einem Wasserstoffstrom fort, dieselben Quantitäten Kohlensäure auszuschcheiden wie in der Luft. Die Kontrollportion hingegen scheidet in Wasserstoff beträchtlich weniger Kohlensäure aus als in der Luft. Aus diesem Grunde ist das Verhältnis $\frac{J}{N}$ bei gefärbten Samen von *Pisum sativum* ein beträchtlich höheres als bei den Kontrollsamens. Kontrollportion $\frac{J}{N} = 0,66$; Versuchsportion $\frac{J}{N} = 1$ (13. Versuch).

4. Der Überschuß der in sauerstofflosem Raum von gefärbten Samen von *Pisum sativum* ausgeschiedenen Kohlen-

¹⁾ W. Palladin, *Jahrb. f. wissensch. Botanik* 1910, 431.

²⁾ N. Iwanoff, *diese Zeitschr.* 32, 74. 1911.

säure, der bei Zimmertemperatur bis zu 49^o/_o, bei 25° bis zu 64^o/_o im Vergleich zu der Kontrollportion beträgt, wird von einer noch stärker erhöhten Alkoholbildung begleitet. Das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{O}}$ ist bei gefärbten Samen daher fast gleich 1, während es bei den Kontrollsamens weniger als 1 beträgt.

Aus solchen Versuchen geht hervor, daß für die Bildung von Alkohol die Anwesenheit von Stoffen erforderlich ist, die gleich dem Methylenblau imstande sind, gewissen während der Anaerobiose zur Bildung gelangenden Substanzen den Wasserstoff zu entnehmen.

5. In Gegenwart von Sauerstoff findet eine Entfärbung gefärbter Objekte nicht statt. Bei der Anaerobiose findet bei lebenden Objekten keine völlige Entfärbung statt. Für gewöhnlich wird die Färbung nur ganz wenig heller. Bei der anaeroben Atmung abgetöteter Objekte kann eine vollständige Entfärbung nur bei Erbsensamen beobachtet werden. Während des Versuchs in eine Methylenblaulösung versenkte Erbsensamen beginnen sich zu entfärben, solange sie noch am Leben sind, wobei sie auch die Flüssigkeit schwach entfärben. Nach dem Erfrieren werden sowohl die Samen als auch die Flüssigkeit völlig entfärbt.

Schon P. Ehrlich hatte die Beobachtung angestellt, daß abgetötete Objekte die Farbstoffe rascher reduzieren als lebende Objekte.

6. Phosphat (PO_4HNa_2) paralyisiert die schädliche Wirkung des Methylenblaus auf etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba*. An der Luft erhält man eine nur sehr geringe Stimulierung, während in Wasserstoff keine Depression zu bemerken ist.

7. Gefärbte Erbsensamen scheiden nach dem Erfrieren im Wasserstoffstrom weniger Kohlensäure aus als die Kontrollsamens, wenn sie sich in Luft befinden; dagegen mehr als die Kontrollsamens, wenn sie sich in Methylenblaulösung befinden. Dieser Umstand steht wahrscheinlich im Zusammenhang mit der verstärkten Reduktion des Methylenblaus durch die abgetöteten Samen. Die getöteten Samen bedürfen daher eines bedeutend größeren Quantum von Methylenblau, damit dessen stimulierende Wirkung zutage tritt.

Über die quantitative Bestimmung des Milchfettes vermittelt der Fettkugeln.

Von

H. P. T. Oerum.

(Eingegangen am 3. Juli 1911.)

Seit Jahren tauchen immer Angaben auf über die Möglichkeit, zum klinischen Gebrauche das Milchfett quantitativ vermittelt der Fettkugeln zu bestimmen.

Die erste derartige Angabe verdanken wir Bouchut, der die Fettmenge vermittelt der Anzahl der Fettkugeln zu bestimmen vorschlug; diese Methode ist aber vollständig verfehlt, indem gar kein Verhältnis zwischen der Anzahl der Fettkugeln und der prozentischen Fettmenge wegen der sehr variierenden Anzahl der Fettkugeln besteht.

Primavera¹⁾ hat 1907 die Methode wieder mit einigen Modifikationen aufgenommen, indem er gleichzeitig den Durchmesser einer bestimmten Anzahl Fettkugeln bestimmt, wonach er den Durchschnittsdiameter einer Kugel berechnet und dann nach der Formel $\frac{4}{3}\pi r^3$ und der Anzahl der Fettkugeln die Fettmenge findet. Die prozentische Abweichung ist zwischen 0 und 22,94 oder 6,46 als mittlerer Fehler. Primavera kennt nun die schönen Untersuchungen Bohrs von 1880²⁾ nicht, wodurch dieser definitiv die Frage der Fettbestimmung durch die Anzahl der Fettkugeln und durch die Bestimmung der Diameter entschieden hat.

Von einer gewissen Eigentümlichkeit der Technik der Zählung der Fettkugeln ganz abgesehen, die Primavera gar nicht

¹⁾ Diese Zeitschr. 3, 508.

²⁾ Studier over Mælk. Diss. Köbenhavn 1880.

erwähnt, die aber dem Forscher, der an die Zählung der Blutkörperchen gewöhnt ist, auffällt, gibt es eine bedeutende Schwierigkeit bei der Bestimmung des Diameters.

Bohr teilte die Fettkugeln mit Bezug auf deren Größe in 3 Klassen ein, wonach innerhalb einer gewissen Anzahl die Kugelanzahl jeder Klasse gezählt wurde. Darauf wurde das Durchschnittsvolumen einer Kugel jeder Größenklasse bestimmt, denn es genügt nicht, den Diameter der Kugeln innerhalb so weiter Grenzen als die für die 3 Klassen gegebenen zu wissen, da kleine Variationen im Diameter das Resultat der Volumenberechnungen sehr bedeutend verändern.

Dies wurde versuchsmäßig festgestellt, indem Bohr in 2 verschiedenen Milchproben den Diameter jeder einzelnen Kugel in starker Vergrößerung maß und darauf die arithmetische Durchschnittszahl der verschiedenen Größen innerhalb jeder Klasse nahm.

Trotz dieser Sorgfältigkeit war das Resultat, wie es aus der angeführten Tabelle hervorgeht, sehr schlecht, wenn auch der Fehler konstant war. Ich gebe nur die Versuche an, wo der Fettrauminhalt durch das Gewicht vermittelt Division mit dem direkt bestimmten spezifischen Gewichte berechnet worden ist.

Versuchsnummer	Fett in 100 ccm ccm	Berechnetes Fett nach der Zählmethode ccm
4	2,130	4,709
11	2,116	4,487
12	1,687	3,979
13	1,063	2,594
14	3,848	6,687
15	3,779	7,505
16	1,895	3,958
17	2,551	5,639
18	3,161	6,823

Bohr suchte den konstanten Fehler und fand endlich, daß die Bildgröße des Diameters der Milchku­geln nicht nur von dem gebrauchten Vergrößerungsgrade, sondern auch von den um die Kugeln vermittelt des Mikroskops hervorgebrachten Diffraktionskreisen abhängig ist; die letzteren hängen nicht allein von der Vergrößerung sowohl von dem Öffnungswinkel des Systems als auch von der Wellenbreite des verwendeten Lichtes ab.

Bohr korrigierte nun seine Diameterbestimmung und fand vermittelt der neuen Durchschnittsvolumina die folgenden Zahlen:

Versuchsnummer	Fett in 100 ccm ccm	Berechnetes Fett nach der Zählmethode ccm
4	2,130	2,326
11	2,116	2,521
12	1,687	1,762
13	1,063	1,067
14	3,848	3,534
15	3,779	3,884
16	1,895	1,870
17	2,551	2,815
18	3,161	3,393

Diese Zahlen stimmen ganz gut überein, wenn man die geringe Anzahl Fettkugeln, auf die die Bestimmung basiert ist, in Betracht nimmt.

Die Methode fordert aber, um eine leidliche Genauigkeit zu erreichen, daß so viele Dinge berücksichtigt werden, von der Beschwerde mit der Gruppierung der Fettkugeln selbst ganz abgesehen, daß sie nie die klinische Methode werden kann.

Bohr hat in derselben Abhandlung eine andere Methode geprüft, nämlich eine optische Methode mit Panums Lactoskop, die wirklich darauf Anspruch machen könnte, eine klinische Methode genannt zu werden, indem sie sich am besten zur Bestimmung von Variationen in der Fettmenge innerhalb derselben Handelsmilch eignet (Mischungsmilch).

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, ob diese optische Methode in Verbindung mit der Kenntnis der Anzahl der Fettkugeln uns die Fettmenge erkennen lassen könnte, da eine mit leidlicher Genauigkeit unternommene chemische Bestimmung doch stets ein Laboratorium verlangt.

Unsere Untersuchungen basieren auf Bohrs Bestimmungen, da bei diesem Forscher ein leidlich hinreichendes, allseitig untersuchtes Material vorlag.

Das Verfahren mit der Panumschen Methode ist das folgende:

In einem Meßkolben wird eine Mischung von 5 ccm Milch und 95 ccm Wasser hergestellt. Mit dieser Mischung wird eine Bürette gefüllt, darauf gießt man 500 ccm Wasser in einen vier-

eckigen Kasten, dessen Wände und Boden ebene Glasplatten sind. Da der Boden dieses Versuchskastens ein Quadrat von 10 cm Seitenlänge bildet, wird die Dicke der Wasserschicht von oben bis unten 5 cm. Der Glaskasten wird nun auf ein bedrucktes Blatt gestellt (Bohr verwendete einen mittelgroßen lateinischen Druck), und indem man mit einem hölzernen Spatel herumrührt, wird aus der Bürette die Milohmischung hinzugesetzt, bis es nicht länger möglich ist, durch die Höhe der Flüssigkeitsschicht einen Buchstaben des auf dem untergelegten Papier Gedruckten bestimmt zu lesen. Die gebrauchte Anzahl Kubikzentimeter wird abgelesen und gibt das Maß der Durchsichtigkeit an. Die verwendete Beleuchtung muß das helle Tageslicht sein und nicht das direkte Sonnenlicht. Das Auge wird bei der Ablesung senkrecht über dem gedruckten Buchstaben gehalten, und die Flüssigkeit muß völlig zur Ruhe kommen, ehe man entscheidet, ob eine hinlängliche Mischung von Milch hinzugesetzt sei, denn wenn die Flüssigkeit in stärkerer Bewegung begriffen ist, wird nicht soviel der Milohmischung gebraucht. Bohr fand, daß die arithmetische Durchschnitzzahl der prozentischen Abweichungen 1,6% war (mit einem Maximum von 3,8%), weshalb also die Methode, die Durchsichtigkeit zu bestimmen, eine vortreffliche genannt werden muß.

Bohr findet nun durch seine fortgesetzte Untersuchung, daß, wenn man dessenungeachtet die Fettmenge nicht bestimmen kann, dies darauf beruht, daß die Durchsichtigkeit in keinem konstanten Verhältnis zur Fettmenge steht. Der Grund dieses Verhältnisses könnte sein, daß in der Milch sich andere lichtabsorbierende Stoffe befinden oder daß gleich große Mengen von Fett nicht gleich viel Schatten geben (die Fettkugeln sind ja von sehr verschiedener Größe und könnten deshalb möglicherweise Licht im Verhältnis zu ihrem Großzirkelareal absorbieren, weshalb die kleinen Kugeln im Verhältnis zu ihrem Volumen mehr Licht als die großen absorbieren müssen, da die lichtabsorbierenden Flächen sich wie die Radien in der 2. Potenz verhalten, während der Rauminhalt sich wie die Radien in der 3. Potenz verhält). Die Lichtabsorption würde dann mit der Kugelanzahl wachsen.

Bohr berechnet nun nach seinen Messungen die Summe der Großzirkelareale der Milchugeln und kommt zu dem Satze,

daß diese Größe weit besser als der Rauminhalt des Fettes durch die optischen Methoden bestimmt wird.

Endlich ist er sich wohl bewußt, daß verwickelte optische Erscheinungen möglicherweise auf die ganze Bestimmung einwirken könnten.

Unsere Bemühungen gingen nun darauf aus, zu untersuchen, ob man durch gleichzeitige Bestimmung der Fettkugelanzahl eine bessere Bestimmung erhalten könne, da eine solche Zählung verhältnismäßig leicht ist; in dem folgenden wird nun die Kugelanzahl für 1 com Milch $\cdot 10^6$ (also für alle 3 Kugelklassen zusammen) und die Durchsichtigkeitszahl der Milch als g bezeichnet.

Das wahrscheinlichste ist, daß die Durchsichtigkeitszahl g mit dem Rauminhalt des Fettes umgekehrt proportional ist, oder mit dem Areal der Oberfläche desselben. — Bohr nimmt statt der ganzen Oberfläche $\frac{1}{4}$ derselben, nämlich die Summe der Großzirkelareale der Milchkugeln (und in diesem Sinne ist auch der Begriff „Areal“ im folgenden zu verstehen oder umgekehrt proportional sowohl mit dem Rauminhalt als dem Areal). Es zeigt sich auch, daß diese Annahme mit Bezug auf den Rauminhalt jedenfalls für die fettarmen oder „mageren“ Milchsorten annähernd richtig ist, während sie für die fettreicheren oder „fetten“ Milchsorten nicht richtig zu sein scheint. Was diese betrifft, so kann man sich jedoch helfen, wenn man außer g auch κ kennt.

Die zwei Begriffe „magere Milch“ und „fette Milch“ fallen nicht ganz mit „abgerahmter Milch“ und „Vollmilch“ zusammen, da es sich notwendig gezeigt hat, unter die mageren Milchsorten Bohrs (s. Tab. Ia, S. 6 und Tab. XVIII, S. 71) zwei Milchproben, von denen eine, Nr. 3, als „Vollmilch“ bezeichnet wurde, die andere, Nr. 12, als „abgerahmte Milch“, aufzunehmen. Diese zwei Milchproben sind wie Nr. 13 und Nr. 16 sowohl durch einen geringen Fettinhalt als (s. Tab. Ia, S. 6) auch durch eine verhältnismäßig große Prozentzahl für die kleinsten, 3. Klasse, Kugeln ausgezeichnet.

Die Zahlen der Kolonnen 3 und 5 der Tab. XVIII S. 71, werden wir als (3) und (5) bezeichnen, die Zahlen der Kolonne 2 „Durchsichtigkeitszahlen“ haben wir, wie oben erwähnt, mit g bezeichnet.

Der Fettstoff in 1 cem Milch hat das Areal A , (3) entsprechend in Tab. XVIII, und Volumen V , (5):100 entsprechend in Tab. XVIII.

Das Verhältnis zwischen dem Areal A und dem Volumen V .

Wenn man V als auf $n \cdot 10^6$ gleichgroße Kugeln mit dem Volumen $v = \frac{V}{n \cdot 10^6}$ und dem Diameter $d = \left(\frac{6v}{\pi}\right)^{1/3} = \left(\frac{6V}{n\pi}\right)^{1/3} \cdot \frac{1}{100}$ verteilt denkt, so wird das Verhältnis zwischen dem Großzirkelareale dieser Mittelkugel und dem Volumen, nämlich $\frac{3}{2d} = 150 \left(\frac{\pi}{6}\right)^{1/3} \left(\frac{n}{V}\right)^{1/3} = 120 g \left(\frac{n}{V}\right)^{1/3}$, dasselbe wie das Verhältnis $A:V$ werden. Für das Verhältnis $A:100V$, dem Verhältnis zwischen den Beobachtungsgrößen (3) und (5) entsprechend, bekommt man unter der erwähnten Voraussetzung von gleich großen Kugeln

$$A:100V = 1,209 \left(\frac{100n}{100V}\right)^{1/3}, \text{ oder}$$

$$A:100V = 5,612 \left(\frac{n}{100V}\right)^{1/3},$$

ein Verhältnis, das also — wie es wahrscheinlich ist — mit n wächst. Es kann jedoch nur als eine rohe Annäherung betrachtet werden und wird in der Regel sich als zu groß zeigen. In der nachstehenden Formel 1 war das Verhältnis proportional mit $n^{1/3}$, nicht wie hier mit $n^{1/2}$.

1. Magere Milch (abgerahmte Milch).

Hiervon gibt es also nur vier Milchproben, nämlich Nr. 3, 12, 13 und 16. Für alle diese sind $100V$, oder (5), $< 1,9$. Ist der Fettgehalt $> 1,9$, so muß die Milch wahrscheinlich als „fette Milch“ gerechnet werden.

Da der auf dem chemischen Wege für Nr. 3 gefundene Rauminhalt (5) = 1,258 — wie bei allen den 10 folgenden Nummern mit Ausnahme von Nr. 4 — mit einem, nicht besonders bestimmten, sondern willkürlich gewählten Wert (= 0,95) des spezifischen Gewichts berechnet ist und außerdem in einem ziemlich hohen Grade von dem (s. Tab. VI,

S. 32) vermittelt der Milchku^geln berechneten Rauminhalte 1.578 abweicht, werde ich in diesem Falle mich an den letzteren halten und (5) = 1,578 setzen.

Unter Bezugnahme auf dasjenige, was oben von dem Verhältnisse der mageren Milchsorten zu der Durchsichtigkeitszahl g angeführt ist, können hier das Produkt des Rauminhalts V und die Durchsichtigkeitszahl g als konstant betrachtet werden. Das Verhältnis zwischem dem Areal A und dem Rauminhalt V zeigt sich am nächsten proportional mit $(gn)^{1/4}$.

Ich setze dann:

$$\left. \begin{aligned} 100V &= \frac{46}{g} \\ \text{und} \\ A : 100V &= 1,768 (gn)^{1/4} \end{aligned} \right\} \dots \dots \dots (1)$$

In der ersten Formel 1 geht die Kugelanzahl nicht mit ein. Wird diese mit in Rechnung gezogen, so kann man — vielleicht allgemeingültiger — setzen:

$$100V \cdot g = 50,5 - 2,5(n - 6,2)^2 \dots \dots \dots (1')$$

Aus der untenstehenden Tabelle I geht hervor, daß die in Formel 1' berechneten Rauminhalte fast vollständig mit den in 1 berechneten übereinstimmen, so daß sie keine wesentliche Veränderung in der zweiten Formel 1 für das Verhältnis zwischen dem Areal und dem Rauminhalte hervorrufen können.

Tabelle I.

Nr.	g	n	(5)	Berechnet aus 1		(3)	Berechnet aus 1		Berechnet aus 1'	
				100V	(5) - 100V		A	(3) - A	100V	(5) - 100V
3	26,3	4,2	1,578	1,749	- 0,171	9,538	10,02	- 0,48	1,540	+ 0,038
12	30,0	6,2	1,687	1,534	+ 0,153	10,87	10,01	+ 0,86	1,684	+ 0,003
13	41,4	4,7	1,063	1,111	- 0,048	7,296	7,337	- 0,041	1,084	- 0,021
26	25,0	5,0	1,895	1,840	+ 0,055	10,59	10,88	- 0,29	1,876	+ 0,019

Die Differenzen (5) - 100V und (3) - A sind in numerischer Hinsicht kleiner als die wahrscheinlichen Fehler der Beobachtungsgrößen (5) und (3), so daß die Formeln 1 und besonders 1' für die vier Milchsorten als befriedigend betrachtet werden müssen; was ihre Zuverlässigkeit betrifft, so muß man sich aber erinnern, daß sie nur auf vier Untersuchungen sich stützen.

Das Areal A zeigt sich proportional mit $V \cdot g^{1/2}$ (der ersten, gemäß proportional mit $V^{1/2}$) und mit $n^{1/2}$. Es wächst also bei derselben Fettmenge V mit der Anzahl der Kugeln, wird deshalb desto größer, je kleiner die Kugeln sind.

2. Fette Milch (Vollmilch).

Es wird hier — namentlich wegen der starken Variation im Produkt $100V \cdot g$ [(5) · (2), Kolonne 6 in der Tabelle XVIII, S. 71 entsprechend] — sehr schwierig, eine leidlich einfache Relation zwischen V , g und n darzustellen, wenn bei derselben V , (5):100 entsprechend, mit hinlänglicher Genauigkeit erhalten werden soll, also so, daß der numerische Wert der Differenz (5) — $100V$ ungefähr dem wahrscheinlichen Fehler der Beobachtungsgröße (5) entspricht. Ist der Rauminhalt (5) durch Division des auf dem chemischen Wege gefundenen Gewichts mit dem spezifischen Gewichte des Fettes bestimmt, dann ist es notwendig, wenn kein bedeutender Fehler bei (5) entstehen soll, daß das spezifische Gewicht genau bestimmt ist; aber nur in acht von den hier benutzten Milchuntersuchungen hat man einen Mittelwert (0,95) des spezifischen Gewichts benutzt, während derselbe in 11 anderen Fällen bei der direkten Bestimmung (s. Tab. VI, S. 32) von 0,81 bis 0,99 variierte. Selbst durch eine direkte Bestimmung des spezifischen Gewichts kann dasselbe jedoch nur mit höchstens zwei genauen Ziffern angegeben werden, von denen selbstverständlich die letzte (die 2. Dezimale) nicht fehlerfrei ist, woraus folgt, daß im allgemeinen in (5) nicht mehr als zwei genaue Ziffern erwartet werden können, von denen die zweite (1. Dezimale) nicht fehlerfrei ist. — Außer auf dem chemischen Wege sind die Rauminhalte auch durch Zählung und Messung der Milchkugeln (s. Tab. VI, S. 32) bestimmt worden; vergleicht man die auf diese Weise gefundenen Rauminhalte mit den auf chemischem Wege erhaltenen, so findet man (s. Tab. VI), daß die in numerischer Beziehung größten Differenzen 0,540, 0,405, 0,389, 0,320, 0,314 usw. sind, die wohl ungefähr der Genauigkeit von (5) in Tab. XVIII entsprechen werden. — In einem einzelnen Falle (die Milchprobe Nr. 5) habe ich gemeint, den durch die Milchkugeln gefundenen Rauminhalt 2,000 dem in der Tab. XVIII für (5) aufgeführten Rauminhalt 2,540 vorziehen zu müssen.

Für die 14 Milchproben glaube ich setzen zu können:

$$100 V = \frac{15,6}{\sqrt{g}} + \frac{n}{8} \div 0,911 \quad \dots \dots \dots (2)$$

und

$$A : 100 V = 1,58 (gn)^{1/4}$$

Diese letztere Formel ist von derselben Form als die zweite in 1 und gibt Anlaß zu ähnlichen Betrachtungen.

Ich habe später gefunden, daß das Areal, das ich hier mit A' bezeichnen werde, um es von dem bei Formel 2 bestimmten Areal A zu unterscheiden, mit einem ein wenig kleineren Maximumfehler berechnet werden kann und unabhängig von dem Rauminhalt V durch die Formel:

$$A' = 10,42 + 25 \frac{n}{g} \dots \dots \dots (2')$$

Die hieraus berechneten Werte von A' finden sich nebst den Werten in Formel 2 von A und $100 V$ gemäß in untenstehender Tabelle II angeführt.

Das Verhältnis zwischen A' und $100 V$ wird dann etwas verschieden von dem Verhältnisse zwischen A und $100 V$, nämlich zwischen $1,60 (gn)^{1/4}$ und $1,89 (gn)^{1/4}$, am nächsten um $1,74 (gn)^{1/4}$ variierend.

Tabelle II.

Nr.	g	n	(5)	$100 V$	(5) — $100 V$	(3)	A	(3) — A	A'	(3) — A'
1	24,2	2,9	2,410	2,622	- 0,212	10,77	12,00	- 1,23	13,415	- 2,645
2	18,6	6,8	3,300	3,556	- 0,256	18,06	18,84	- 0,78	19,56	- 1,50
4	30,9	4,8	2,130	2,495	- 0,365	12,42	13,76	- 1,34	14,30	- 1,88
5	37,0	3,0	2,000	2,029	- 0,029	9,75	10,11	- 0,36	12,45	- 2,70
6	18,51	1,4	4,053	4,140	- 0,087	24,80	24,93	- 0,13	25,83	- 1,03
7	21,0	3,7	3,115	2,955	+ 0,160	14,81	13,86	+ 0,95	14,825	- 0,915
8	24,1	8,4	3,830	3,317	+ 0,513	21,84	19,77	+ 2,07	19,13	+ 2,71
9	29,2	3,7	2,970	2,438	+ 0,541	14,13	12,40	+ 1,73	13,59	+ 0,54
10	16,3	7,8	2,231	3,953	+ 0,378	24,11	20,44	+ 3,67	22,38	+ 1,73
11	31,0	2,7	2,116	2,228	- 0,112	10,97	10,65	+ 0,32	12,60	- 1,63
14	18,5	5,3	3,848	3,377	+ 0,471	16,91	16,79	+ 0,12	17,58	- 0,67
15	18,4	7,0	3,779	3,600	+ 0,179	19,45	19,16	+ 0,29	19,93	- 0,48
17	22,3	5,6	2,551	3,092	- 0,541	14,87	16,33	- 1,46	16,70	- 1,83
18	17,1	8,4	3,161	3,661	- 0,500	18,02	18,71	- 0,69	19,78	- 1,76

Die Differenzen (5) — $100 V$ sind in numerischer Beziehung nicht größer als die Fehler, die, wie früher angeführt, bei der Bestimmung von (5) bestehen. Auch die Differenzen (3) — A und (3) A' sind, wenn man berücksichtigt, daß das Areal (3) durch Zählung und Messung der Fettkugeln bestimmt

ist, in numerischer Hinsicht eher kleiner als größer, als man es erwarten könnte. — Die Formeln 2 und 2' müssen deshalb wahrscheinlich als hinreichend genau in den 14 hier untersuchten Fällen angesehen werden.

Ich habe einige Beobachtungen angestellt, die in diese zwei Gruppen fallen, und zwar bei Kuhmilch und Frauenmilch, die beide zur Kategorie „Fette Milch“ gehören, aber dessenungeachtet — selbst nach der Einführung einer durch die verschiedenen Beobachtungen bedingten Korrektur der Durchsichtigkeitszahl g — keine Anwendung der vorhergehenden Formeln 2 gestatten. Das spricht ganz gewiß nicht für die Gemeingültigkeit derselben, sondern könnte vielleicht auch von dem Umstande herrühren, daß die Kuhmilch von der von Bohr vor 30 Jahren untersuchten wesentlich verschieden ist, und auch von dem Umstande, daß Kuhmilch und Frauenmilch wesentlich verschieden sind.

Während die Fehler in den beobachteten Rauminhalten (5) in numerischer Hinsicht ungefähr oder ein wenig größer als 0,5 sein könnten, können die Fehler in den entsprechenden — durch Messung des zentrifugierten Fettstoffes — beobachteten Rauminhalten, die wir mit F bezeichnen werden, in numerischer Hinsicht nicht als 0,2 übersteigend angenommen werden. Der Genauigkeitsanspruch der Formeln, die aus meinen Beobachtungen hervorgehen, ist daher viel größer als derjenige, der aus den Formeln 2 sich ableitet. Obgleich die Formeln, die unten für jede der zwei Kategorien, Kuhmilch und Frauenmilch, angegeben werden, den Ansprüchen auf Genauigkeit völlig genügen, muß ich doch an ihrer Gemeingültigkeit zweifeln, teils weil sie — wie oben angeführt — nicht von den Formeln 2 hergeleitet werden können, teils weil sie nur auf verhältnismäßig wenig Beobachtungen beruhen (bzw. 5 und 8), und schließlich wegen ihrer ganz besonderen Form, die durch den plötzlichen Sprung in den übrigens konstanten Werten von bzw. $F \cdot g$ und $F(g + n)$ notwendig gemacht worden ist.

1. Kuhmilch.

Die Milchproben (Milch von verschiedenen Kuhrassen) sind in dem untenstehenden Tableau nach steigenden Werten geordnet ($g + 3n$). Bei dem Übergang von $(g + 3n) = 18,71$ bis $(g + 3n) = 20,00$ zeigt sich ein plötzlicher Sprung in den

Werten von Fg , die außerhalb dieser Werte $(g + 3n)$ sich sonst ziemlich konstant halten. Wenn dies berücksichtigt wird, finde ich, daß der Anspruch auf Genauigkeit zu $100V$ (der aus den Formeln berechnete Wert des Rauminhaltes) völlig durch die Formel befriedigt werden kann:

$$100V \cdot g = \left[34,44 + 3,96 \frac{19,4 - (g + 3n)}{\sqrt{[19,4 - (g + 3n)]^2 + 0,005}} - \frac{1}{2} (g + 3n) \right] \frac{g + 3n}{10} \dots (3)$$

woraus folgt:

$$100V \cdot g = \left[38,40 - \frac{1}{2} (g + 3n) \right] \frac{g + 3n}{10} \quad \left. \begin{array}{l} \text{für } g + 3n \leq 18,7 \\ \text{und} \\ 100V \cdot g = \left[30,48 - \frac{1}{2} (g + 3n) \right] \frac{g + 3n}{10} \\ \text{für } g + 3n \geq 20,1 \end{array} \right\} \dots (3')$$

Bei $20,1 > g + 3n > 18,7$ muß die vollständige Formel 1 benutzt werden.

Durch die Beobachtung und die Berechnung nach Formel 3' bekommt man:

1. Kuhmilch.

	Nr.	Beobachtet				Berechnet von 3'			
		g	n	F	$g + 3n$	$F \cdot g$	$100V \cdot g$	$100V$	$F \div 100V$
Yersey . . .	1	12,1	2,00	4,4	18,10	53,23	53,13	4,390	0
Kurzhorn . .	2	11,3	2,47	4,8	18,71	54,24	54,31	4,805	0
Ayrshire . .	3	8,6	3,82	4,8	20,06	41,27	41,07	4,775	0
Allgem. Milch	4	12,5	2,68	3,3	20,54	41,25	41,51	3,221	0
Holländisch .	5	14,2	3,75	3,2	25,45	45,45	45,19	3,182	0

2. Frauenmilch.

In untenstehender Tabelle sind die Beobachtungen nach steigenden Werten von n geordnet. Es zeigt sich ein plötzlicher Sprung der Werte $F(g + n)$ beim Übergang von $n = 2,62$ bis $n = 2,81$, während sie sich außerhalb dieser Werte von n fast ganz konstant verhalten.

Indem ich diesen Sprung berücksichtige, finde ich, daß dem Genauigkeitsanspruch auf $100V$ genügt wird, wenn man setzt:

$$100V(g + n) = 77,5 + 11,5 \frac{n - 2,71}{\sqrt{(n - 2,71)^2 + 0,0001}} \dots (4)$$

welche Formel ergibt

$$\text{und } \left. \begin{array}{l} 100V(g+n) = 66 \text{ für } n \leq 2,62 \\ 100V(g+n) = 89 \text{ für } n \geq 2,81 \end{array} \right\} \dots \dots \dots (4')$$

Bei $2,62 < n < 2,81$ muß die vollständige Formel 4 benutzt werden. Der in numerischer Beziehung größte Fehler von $100V$ wird aus der Tabelle $< 0,2$ ersehen.

2. Frauenmilch.

Nr.	Beobachtet					Berechnet aus 4'		
	<i>g</i>	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>g+n</i>	<i>F(g+n)</i>	$100V(g+n)$	$100V$	$F \div 100V$
1	17,8	2,45	3,4	20,25	68,87	66	3,258	0,1
2	15,4	2,50	3,6	17,90	64,43	66	3,687	-0,1
3	11,6	2,53	4,8	14,13	67,81	66	4,671	0,1
4	14,0	2,60	3,8	16,60	63,09	66	3,976	-0,2
5	14,7	2,62	3,9	17,32	67,55	66,07	3,815	0,1
6	12,0	2,81	6,0	14,81	88,88	88,93	6,003	0
7	9,4	3,65	6,8	13,05	88,76	89	6,818	0
8	8,4	5,55	6,4	13,95	89,29	89	6,381	0

Man kann also annähernd die Fettmenge vermittelt einer für jede einzelne Milchsorte aufgestellten Formel durch eine Reihe von Beobachtungen berechnen; die Hauptschwierigkeit besteht darin, daß jeder einzelne Beobachter seine bestimmte Formel haben muß.

Inwiefern man nun diese Schwierigkeit überwinden kann, wenn man die Methode zur Bestimmung der Lichtabsorption verändert, werden vielleicht weitere Untersuchungen zeigen. Eine größere praktische Zukunft haben solche Methoden augenblicklich kaum, wo die Fettbestimmung auf dem ohemischen Wege recht leicht ist; theoretisch hat diese Frage aber ihre Bedeutung, indem es bei einer solchen Methode möglich wäre, leichter das Großzirkelareal zu bestimmen als die direkte Messung des Diameters, und eine solche Untersuchung würde möglicherweise für die Frage der Funktion der Milchdrüse und die Ursachen der Variationen in der Größe der Milchkuugeln von Bedeutung sein. Die mathematischen Berechnungen in dieser Abhandlung sind von F. Buchwaldt unternommen; durch dessen Krankheit und Tod wurden aber unsere Studien unterbrochen und konnten nicht so weit geführt werden, daß sie von uns gemeinschaftlich bearbeitet werden konnten.

Berechnung der Fettmenge in der Milch durch Bestimmung der Lichtabsorptionsfähigkeit der Milch und der Anzahl der Fettkugeln in der Volumeinheit.

Von

F. Buchwaldt¹⁾.

(Eingegangen am 3. Juli 1911.)

Mit 4 Figuren im Text.

Ich bin zu dieser Untersuchung veranlaßt worden, nachdem ich — durch ein Studium von Chr. Bohrs Abhandlung „Studien über Milch“, Kopenhagen 1880, und einen Versuch, vermittelt seiner darin mitgeteilten Beobachtungen und einiger von H. P. T. Oerum gemachter Beobachtungen eine Beziehung zwischen dem Rauminhalt des in 1 cmm Milch enthaltenen Fettes oder dem Areal desselben, der ganzen Anzahl von Fettkugeln und der beobachteten Durchsichtigkeitsanzahl zu finden — zur Überzeugung gekommen bin, daß solche Beziehungen ohne alle praktische Bedeutung sind, weil die Bestimmung der Durchsichtigkeitszahl in einem sehr hohen Grade von der Sehfähigkeit des Beobachters abhängt und deshalb von einem Beobachter zum anderen variieren muß, und bei demselben Beobachter mit dem wachsenden Alter. Ich bin auf den Gedanken gekommen, die Durchsichtigkeitsprüfung durch eine Messung vermittelt eines ganz einfachen Apparates zu ersetzen, zu dem die Idee teilweise von Bunsens Photometer genommen ist, und zwar durch eine Messung der Fähigkeit der Milch, das Licht zu absorbieren, eine Messung, die, auch von verschiedenen Beobachtern ausgeführt, dasselbe Resultat wird ergeben können. Zwar sind die hieraus hergeleiteten Formeln nicht sehr einfach,

¹⁾ Durch die Krankheit und den Tod des Verfassers verspätet. Vor seinem Tode überließ der Verfasser mir diese Abhandlung zur Publikation.

H. P. T. Oerum.

sie können aber, wenn die in dieselben eingehenden Konstanten durch eine hinlängliche Anzahl von Beobachtungen bestimmt worden sind, als gemeingültig betrachtet werden und werden von jedem späteren Beobachter benutzt werden können.

* * *

Zur Untersuchung der Milch sind 2 Lichtgeber (Lampen oder Lichter), ein ca. 10 cm hoher und breiter Schirm von Papier (Schreib- oder Postpapier) nebst einem Kasten derselben Höhe, oben offen, so daß er mit der Milch gefüllt werden kann, notwendig. Zwei der 4 senkrechten Seiten des Kastens sind dünne parallele Glasplatten in einer geringen Entfernung, die wir mit w bezeichnen werden. Diese Glasplatten sind so dünn — ihre Dicke wird mit t bezeichnet — und hell, daß das Licht, das sie absorbieren, als unbedeutend betrachtet werden kann. — Die Entfernung w zwischen den Platten muß genau ausgemessen werden können und kann ja übrigens aus praktischen Gründen (das Herabgießen der Milch zwischen die Platten) nicht unter einer gewissen Größe sein. Sollte es sich zeigen, daß w zu groß ist oder die Milch fetter ist, als daß das verwendete Licht durch die Milch gehen kann, so muß dieselbe in einem so geringen Grade wie möglich mit Wasser gemischt werden, so daß man voraussetzen kann, daß hier nichts von dem durchgehenden Lichte absorbiert wird.

Ein Lichtgeber (die Lampe) wird auf einen Tisch gestellt und bleibt während des Versuchs auf derselben Stelle stehen. In einer kurzen Entfernung von dieser Stelle (in Fig. 1 rechts) wird der Papierschirm, der mit einem kleinen Fleck Stearin in der Höhe des Lichtgebers versehen wird, gestellt. Das Stearin muß — durch Reiben in geschmolzenem Zustande — vollständig in das Papier eingedrungen sein und keine sichtbar weiße, erstarrte Schicht auf dem Papier hinterlassen.

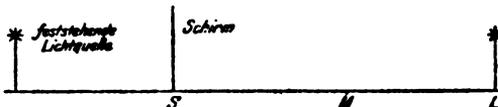


Fig. 1.

Hinter (in Fig. 1 rechts) dem Papierschirm wird dann erst der zweite Lichtgeber (die Lampe), deren Lichtstärke

wir mit L bezeichnen werden, in einer solchen Entfernung M von dem Schirme gestellt, daß der Stearinleck auf dem Schirme, von der Seite gesehen (links), wo der erstgenannte, während des Versuchs feststehende Lichtgeber sich findet, verschwindet.

Die 2 Lichtgeber und der Stearinleck sind in derselben Höhe über dem Tische und der Linie, die zwischen denselben gezogen werden könnte, steht senkrecht auf dem Schirm.

Wenn in dem folgenden von der Lichtintensität, die L auf einer näher angegebenen Fläche hervorruft, gesprochen wird, so versteht man unter der letzteren nur den Teil der Fläche, der von einem wagerechten Lichtzylinder, der den Stearinleck auf dem Schirm zur Grundfläche und L umschließt, abgeschnitten wird. Die innerhalb dieses Zylinders fallenden Lichtstrahlen werden alle als senkrecht auf die Fläche betrachtet.

Die Entfernung M wird ausgemessen — die Längeneinheit ist 1 mm —, und man hat dann (was übrigens nicht zur Anwendung kommt) die Lichtintensität S auf dem Schirme durch $\frac{L}{S} = cM^2$ bestimmt.

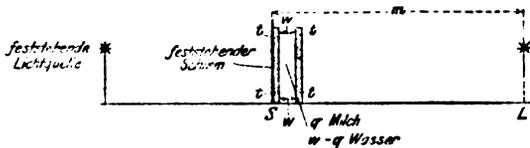


Fig. 2.

Danach wird der Kasten (s. Fig. 2) mit Milch und, wenn notwendig, dem zugefügten Wasser mit der einen Glasseite dicht an den Schirm und mit der anderen Seite gegen den Lichtgeber L gewendet, der nun so weit aus der Entfernung m vom Schirme genähert wird, daß der Stearinleck, von derselben Stelle wie früher betrachtet, verschwindet.

Durch eine Mischung im Verhältnis q Teile Milch zu $(w - q)$ Teile Wasser könnte man (s. Fig. 3) sich den in der Mitte eine Milchsicht der Dicke mit einer Wasserschicht auf jeder Seite von der Dicke $\frac{1}{2}(w - q)$ enthaltenden Glaskasten denken.

Da die Glasschicht t und die Wasserschicht $\frac{1}{2}(w - q)$, die dem Schirme am nächsten sind, als nicht Licht absorbierend

angenommen werden, so wird die Stärke U des von L (in der Entfernung m vom Schirme) kommenden Lichtes, das aus der Milchsicht heraustritt — wie S — erhalten werden können, indem man sich den übrigen, rechts liegenden Teil des Kastens (die Milchsicht, Wasserschicht $\frac{1}{2}(w-q)$ und die Glassicht t) entfernt denkt und L in die frühere Entfernung M vom Schirme rückt. Man bekommt dann

$$\frac{L}{U} = c \cdot \left[M - \left(\frac{w-q}{2} + t \right) \right]^2 = c \left[M + \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right) \right]^2.$$

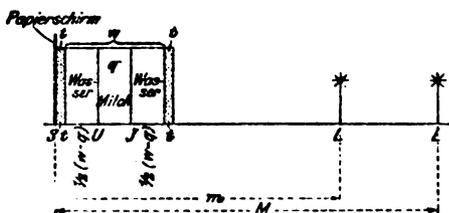


Fig. 3.

Wenn der Kasten auf seinem Platze und L in der Entfernung m vom Schirme stehen, bekommt man für die Stärke J des von L kommenden, in die Milch eintretenden Lichtes:

$$\frac{L}{J} = c \cdot \left[m - \left(t + \frac{w-q}{2} + q \right) \right]^2 = c \left[m - \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right) \right]^2.$$

Diese 2 Relationen geben

$$\frac{U}{J} = \left[\frac{m - \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right)}{M + \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right)} \right]^2 \quad \dots \quad (1)$$

wodurch das Verhältnis zwischen dem aus einer Milchsicht von der Dicke w heraustrittenden Licht U und dem in die Milchsicht eintretenden Licht J durch die genau ausgemessenen Dimensionen t und w (d. h. durch die Konstante $\left(\frac{1}{2}w + t \right)$, durch die ausgemessenen Abstände M und m und das gleichfalls beobachtete gegebene Mischungsverhältnis $\frac{q}{w-q}$ zwischen dem Rauminhalt der Milch und dem des Wassers bestimmt ist. — Für eine solche Milchsicht wird also das Verhältnis zwischen der absorbierten und der eintretenden Lichtintensität

$$\frac{J-U}{J} = 1 - \left[\frac{m - \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right)}{M + \frac{1}{2}q - \left(\frac{1}{2}w + t \right)} \right]^2.$$

Da das Licht die Oberfläche der Milch senkrecht trifft, kann das von derselben reflektierte Licht als ganz unbedeutend betrachtet werden und die Stärke J des eindringenden Lichts angenommen werden gleich der Stärke des Lichts, das die Oberfläche der Milch (hier senkrecht) trifft.

Wir werden uns nun dieselbe Milch in der Höhe q (bei ungemischter Milch in der Höhe w) in einem senkrecht stehenden, prismatischen Behälter mit der Grundfläche = 1 qmm befindlich denken; dieselbe soll oben normal von der Lichtintensität J getroffen werden, die, nachdem sie den Boden des Kastens erreicht hat, zu U reduziert sein wird.

In der Tiefe x unter der Oberfläche (s. Fig. 4) ist die Intensität $J(x)$, in der Tiefe $(x + dx)$ ist sie $J(x + dx)$

... $J(x) + d \cdot J(x) = J(x) + \frac{d \cdot J(x)}{dx} \cdot dx$. Die zwischen den zwei

horizontalen Schichten resp. in den Tiefen x und $(x + dx)$ befindliche Schicht hat den Rauminhalt $d x$, während das darin ent-

haltene Fett den Rauminhalt $V \cdot dx$ und das Areal $A \cdot dx$ erhält, wenn man mit V und A bzw. Rauminhalt und Areal (die Summe der Großzirkelareale der Fettkugeln) des Fettes in 1 cmm der Milch bezeichnet. Der Verlust $-d \cdot J(x)$ an Intensität beim Übergange von der Tiefe x zur Tiefe $(x + dx)$

muß erstens proportional mit der Intensität $J(x)$ der Schicht sein. Er muß deshalb wachsen nicht nur mit der Fettmenge $V dx$, sondern auch sicherlich mit dem Areale $A dx$. Wüchse er nämlich nur mit $V dx$, so würde die Größe der Kugeln, die bei derselben Fettmenge V deren Areal bedingt ($n \cdot 10^6$ in 1 cmm), ohne Bedeutung für die Lichtabsorption werden, was offenbar nicht richtig sein kann. Wir setzen daher, indem k_1 und k_2 Konstanten sind (sowohl von q als von M und m unabhängig):

$$-dJ(x) = -\frac{dJ(x)}{dx} dx = J(x) \cdot (k_1 V + k_2 A) \cdot dx.$$

Durch Division mit $-J(x)$ und Integration mit Bezug auf x zwischen den Grenzen $x = 0$, was $J(0) = J$ entspricht, und $x = q$, was $J(q) = U$ entspricht, bekommt man, indem e die Grundzahl der natürlichen Logarithmen bildet,

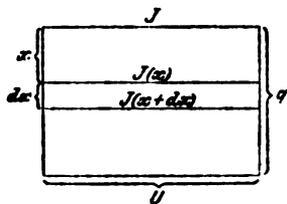


Fig. 4.

$$\frac{1}{\log e} \log \frac{U}{J} = -(k_1 V + k_2 A) \cdot q$$

oder nach Formel 1

$$k_1 V + k_2 A = \frac{2}{q \log e} \log \frac{M + \frac{1}{2} q - (\frac{1}{2} w + t)}{m - \frac{1}{2} q - (\frac{1}{2} w + t)}$$

Hierin werden wir statt V das Fettprozent $100V$ einführen und gleichzeitig die Benennung der Konstanten verändern, indem wir setzen $\frac{100 \cdot k_2}{k_1} = Q$ und $\frac{200}{k_1 \log e} = K$, so daß wir, indem wir die Bezeichnung

$$\frac{1}{q} \log \frac{M + \frac{1}{2} q - (\frac{1}{2} w + t)}{m - \frac{1}{2} q - (\frac{1}{2} w + t)} = E$$

einführen,

$$100V \left[1 + Q \cdot \frac{A}{100V} = K \cdot E \right] \dots \dots (2)$$

bekommen, worin Q und K Konstanten sind, die bestimmt werden sollen. Außer Formel 2 muß man jedoch notwendigerweise mit einem Ausdruck des Verhältnisses zwischen dem Areal des Fettes A und dem Volumen V supplieren. Eine gewiß sehr lose Annäherung kann man erhalten durch folgende, ganz theoretische Betrachtung, die auf einer nicht mit der Wirklichkeit stimmenden Annahme beruht. Wenn man sich nämlich die Fettmasse V auf $n \cdot 10^6$ gegenseitig gleich große Kugeln verteilt dachte — die Anzahl sämtlicher Fettkugeln in 1 cmm Milch wird, wie oben erwähnt, mit $n \cdot 10^6$ bezeichnet — mit einem gemeinsamen Rauminhalt $v = \frac{V}{n \cdot 10^6}$ und dem Diameter

$d = \left(\frac{6}{\pi} v \right)^{1/3} = \left(\frac{6 \cdot V}{\pi n} \right)^{1/3} \cdot \frac{1}{100}$, dann würde das Verhältnis zwischen dem Großzirkelareal dieser Mittelkugel und dem Volumen derselben, nämlich $\frac{3}{2d} = 150 \left(\frac{\pi}{6} \right)^{1/3} \cdot \left(\frac{n}{V} \right)^{1/3} = 120,9 \left(\frac{n}{V} \right)^{1/3}$, dasselbe wie das Verhältnis $A:V$ werden. Für das Verhältnis zwischen dem Areal A und dem Fettprozent $100V$ bekommt man dann $A:100V = 5,612 \cdot \left(\frac{n}{100V} \right)^{1/3}$. Das Verhältnis zwischen den A

und $100V$ entsprechenden Beobachtungsgrößen (3) und (5) bei Bohr (die Zahlen in den Kolonnen 3 und 5 der Ta-

Da man nun nicht erwarten kann, daß man die Werte von O und K findet, die genau alle p -Gleichungen befriedigen, so setzt man

$$\left. \begin{aligned} O &= O_0 + x \\ K &= K_0 + y \end{aligned} \right\} \dots \dots \dots (7)$$

indem O_0 und K_0 Annäherungswerte von O und K sind, die man z. B. erhalten könnte durch die Bestimmung von O_0 und K_0 aus zwei Gleichungen, die unter den p -Gleichungen 6 ausgewählt würden. Man bekommt dann nach Formel 6, indem wir der Kürze halber die Bezeichnungen einführen,

$$\left. \begin{aligned} F_1 + n_1^{1/2} \cdot F_1^{3/2} \cdot C_0 - E_1 \cdot K_0 &= N_1 \\ F_2 + n_2^{1/2} \cdot F_2^{3/2} \cdot C_0 - E_2 \cdot K_0 &= N_2 \\ \dots \dots \dots \\ F_p + n_p^{1/2} \cdot F_p^{3/2} \cdot C_0 - E_p \cdot K_0 &= N_p \end{aligned} \right\} \dots \dots (8)$$

wo N_1, N_2, \dots, N_p nicht — wie oben bemerkt — genau = 0 angenommen zu werden brauchen, die Bedingungsgleichungen

$$\left. \begin{aligned} v_1 &= N_1 + n_1^{1/2} \cdot F_1^{3/2} \cdot x - E_1 \cdot y \\ v_2 &= N_2 + n_2^{1/2} \cdot F_2^{3/2} \cdot x - E_2 \cdot y \\ \dots \dots \dots \\ v_p &= N_p + n_p^{1/2} \cdot x - E_p \cdot y \end{aligned} \right\} \dots \dots (9)$$

in denen dann p Nullen in der rechten Seite von Formel 6 durch die Abweichungen von derselben ersetzt worden sind; oder sollen „die Fehler“ v_1, v_2, v_p , durch x und y in Formel 9 so bestimmt werden, daß die Summe $(v^2) = v_1^2 + v_2^2 + \dots + v_p^2$ der Fehlquadrate ein Minimum wird, so bekommt man die Normalgleichungen

$$\left. \begin{aligned} 0 &= [N \cdot n^{1/2} F^{3/2}] + [n^{1/2} F^{3/2}] \cdot x - [E \cdot n^{1/2} F^{3/2}] \cdot y \\ 0 &= [N \cdot E] - [E \cdot n^{1/2} + F^{3/2}] \cdot x + [E^2] \cdot y \end{aligned} \right\} \dots (10)$$

zur Berechnung von x und y . Das Summationszeichen bedeutet also eine Summe von p gleichartigen Gliedern, durch die Buchstaben innerhalb angegeben, also z. B.

$$[N E] = N_1 \cdot E_1 + N_2 \cdot E_2 + \dots + N_p \cdot E_p.$$

Durch die Berechnung der konstanten Glieder in Formel 10 müssen erst E_1, E_2, \dots, E_p berechnet werden gemäß der ersten Formel 2

$$E_1 = \frac{1}{q} \log \frac{M_1 + \frac{1}{2} q_1 - (\frac{1}{2} w + t)}{m_1 - \frac{1}{2} q_1 - (\frac{1}{2} w + t)} \dots$$

$$E_p = \frac{1}{q_p} \log \frac{M_p + \frac{1}{2} q_p - (\frac{1}{2} w + t)}{m_p - \frac{1}{2} q_p - (\frac{1}{2} w + t)}$$

darauf N_1, N_2, \dots, N_p aus Formel 8. Wenn darauf x und y aus Formel 10 gefunden sind, hat man die Konstanten C und K den Formeln 4 und 7 gemäß durch $C = C_0 + x$ und $K = K_0 + y$ zu bestimmen.

Die Formel 4 sollte nun benutzt werden können, um bei späteren Milchuntersuchungen das Fettprozent $100V$ zu bestimmen, da M, m und $q - w$ und t bei dem Apparate gegeben sind —, wodurch aus der ersten Formel $2E$ berechnet werden kann, wenn man noch die Kugelanzahl $n \cdot 10^6$ gemessen hat. Hierbei tritt nun indessen die Schwierigkeit ein, daß die Formel eine Gleichung des vierten Grades wegen $100V$ vorstellt. Man kann sich jedoch mit einer Annäherung derart helfen, daß man erst die Formel 2 benutzt, in der Q nach der ersten Formel 4 $= \frac{C}{K}$ ist und k die in Formel 3 angegebenen Werte

hat. Man hat dann

$$100V \cdot \left[1 + \frac{C}{K} \cdot \frac{A}{100V} \right] = K \cdot \log \left(\frac{M + \frac{1}{2}q - (\frac{1}{2}w + t)}{m - \frac{1}{2}q - (\frac{1}{2}w + t)} \right)^{1/2} = K \cdot E.$$

Nach Bohrs Beobachtungen ist das Verhältnis (3):(5) zwischen den Zahlen der Rubriken 3 und 5 von Tab. XVIII, S. 71, das dem Verhältnis $A:100V$ entspricht, zwischen 4,394 und 6,119 (die Mittelzahl = 5,26) für „fette“ Milch (d. h. $100V > 1,9$) und zwischen 5,589 und 6,865 (Durchschnittszahl) für „magere“ Milch variierend. Man kann dann nach Formel 2 einen angenäherten Wert V_0 für V bestimmen.

Bei

$$100V_0 \left[1 + \frac{C}{4,49} \cdot 5,26 \right] = K \cdot E \text{ für fette Milch}$$

und

$$100V_0 \left[1 + \frac{C}{4,57} \cdot 6,23 \right] = K \cdot E \text{ für magere Milch}$$

oder

$$100V_0 = \frac{K \cdot E}{1 + 1,171 \cdot C} \text{ für fette Milch}$$

und

$$100V_0 = \frac{K \cdot E}{1 + 1,364 \cdot C} \text{ für magere Milch}$$

} . . . (11)

Wir setzen darauf in Formel 4

$$100V = 100V_0 + S$$

und bekommen dann, durch Weglassen von zweiten und höheren Potenzen von S ,

$$100V_0 + C \cdot n^{1/4} \cdot (100V_0)^{3/4} + S + \frac{3}{4} C \cdot n^{1/4} \cdot (100V_0)^{-1/4} \cdot S = K \cdot E,$$

$$S = \frac{K \cdot E - 100V_0 \cdot \left[1 + C \left(\frac{n}{100V_0} \right)^{1/4} \right]}{1 + \frac{3}{4} C \left(\frac{n}{100V_0} \right)^{1/4}}$$

und

$$100V = \frac{K \cdot E - \frac{1}{4} C \cdot 100V_0 \left(\frac{n}{100V_0} \right)^{1/4}}{1 + \frac{3}{4} C \left(\frac{n}{100V_0} \right)^{1/4}} \quad (12)$$

worin man die Werte von $100V_0$ in Formel 11 entsprechend für „fette“ und „magere“ Miloh einsetzt.

Wollte man die Annäherung weiter treiben, so könnte man den in Formel 12 und 11 gefundenen Wert für $100V$ als einen neuen approximativen Wert betrachten, denselben = $100V_0$ setzen und $100V = 100V_0 + S_1$ und darauf S_1 aus dem ersten Wert in Formel 12 bestimmen, indem man statt $100V_0$ den aus dem zweiten in Formel 12 bestimmten Wert von $100V$ setzt.

Wenn so das Fettprozent $100V$ bestimmt worden ist, hat man das Fettareal A (die Summe der Großzirkelareale) in 1 ccm der Miloh durch die Formel 3. besonders für „fette“ und für „magere“ Miloh, bestimmt.

Sollte sich bei der Bestimmung der Konstanten C und K in Formel 4 zeigen, daß das Verhältnis $\frac{C}{K}$ eine kleine Größe wird, das heißt, daß das Areal des Fettes einen in Verhältnis zu seinem Rauminhalte geringen Einfluß auf die Lichtabsorption hat, dann kann die Bestimmung von $100V$ in Formel 4 auf eine einfachere Weise geschehen, indem dann KE ein Annäherungswert von $100V$ wird, so daß man setzen kann

$$100V = KE - C \cdot n^{1/4} (KE)^{3/4}.$$

Der hieraus berechnete Wert von $100V$ könnte dann wiederum, wenn es für notwendig erachtet wird, in das letzte Glied auf der rechten Seite statt KE eingesetzt werden und so die Annäherung so weit wie erwünscht getrieben werden, jedoch am besten getrennt für „fette“ und für „magere“ Miloh.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XIII. Mitteilung.

Verhalten der Furfuracrylsäure und der Furoylessigsäure im Tierkörper.

Von

E. Friedmann.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. Juli 1911.)

Nach den Beobachtungen von Sasaki¹⁾ über das Schicksal der Furfurpropionsäure im Tierkörper wird diese Substanz zu 21,5% als Furfuracrylursäure und zu etwa 18,4% als Pyromykursäure ausgeschieden. Von diesen Substanzen ist das Auftreten von Furfuracrylursäure in relativ großer Menge insofern von Interesse, als durch diesen Befund die Vermutung, daß die α - β -ungesättigten Säuren Zwischenprodukte des Abbaues der entsprechenden gesättigten Säuren zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren darstellen²⁾, eine beachtenswerte experimentelle Stütze erfährt.

Schon Sasaki hat darauf hingewiesen, daß es für die Beurteilung des Reaktionsmechanismus des Abbaues der Furfurpropionsäure im Tierkörper notwendig ist, sowohl die Frage nach der Entstehung der Furfuracrylsäure aus Furfurpropionsäure als nach ihrem Abbau zu Brenzschleimsäure experimentell zu prüfen. In Fortsetzung der Experimente von Sasaki habe ich zunächst Versuche angestellt, um die Beziehungen der

¹⁾ Takaoki Sasaki, diese Zeitschr. 25, 272, 1902.

²⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 125, 1910.

Furfuracrylsäure zur Brenzschleimsäure festzustellen, und berichte im folgenden über die hierbei erhaltenen Resultate.

Furfuracrylsäure ist bereits von Jaffé und Cohn¹⁾ an Hunde verfüttert und ihre Ausscheidung als Furfuracrylursäure festgestellt worden. Angaben über das Auftreten von Pyromykursäure oder Brenzschleimsäure im Hundeharn nach Eingabe von Furfuracrylsäure liegen jedoch nicht vor²⁾. Ich habe daher die Fütterungsversuche von Furfuracrylsäure am Hunde wieder aufgenommen.

Einem 10 kg schweren Hunde wurden an 5 hintereinander folgenden Tagen täglich 2 g Furfuracrylsäure als Natriumsalz subcutan injiziert (0,2 g Furfuracrylsäure pro Kilogramm Tier). Aus dem Harn der Versuchstage konnten Furfuracrylursäure, Brenzschleimsäure und Acetofuran isoliert werden.

Furfuracrylursäure entsteht zu 29,4% der eingeführten Furfuracrylsäure. Ihr Auftreten zeigt, daß durch die Paarung mit Glykokoll ein erheblicher Anteil der eingeführten Furfuracrylsäure dem Abbau im Tierkörper entzogen wird.

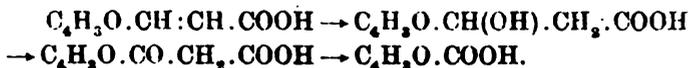
Brenzschleimsäure wird zu 22,4% der eingeführten Furfuracrylsäure ausgeschieden und zwar auffallenderweise ungepaart mit Glykokoll, während sie nach Verfütterung von Furfurpropionsäure mit Glykokoll gepaart zur Ausscheidung gelangt. Da es sich jedoch im vorliegenden Fall nur darum handelt, die Beziehungen der Furfurpropionsäure und der Furfuracrylsäure zur Brenzschleimsäure festzustellen und für diese Reaktion die Brenzschleimsäure das Endprodukt der Reaktion darstellt, so kann diese Verschiedenheit im Verhalten der Furfurpropionsäure und der Furfuracrylsäure vorläufig außer acht gelassen werden.

Der Nachweis, daß die Furfuracrylsäure zur Brenzschleimsäure im Tierkörper abgebaut wird, legt die Frage nahe, auf welchem Wege dieser Abbau erfolgt. Das Auftreten von Acetofuran nach Verfütterung von Furfuracrylsäure könnte nach den

¹⁾ M. Jaffé und Rud. Cohn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2311, 1887.

²⁾ Im Kaninchenharn ist von M. Jaffé und Rud. Cohn nach Verfütterung von Furfuracrylsäure Pyromykursäure aufgefunden worden. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 3461, 1888.

Erfahrungen, die an der Crotonsäure¹⁾ und an der Zimtsäure gewonnen sind²⁾, zu dem Gedanken führen, daß auch für die Furfuracrylsäure ein wesentlicher Teil des Abbaues über die β -Ketonsäure, die Furoylessigsäure, verläuft, etwa im Sinne folgender Formeln:



Für diese Vermutung konnte jedoch kein experimenteller Anhaltspunkt gewonnen werden. Im Gegensatz zu dem Verhalten der Zimtsäure fehlt nach Verfütterung von Furfuracrylsäure im Atherextrakt der Versuchsharne eine optisch aktive Säure, die auf Anwesenheit einer β -Oxysäure hindeuten würde, und ferner ist, ebenfalls verschieden von der Zimtsäure, die Menge des ausgeschiedenen Acetofurans äußerst gering, da nur 0,1% der eingeführten Furfuracrylsäure in Acetofuran übergeht.

Zur Lösung der aufgeworfenen Frage habe ich Fütterungsversuche mit Furoylessigsäure angestellt. Ich habe diese Substanz als Ester und als Natriumsalz an Hunde verfüttert. Bei der Applikation von 6 g Furoylessigester in täglichen Dosen von 2 g an einen 7,5 kg schweren Hund per os wurden 35,2% der eingeführten Substanz als Furoylessigsäure ausgeschieden und bei subcutaner Injektion von 4 g Furoylessigester, der in Olivenöl gelöst war, in täglichen Dosen von 2 g an einen 7 kg schweren Hund konnten sogar 50,3% der eingeführten Substanz als Furoylessigsäure im Harn nachgewiesen werden. In beiden Fällen war im Atherextrakt der Versuchsharne eine rechtsdrehende Säure vorhanden, die, nach dem ähnlichen Verhalten der Benzoylessigsäure³⁾ zu urteilen, möglicherweise Furan- β -Oxypropionsäure war. Sowohl Brenzschleimsäure wie Pyromykursäure fehlte in beiden Versuchen.

Dieses Resultat ist nach zwei Seiten von Interesse. Es zeigt einmal, daß der Abbau der Furanpropionsäure und der Furfuracrylsäure zur Brenzschleimsäure nicht über die Zwischenstufe der β -Ketonsäure, der Furoylessigsäure, verläuft, und es bringt auf der anderen Seite

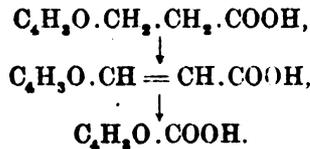
¹⁾ E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 371, 1908.

²⁾ H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 6, 213, 1909.

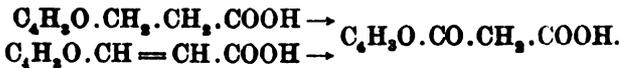
³⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 110, 1910.

in Verbindung mit den Ergebnissen der Fütterung der Furfuracrylsäure einen direkten experimentellen Beweis für die bereits früher von mir ausgesprochene¹⁾ Vermutung, daß die α - β -ungesättigten Säuren zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren abgebaut werden können, ohne die Zwischenstufe der β -Ketonsäuren zu durchlaufen.

Die Hauptreaktion, die den Abbau der Furfurpropionsäure zu Brenzschleimsäure beherrscht, führt nach den Untersuchungen von Sasaki²⁾ und von mir in einer Reaktion, deren Mechanismus noch nicht aufgeklärt ist, zur Furfuracrylsäure und von dieser zur Brenzschleimsäure. Diese Hauptreaktion kann durch die folgenden Formeln ausgedrückt werden:



In einer Nebenreaktion wird sowohl aus Furfurpropionsäure³⁾ wie aus Furfuracrylsäure Furoyllessigsäure gebildet, die nicht weiter zu Brenzschleimsäure abgebaut werden kann:



Fütterungsversuche.

1. Furfuracrylsäure.

Einem 10,15 kg schweren Hunde, der mit Fleisch ernährt wurde, wurden an 5 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g Furfuracrylsäure als Natriumsalz unter die Haut gespritzt. Die Säure war in 16,2 ccm Normalnatronlauge gelöst und die Lösung auf 25 ccm aufgefüllt. Im ganzen wurden 10 g Furfuracrylsäure subcutan injiziert.

Der an den Fütterungstagen gewonnene Harn und der Harn des ersten Nachtages wurden einzeln der Destillation unterworfen. Die Destillate wurden vereinigt und nach Zusatz von 10 ccm verdünnter Schwefelsäure nochmals destilliert.

¹⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 125, 1910.

²⁾ Takaoki Sasaki, diese Zeitschr. 25, 272, 1910.

³⁾ Siehe den experimentellen Teil S. 44.

Die übergegangene Flüssigkeit wurde mit 0,5 g p-Nitrophenylhydrazin in 40 ccm 40%iger Essigsäure versetzt und lieferte 0,18 g eines Nitrophenylhydrazons, das nach zweimaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol als p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans durch Schmelzpunkt (185 bis 186°) und Mischprobe mit synthetisch dargestelltem Acetofuran-p-nitrophenylhydrazon identifiziert wurde¹⁾.

Das p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans ist noch nicht dargestellt worden. Man erhält es in der üblichen Weise leicht durch gelindes Erwärmen einer wässrigen Lösung des Acetofurans mit der berechneten Menge p-Nitrophenylhydrazin in der 80fachen Menge 40%iger Essigsäure. Es wird zur Reinigung 2mal aus der 140fachen Menge verdünnten Alkohols (4 Teile abs. Alkohol, 3 Teile Wasser) umkrystallisiert und bildet ein ziegelrotes Krystallpulver, das aus kleinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln besteht. Sein Schmelzpunkt liegt bei 185 bis 186°. Zur Analyse wurde es bei 100° getrocknet.

0,1782 g Substanz: 26,67 ccm N (16,1°, 752,9 mm).

$C_{13}H_{11}O_3N_3$. Ber.: N 17,18.

Gef.: N 17,33.

Die nach Abdestillieren des Acetofurans zurückbleibenden Harnportionen wurden vereinigt und zum dünnen Sirup eingedampft. Dieser wurde durch wiederholtes Auskochen mit 92%igem Alkohol erschöpft. Der alkoholische Auszug wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure versetzt und im Extraktionsapparat 14 Tage mit Äther extrahiert. Die Extraktion wurde erst unterbrochen, als sich im Extraktionskolben keine Krystalle mehr absetzten.

Die ätherischen Extrakte wurden vereinigt und vom Äther durch Destillation befreit. Es hinterblieb ein krystallinischer Rückstand, dem nur wenig Sirup beigemischt war. Nach Zusatz von 250 ccm Wasser, in dem der Sirup sich leicht löste, wurden die Krystalle abgesaugt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Menge betrug 4,25 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle zeigte die in schönen, feinen Nadeln erhaltene Substanz den Schmelzpunkt der Furfuracrylsäure von 218 bis 219° (unkorr.). Beim Erwärmen ihrer Lösung in konzentrierter Salz-

¹⁾ Auch das von Sasaki nach Verfütterung von Furfurpropionsäure isolierte p-Nitrophenylhydrazon erwies sich als identisch mit dem p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans.

säure trat intensive Grünfärbung ein. Eine Mischprobe mit synthetisch dargestellter Furfuracrylursäure ergab die Identität der beiden Substanzen. Zur Analyse wurde die Furfuracrylsäure bei 100° getrocknet.

0,1528 g Substanz: 0,3092 g CO₂, 0,0655 g H₂O.

0,1674 g Substanz: 9,85 ccm N (18,2°, 760,8 mm).

C₉H₆O₄N. Ber.: C 55,35, H 4,65, N 7,18.

Gef.: C 55,19, H 4,80, N 6,82.

Die Mutterlaugen der Furfuracrylursäure erwiesen sich als optisch inaktiv. Sie wurden vereinigt, auf 30 ccm eingedampft und im Extraktionsapparat 12 Stunden mit Äther extrahiert. Nach Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein sirupöser Rückstand, der rasch krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden in wenig Essigäther gelöst und die Lösung im Vakuum über Schwefelsäure zur Krystallisation aufgestellt. Nach kurzer Zeit hatten sich reichlich Krystalle abgeschieden, die zur Trennung von beigemengtem Sirup auf Ton ausgestrichen wurden. Ihre Menge betrug 1,7 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus wenig Essigäther hatten sie bereits den für Brenzschleimsäure angegebenen Schmelzpunkt von 131 bis 132° (unkorr.), mit der sie durch die Mischprobe identifiziert werden konnten. Bei der Analyse der im Vakuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz wurden die für Brenzschleimsäure verlangten Zahlen erhalten.

0,1615 g Substanz: 0,3170 g CO₂, 0,0543 g H₂O.

C₉H₄O₆. Ber.: C 53,56, H 3,60.

Gef.: C 53,53, H 3,76.

Der in die Tonplatten eingedrungene Sirup wurde den Tonplatten durch kochendes Wasser entzogen. Die wässerigen Lösungen wurden stark konzentriert und nochmals im Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Nach Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein hellgelber Sirup, der nach längerem Stehen im Vakuum über Schwefelsäure zum Teil krystallisierte. Die Krystalle wurden auf Ton ausgestrichen. Ihre Menge betrug 0,1 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Essigester zeigten sie ebenfalls den für Brenzschleimsäure angegebenen Schmelzpunkt von 131 bis 132° (unkorr.), mit der sie durch die Mischprobe identifiziert werden konnten.

2. Furoylessigester.

Den zur Verfütterung notwendigen Furoylessigester stellte ich durch Kondensation von Brenzschleimsäureester und Essigester mittels Natriums dar¹⁾.

1. Fütterungsversuch. Ein Hund von 7,5 kg, der mit Fleisch ernährt wurde, erhielt an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g Furoylessigester, der unter das feingehackte Fleisch gemischt war. Das Tier vertrug die Substanz anfangs ganz gut, jedoch stellte sich am dritten Tage häufiges Erbrechen und Diarrhöe ein.

Der Harn der beiden ersten Fütterungstage lieferte mit Eisenchlorid intensive Violettfärbung. Im Harn des dritten Versuchstages konnte die Eisenchloridreaktion nicht ausgeführt werden, da der Harn stark durch Schleim und Blut verunreinigt war.

Die an den Versuchstagen gewonnenen Harnportionen wurden einzeln der Destillation unterworfen. Die vereinigten Destillate wurden mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und nochmals destilliert. Die übergegangene Flüssigkeit gab intensive Jodoformreaktion und lieferte nach Zusatz von 3 g p-Nitrophenylhydrazin in 240 ccm 40%iger Essigsäure 2,6 g eines p-Nitrophenylhydrazons. Aus der Mutterlauge dieses p-Nitrophenylhydrazons konnten beim Behandeln mit 1 g p-Nitrophenylhydrazin in 80 ccm 40%iger Essigsäure weitere 0,24 g desselben p-Nitrophenylhydrazons gewonnen werden. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus der 140fachen Menge verdünnten Alkohols (4 Teile absol. Alkohol, 3 Teile Wasser) zeigte die Substanz bereits den für das p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans gefundenen Schmelzpunkt von 185 bis 186° (unkorr.), mit dem es durch die Mischprobe identifiziert werden konnte. Auch die Stickstoffbestimmung des bei 100° getrockneten p-Nitrophenylhydrazons ergab den für das p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans verlangten Stickstoffgehalt.

0,1624 g Substanz: 15,38 ccm N (20,5°, 755,1 mm).

$C_{12}H_{11}O_3N_3$. Ber.: N 17,18.

Gef.: N 17,06.

¹⁾ S. S. Sandelin, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 492, 1900.
— Bouveault, Compt. rend. 125, 1186; Bl. [3] 25, 440.

Die nach Abdestillieren des Acetofurans zurückbleibenden Harne wurden zum dünnen Sirup eingedampft. Dieser wurde durch viermaliges Auskochen mit 92%igem Alkohol erschöpft. Der nach Abdampfen des Alkohols erhaltene Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 8 Tage (täglich 12 Stunden) extrahiert.

Der Atherextrakt wurde durch Destillation vom Ather befreit und der Rückstand in 80 ccm Wasser aufgenommen. Die Flüssigkeit wurde mit Tierkohle entfärbt und das beim Erkalten sich trübende Filtrat mit Kieselgur geklärt. Nach dem Eindampfen auf 50 ccm zeigte die Flüssigkeit, im 2 dcm-Rohr untersucht, eine Drehung von $+0,72^\circ$. Sie wurde zum Sirup eingedampft, dieser mit wenig Wasser aufgenommen und nach Zusatz von 10 ccm 25%iger Phosphorsäure im Extraktionsapparat mit Ather extrahiert. Die erste Extraktion dauerte 10 Stunden, die zweite 40 Stunden. Das erste Extrakt hinterließ nach Abdestillieren des Athers einen hellgelben Sirup, der beim Stehen spärliche, in Wasser schwer lösliche Krystalle absetzte. Ihre Menge betrug 0,1 g. Ihr Schmelzpunkt lag bei etwa 280° . Es gelang nicht, die Mutterlauge dieser Substanz zur Krystallisation zu bringen.

Das zweite Atherextrakt hinterließ nach Abdestillieren des Athers einen Sirup, der langsam krystallinisch erstarrte. Die Krystalle wurden auf Ton abgepreßt. Ihre Menge betrug 0,25 g. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser zeigten sie den Schmelzpunkt der Hippursäure von 187° , mit der sie auch durch die Mischprobe identifiziert werden konnten.

Der in die Tonplatte eingedrungene Sirup wurde der Tonplatte durch wiederholtes Auskochen mit heißem Wasser entzogen. Die wässerigen Auszüge wurden vereinigt und eingedampft. Der Rückstand wurde mit Ather extrahiert. Nach Abdampfen des Athers hinterblieb ein Sirup, der auch nach wochenlangem Stehen nicht krystallisierte.

2. Fütterungsversuch. Einem Hunde von 7 kg, der mit Fleisch ernährt wurde, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 g Furoylessigester, der in 15 ccm Olivenöl gelöst war, unter die Haut gespritzt. Das Tier vertrug die Substanz recht schlecht. Es stellten sich wiederholtes Erbrechen und Durchfälle ein.

Der Harn der beiden Versuchstage zeigte intensive Violettfärbung mit Eisenchlorid. Im Harn des ersten Nachtages war die Eisenchloridreaktion negativ.

Die an den beiden Versuchstagen gewonnenen Harnportionen sowie der Harn des ersten Nachtages wurden einzeln der Destillation unterworfen. Die vereinigten Destillate wurden mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und nochmals destilliert. Die übergegangene Flüssigkeit wurde in der üblichen Weise mit p-Nitrophenylhydrazin behandelt und lieferte 2,71 g eines p-Nitrophenylhydrazons, das nach einmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol den für das p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans gefundenen Schmelzpunkt von 185 bis 186° (unkorr.) zeigte. Auch die Mischprobe ergab die Identität der aus dem Harn isolierten Substanz mit dem p-Nitrophenylhydrazon des Acetofurans.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet.

0,1143 g Substanz: 17,25 ccm N (20°; 758 mm).

$C_{13}H_{11}O_3N_3$. Ber.: N 17,18.

Gef.: N 17,28.

Die nach Abdestillieren des Acetofurans zurückbleibende Flüssigkeit wurde in der auf S. 47 beschriebenen Weise verarbeitet. Der ätherische Auszug zeigte wie im ersten Fütterungsversuch eine geringe Rechtsdrehung. Pyromykursäure konnte ebensowenig wie Brenzschleimsäure aus dem Atherextrakt isoliert werden. Dagegen wurden wieder spärliche Krystalle der im Wasser schwer löslichen, bei etwa 280° schmelzenden Substanz erhalten, deren Menge zu einer weiteren Untersuchung nicht ausreichte.

Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper.

XIV. Mitteilung.

Über Dehydrierung im Tierkörper.

Von

E. Friedmann.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. Juli 1911.)

Auf zwei verschiedenen Wegen ist in den letzten Jahren die Anschauung durchgedrungen, daß den ungesättigten Säuren ein erheblicher Anteil am Abbau der Fettsäuren zukommt.

Die eine Versuchsreihe nimmt ihren Ausgangspunkt von Untersuchungen, die Leathes und Meyer-Wedell¹⁾ ausgeführt haben. Diese Forscher konnten an Ratten und Katzen zeigen, daß bei Zufuhr von Fett von den Geweben besonders die Leber und das Bindegewebe Fett aufzuspeichern vermögen. Das hierbei in der Leber angehäuften Fett besitzt stets eine höhere Jodzahl als das verfütterte Fett. Für die Deutung dieses Vorganges erwägen die Verfasser zwei Möglichkeiten. Entweder sind die verfütterten Fettsäuren unter Bildung neuer Doppelbindungen umgewandelt worden, oder es sind durch Umlagerung aus Säuren mit geringem Bindungsvermögen für Halogen Säuren mit größerem Bindungsvermögen entstanden. Eine chemische Analogie für die letztere Möglichkeit kann nach Leathes und Meyer-Wedell in dem Verhalten der *16^α*-Ölsäure gesehen werden, die im Gegensatz zu der gewöhnlichen Ölsäure kein

¹⁾ J. B. Leathes und L. Meyer-Wedell, Journ. Physiol. 38.
Biochemische Zeitschrift Band 85.

Bromwasser zu entfärben vermag¹⁾). Eine wesentliche Ergänzung haben die Beobachtungen von Leathes und Meyer-Wedell durch Untersuchungen von Joannovics und Pick²⁾ erfahren, die in ähnlicher Versuchsanordnung zeigen konnten, daß bei der Entstehung ungesättigter Säuren in der Leber die ungesättigten Phosphatide in erheblicher Weise beteiligt sind.

Die andere Reihe von Beobachtungen ist auf dem Wege der Fütterung körperfremder Substanzen gewonnen worden. Sie hat zu dem Ergebnis geführt, daß α , β -ungesättigte Säuren Zwischenprodukte des Abbaues der gesättigten Säuren sind. So hat Dakin die Bildung von Zimtsäure nach Verfütterung von Phenylpropionsäure³⁾ und Phenylvaleriansäure⁴⁾ feststellen können und Sasaki⁵⁾ konnte nach Verfütterung von Furfurpropionsäure den Übergang dieser Substanz zu 21,5% in Furfuracrylsäure nachweisen.

Die Verknüpfung dieser Beobachtungen mit der von Knoop⁶⁾ entdeckten und von mir als Regel des paarigen Abbaues der normalen Fettsäuren bezeichneten Gesetzmäßigkeit des physiologischen Abbaues der Karbonsäuren⁷⁾ und ihr Zusammenhang mit der Deutung, die Knoop seinen Beobachtungen als β -Oxydation gegeben hat, legen naturgemäß die Frage nach dem Mechanismus der Bildung der ungesättigten Säuren aus den entsprechenden gesättigten Säuren nahe. Für diesen Mechanismus eröffnen sich zwei Möglichkeiten, von denen die eine die intermediäre Bildung einer β -Oxysäure zur Voraussetzung hat, während die andere zu der Annahme einer direkten Oxydation der gesättigten Säure zu der entsprechenden α , β -ungesättigten Säure unter Vermeidung der Bildung einer β -Oxysäure führt.

Die Grundlage für die Diskussion der ersten Möglichkeit bildet die Beobachtung von Tappeiner⁸⁾, der beim Kaninchen

1) Le Sueur, Journ. Chem. Soc. 65, 1708, 1904.

2) Georg Joannovics u. Ernst P. Pick, Wiener klin. Wochenschr. 1910, 573.

3) H. D. Dakin, Journ. of Biol. Chem. 4, 419.

4) H. D. Dakin, ebenda 6, 221, 1909.

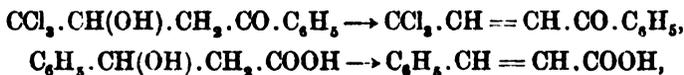
5) Takaoki Sasaki, diese Zeitschr. 25, 272, 1910.

6) Franz Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 150, 1905.

7) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 183, 1908.

8) H. Tappeiner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 367, 1894.

nach Verfütterung von Chloralacetophenon im Harn der Versuchstiere Trichloräthylidenacetophenon erhielt und der Befund von Dakin¹⁾, der nach Verfütterung von Phenyl- β -oxypropionsäure an Hunde Cinamoylglycin isolieren konnte:



Versuche, aus denen sich wohl mit Sicherheit die Fähigkeit des Tierkörpers, aus bestimmten Hydroxyverbindungen unter Wasserabspaltung ungesättigte Substanzen zu liefern, ableiten läßt. Dagegen ist die Beziehung der β -Oxysäuren zu den entsprechenden gesättigten Säuren bisher ebensowenig aufgeklärt, wie ihre Stellung innerhalb des Reaktionsmechanismus, der von den gesättigten Säuren zu den um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säuren führt. Nimmt man den primären Vorgang in der β -Hydroxylierung der gesättigten Säuren an, so bleibt es, abgesehen, daß eine derartige Reaktion bis jetzt im chemischen Experiment nicht ausgeführt ist²⁾, ohne Hinzuziehen neuer Hypothesen schwer verständlich, daß Säuren wie die Phenyl- β -oxypropionsäure und die Phenyl- β -oxyvaleriansäure im Organismus erheblich schwerer angreifbar sind als die entsprechenden normalen Säuren, deren Abbau sie als Zwischenkörper vermitteln sollen. Sieht man dagegen den primären Vorgang in der Bildung von β -Ketonsäuren³⁾, aus denen, analog der von Neubauer⁴⁾ beobachteten Reduktion der α -Ketonsäuren zu α -Oxysäuren, sekundär die β -Oxysäuren durch Reduktion entstehen, ein Vorgang, der zuerst von mir für die Benzoylessigsäure⁵⁾ und von C. Maase und mir für die Acetessigsäure⁶⁾ nachgewiesen ist, so wird man ebenfalls diesem Reaktionsmechanismus keine allgemeine Gültigkeit zusprechen, da ich zeigen konnte, daß eine β -Ketonsäure, die Furoylessigsäure im Gegensatz zur Furfurpropionsäure und Furfuracrylsäure im Tier-

¹⁾ H. D. Dakin, Journ. of Biol. Chem. 6, 215, 1909.

²⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 120, 1910.

³⁾ L. Blum, Münch. med. Wochenschr. 1910, 683.

⁴⁾ Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909.

⁵⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 119, 1910.

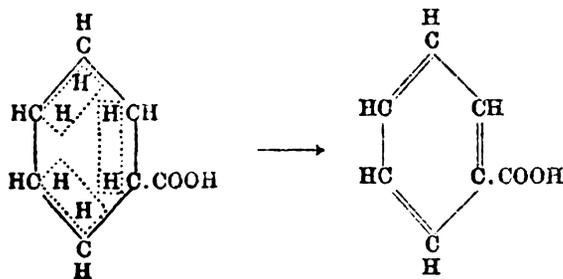
⁶⁾ C. Maase, Med. Klinik 1910, Nr. 11. — E. Friedmann und C. Maase, diese Zeitschr. 27, 474, 1910.

körper nicht zu der um zwei Kohlenstoffatome ärmeren Säure, der Brenzschleimsäure, abgebaut wird¹⁾).

Diese Überlegungen führen dazu, die Möglichkeit der Umwandlung der gesättigten Säuren in die entsprechenden ungesättigten Säuren in einer Reaktion, bei der es nicht zu einer intermediären Bildung von β -Oxysäuren kommt, zur Diskussion zu stellen. Von chemischen Analogien auf dem Gebiete der Fettsäuren ist mir allerdings nur die Überführung von *o*-Nitrophenylpropionsäure in *o*-Nitrozimtsäure²⁾ durch Erhitzen mit Wasser im Rohr auf 120° bekannt. Dagegen gibt es zahlreiche chemische Methoden, um aus cyclischen, hydrierten Verbindungen Wasserstoff benachbarter Kohlenstoffatome unter Entstehung von Doppelbindungen durch Oxydation zu entfernen. Es schien mir daher von Interesse zu prüfen, ob auch der Tierkörper die Fähigkeit besitzt, hydrierte, cyclische Verbindungen zu dehydrieren.

Ich stellte zu diesem Zwecke Hexahydrobenzoesäure, Hexahydroanthranilsäure, Cyclohexanessigsäure und Cyclohexanolessigsäure dar und applizierte sie Hunden subcutan. Sowohl nach Verfütterung von Hexahydrobenzoesäure wie nach Verfütterung von Hexahydroanthranilsäure war eine deutliche Vermehrung der ausgeschiedenen Hippursäure nachweisbar, dagegen konnte nach Applikation von Cyclohexanessigsäure und von Cyclohexanolessigsäure weder eine Vermehrung der Hippursäure noch das Auftreten von Phenacetursäure im Harn der Versuchstiere nachgewiesen werden.

Der Übergang von Hexahydrobenzoesäure in Hippursäure bzw. in Benzoesäure

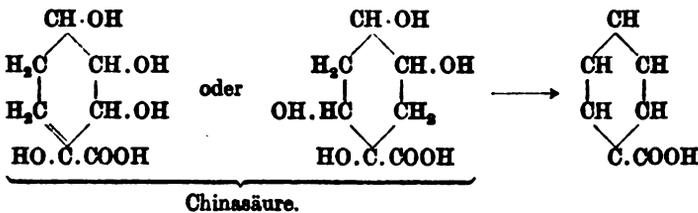


¹⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 35, 40, 1911.

²⁾ C. Müller, Liebigs Annal. d. Chem. u. Pharm. 212, 148.

stellt sich beim Vergleich vom Ausgangs- und Endprodukt der Reaktion als eine dreifache Dehydrierung dar. Auch hier eröffnet sich ganz analog der Deutung des Übergangs der Phenylpropionsäure in Zimtsäure und der Furfurpropionsäure in Furfuracrylsäure die Frage, ist zur Erklärung dieser Dehydrierung die Annahme einer intermediären Hydroxylierung und nachfolgenden Wasserabspaltung notwendig, oder ist diese Annahme für die Dehydrierung der Hexahydrobenzoesäure entbehrlich?

Für die Annahme einer intermediären Hydroxylierung könnte angeführt werden, daß in der Tat der Übergang einer Tetraoxycyclohexancarbonsäure, der Chinasäure, in Benzoesäure im Tierkörper beobachtet ist¹⁾:



Jedoch ist darauf hinzuweisen, daß diese Reaktion keinen einwandfreien Vergleich gestattet, da, wie ein Blick auf die obigen Formeln zeigt, dieser Vorgang nicht allein durch Wasserabspaltung zustande kommt, vielmehr durch das Hinzutreten von Reduktionsprozessen kompliziert wird.

Dagegen spricht die Beobachtung, daß Hexahydroanthranilsäure im Tierkörper nicht mit derselben Leichtigkeit in Hippursäure übergeht wie die Hexahydrobenzoesäure, nicht für die Annahme der intermediären Bildung sauerstoffhaltiger Zwischenprodukte bei dem primären Vorgang der Dehydrierung der Hexahydrobenzoesäure. Ist aber erst einmal eine Doppelbindung in die Hexahydrobenzoesäure eingeführt, so ist die weitere Annahme sauerstoffhaltiger Zwischenprodukte beim ferneren Abbau der Tetrahydrobenzoesäure völlig entbehrlich, da sowohl Tetra- wie Dihydrobenzoesäuren schon durch den Luftsauerstoff zu Benzoesäure oxydiert werden können.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Tierkörper die Fähigkeit besitzt, bestimmte hydrierte, cyclische Verbindungen

¹⁾ Liebigs Annal. d. Chem. u. Pharm. 125, 9.

zu dehydrieren, und dies auf einem Wege, für den die Annahme sauerstoffhaltiger Zwischenprodukte entbehrlich ist. Da hierbei Oxydation benachbarter Wasserstoffatome unter Erzeugung einer Doppelbindung stattfindet, glaube ich diese Reaktion als eine experimentelle Grundlage für die Annahme ansprechen zu dürfen, daß auch beim Abbau bestimmter, gesättigter Säuren zu den entsprechenden ungesättigten Säuren die Möglichkeit einer analogen Oxydation vorliegt.

Fütterungsversuche.

Da es mir bei diesen Versuchen auf eine möglichst vollständige Gewinnung der Hippursäure aus dem Harn ankam und ich auf die Isolierung anderer Umwandlungsprodukte der verfütterten Substanzen verzichtete, sei, um Wiederholungen zu vermeiden, die von mir eingehaltene Arbeitsweise zur Darstellung der Hippursäure aus dem Versuchsharn vorangestellt.

Isolierung der Hippursäure aus dem Harn.

Der Harn der Versuchstage wird zum dünnem Sirup eingedampft und dieser viermal mit 92%igem Alkohol in der Wärme extrahiert. Der nach Abdampfen des Alkohols erhaltene Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit 50 bis 100 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und viermal 12 Stunden mit Äther extrahiert. Der ätherische Auszug wird vom Äther durch Destillation befreit, der Rückstand in 50 ccm Wasser aufgenommen und die wässrige Lösung mit Tierkohle entfärbt. Die Tierkohle wird wiederholt ausgekocht. Die so gewonnene, farblose Flüssigkeit wird zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt, das die Hauptmenge der die Krystallisation der Hippursäure störenden Verunreinigungen aufnimmt; darauf wird sie mit 5 bis 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und fünfmal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Essigätherauszug hinterläßt nach vollständigem Verjagen des Essigäthers die Hippursäure bereits in recht reiner Form. Sie wird wiederholt mit Petroläther ausgekocht, aus wenig Wasser umkrystallisiert, getrocknet und gewogen. Aus der Mutterlauge können durch Eindampfen noch geringe Mengen Hippursäure gewonnen werden.

Bei hippursäurereichen Harnen krystallisiert die Hippursäure mitunter nach dem Entfärben der wässrigen Lösung aus.

In diesen Fällen habe ich die hippursäurehaltige Flüssigkeit 24 Stunden im Eisschrank stehen lassen, die ausgeschiedene Hippursäure abgesaugt und die Mutterlauge in der oben beschriebenen Weise verarbeitet. Auch beobachtet man gelegentlich, daß der Chloroformauszug beim Stehen geringe Mengen Hippursäure absetzt.

1. Fütterung von Hexahydrobenzoesäure.

Hexahydrobenzoesäure stellte ich nach dem Verfahren von Markownikoff¹⁾ dar. Die Säure zeigte bei der Destillation den für die Hexahydrobenzoesäure angegebenen Siedepunkt von 232 bis 233°. Zur Analyse diente das Kalksalz.

0,2590 g Subst.: 0,0553 g H₂O.

C₁₄H₂₂O₄Ca + H₂O: Ber.: H₂O 21,84%; Gef.: 21,35%.

0,2038 g Subst.: 0,0930 CaSO₄.

C₁₄H₂₂O₄Ca: Ber.: Ca 13,63%; Gef.: 13,43%.

Einem Hunde von 7,5 kg, der täglich 0,5 kg Pferdefleisch erhielt, wurden 1,96 g Hexahydrobenzoesäure (0,275 g pro kg Tier), in 15,32 ccm Normal-Natronlauge gelöst, unter die Haut gespritzt. Der Harn des Versuchstages zeigte, mit Fehlingscher Lösung gekocht, Nachreduktion und gab, mit Phloroglucin- und Orcinsalzsäure gekocht, positive Glucuronsäurereaktion.

Verarbeitet wurde der Harn des Versuchstages und des ersten Nachtages. Aus dem zweitägigen Harn wurden 0,65 g reine Hippursäure isoliert.

0,2049 g Subst.: 14,15 ccm N (13,8°, 752 mm).

C₉H₉NO₃: Ber.: N 7,82%; Gef.: 8,05%.

Im Kontrollversuch schied derselbe Hund bei gleicher Ernährung im zweitägigen Harn 0,32 g Hippursäure aus.

2. Fütterung von Hexahydroanthranilsäure.

Hexahydroanthranilsäure wurde nach den Angaben von Einhorn und Meyenberg²⁾ gewonnen.

Einem Hunde von 9,5 kg, der täglich 0,5 kg gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden 1,9 g Hexahydroanthranilsäure

¹⁾ W. Markownikoff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 3355, 1892.

²⁾ Alfred Einhorn und Alexander Meyenberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 2466, 1894.

(0,2 g pro kg Tier), in 20 ccm Wasser gelöst, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen unter die Haut gespritzt.

Verarbeitet wurde der Harn der zwei Versuchstage und des ersten Nachtages. Aus dem dreitägigen Harne konnten 0,83 g reine Hippursäure isoliert werden, während im Kontrollversuch derselbe Hund bei gleicher Ernährung 0,64 g Hippursäure in drei Tagen zur Ausscheidung brachte.

3. Fütterung von Cyclohexanessigsäure.

Zur Darstellung der Cyclohexanessigsäure verfuhr ich nach den Angaben von Wallach¹⁾.

Einem Hunde von 8,5 kg, der täglich 0,5 kg gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden 2,55 g Cyclohexanessigsäure (0,3 g pro kg Tier), in 18,1 ccm Normal-Natronlauge gelöst, unter die Haut gespritzt.

Aus dem Harn des Versuchstages und der beiden Nachtage konnten nur 0,28 g Hippursäure gewonnen werden, während im Kontrollversuch aus dem dreitägigen Harn 0,435 g Hippursäure isoliert wurden.

4. Fütterung von Cyclohexanolessigsäure.

Cyclohexanolessigsäure erhielt ich nach der Vorschrift von Wallach²⁾.

Einem Hunde von 9,5 kg, der täglich 0,5 kg gekochtes Pferdefleisch erhielt, wurden 2,85 g Cyclohexanolessigsäure (0,3 g pro kg Tier), in 18,4 ccm Normal-Natronlauge gelöst, unter die Haut gespritzt.

Aus dem Harn des Versuchstages und der beiden Nachtage wurden 0,4 g Hippursäure isoliert, während im Kontrollversuch aus dem dreitägigen Harn 0,64 g Hippursäure erhalten wurden.

¹⁾ O. Wallach, Liebigs Annal. d. Chem. u. Pharm. 347, 329, 1906.

²⁾ O. Wallach, Liebigs Annal. d. Chem. u. Pharm. 358, 295, 1907.

Über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper.

Von

T. Kikkoji.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. Juli 1911.)

In zahlreichen aromatischen Substanzen erfolgt der Abbau des Benzolkernes im Tierkörper in bestimmter Abhängigkeit vom Bau der Seitenkette. Als leicht abbaufähig hat sich der Benzolkern erwiesen im Phenylalanin¹⁾, in der Phenylbrenztraubensäure²⁾ und der Phenylmilchsäure³⁾, während Phenyl-essigsäure als Phenacetursäure⁴⁾ ausgeschieden wird. Von den im Kern monohydroxylierten, aromatischen Säuren unterliegt der Kern nur in Parahydroxyderivaten der physiologischen Verbrennung, und zwar werden abgebaut das Tyrosin⁵⁾ und die p-Oxyphenylbrenztraubensäure⁶⁾, während p-Oxyphenyl-essigsäure⁷⁾ unverändert zur Ausscheidung gelangt. Dagegen ist von den dihydroxylierten Benzolcarbonsäuren bereits die Homogen-tisinsäure (Hydrochinonessigsäure)⁸⁾ abbaufähig.

¹⁾ C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 8, 63, 1883.

²⁾ Franz Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 157, 1905.

³⁾ Franz Knoop, l. c., S. 158.

⁴⁾ E. und H. Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 12, 653, 1879; dieselben, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 162, 1882.

⁵⁾ H. Blendermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 247, 1882; C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 24, 1882.

⁶⁾ Yashiro Kotake, Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 409, 1910.

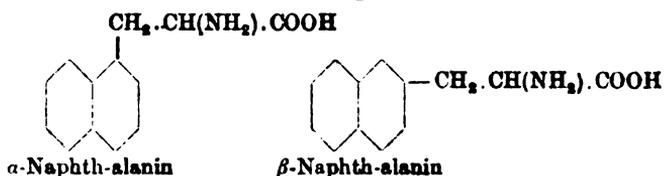
⁷⁾ C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 23, 1882.

⁸⁾ M. Wolkow und E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 282, 1891; Heinrich Embden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 328, 1894.

Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß diejenigen aromatischen Substanzen, deren Benzolkern im Tierkörper leicht verbrennlich ist, sich im Experiment am Alkaptonuriker als Bildner von Homogentisinsäure erweisen¹⁾. Hieraus folgt, daß der Bau der Seitenkette in den erwähnten Benzolderivaten den Übergang dieser Substanzen in Homogentisinsäure vermittelt und auf diesem Wege die Ringsprengung des Benzolkernes ermöglicht. Auch die Struktur der Seitenkette, unter deren Einfluß der Abbau der Benzolderivate zu Homogentisinsäure erfolgt, ist chemisch zu präzisieren. Sie stellt sich, wie aus der obigen Zusammenstellung ersichtlich ist, als α -Alaninrest oder als Reste der physiologischen Abbauprodukte des α -Alanins von gleicher Kohlenstoffatomzahl dar.

Diese Feststellungen legen die Frage nahe, ob auch andere ringförmige Gebilde eine ähnliche Abhängigkeit der Abbaufähigkeit des Kernes von der Struktur der Seitenkette erkennen lassen. Beobachtungen von Ellinger können vielleicht in diesem Sinne gedeutet werden, da Ellinger nach Verfütterung von Tryptophan (β -Indol-alanin)²⁾, nicht aber nach Applikation von β -Indol-essigsäure³⁾ Bildung von Kynurensäure bei Kaninchen und Hunden nachweisen konnte.

Zur Prüfung dieser Frage stellte ich auf Veranlassung von Herrn Prof. E. Friedmann α - und β -Naphth-alanin dar und untersuchte ihr Verhalten im Tierkörper.



Bei Verfütterung von α -Naphth-alanin an einen Hund wurde beobachtet, daß diese Substanz in Form eines in Wasser und Äther schwer löslichen, stickstoffhaltigen Naphthalinderivates ausgeschieden wird, über dessen Zusammensetzung

¹⁾ Otto Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909 und die hier angegebene Literatur.

²⁾ Alexander Ellinger, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 1801, 1904; derselbe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 325, 1904.

³⁾ Alexander Ellinger und Claude Flamand, Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 11, 1908.

die Untersuchungen bisher kein abschließendes Urteil gestatten. Andere Umwandlungsprodukte des α -Naphth-alanins konnten nicht isoliert werden. Insbesondere ergab die genaue Aufarbeitung des aus den vereinigten Harnmengen der Fütterungstage gewonnenen Ätherextraktes, daß keine ätherlöslichen Umwandlungsprodukte des α -Naphth-alanins entstanden waren.

Ganz andere Resultate wurden bei Verfütterung von β -Naphth-alanin an denselben Hund gewonnen. Hier konnte zwar ebenfalls ein stickstoffreiches, in Wasser und Äther schwer lösliches Naphthalinderivat isoliert werden, aber seine Menge war im Vergleich zu dem Auftreten der stickstoffhaltigen Substanz nach Applikation von α -Naphth-alanin recht gering. Die Analysen dieser Substanz, die an Präparaten aus verschiedenen Fütterungsversuchen ausgeführt wurden, scheinen für die Formel $C_{15}H_{16}N_2O_3$ zu sprechen; jedoch möchte ich diese Formel nicht als sichergestellt betrachten und ihre Richtigkeit in neuen Fütterungsversuchen prüfen.

Außer diesem stickstoffreichen Naphthalinderivat wurde nach Verfütterung von β -Naphth-alanin das Auftreten von β -Naphthalinessigsäure und von relativ großen Mengen Hippursäure beobachtet.

Nach Einverleibung von 9 g β -Naphth-alanin-chlorhydrat wurden aus dem Harn 1,3 g β -Naphthalinessigsäure isoliert. Ihr Auftreten bringt ein neues Beispiel für den Abbau einer Aminosäure zu der um ein Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäure im Tierkörper.

Die Menge der isolierten Hippursäure betrug 1,39 g. Berücksichtigt man, daß die gesammelten Harne von 5 Tagen verarbeitet wurden, so entspricht die gefundene Hippursäure einer täglichen Ausscheidung von 0,278 g. Diese Zahl ist auffallend hoch und legt den Gedanken nahe, daß die ausgeschiedene Hippursäure zum Teil ihre Quelle in dem verfütterten β -Naphth-alanin hat. Zur Prüfung dieser Vermutung wurde festgestellt, wieviel Hippursäure das Versuchstier in 5 Tagen bei gleicher Ernährung wie während der Fütterungsperiode mit β -Naphth-alanin zu liefern vermag. Aus dem 5tägigen Harn konnten 0,86 g rohe und 0,7 g reine Hippursäure isoliert werden, so daß die tägliche Hippursäureausscheidung des Versuchstieres 0,173 g betrug. Demnach findet nach Verfütterung von β -Naphth-alanin

eine erhebliche Steigerung der Hippursäureausscheidung statt, eine Steigerung, die sich ungezwungen durch Abbau des β -Naphth-alanins zu Benzoesäure erklären läßt.

Dieser Schluß erhielt eine erhebliche Stütze durch die Resultate, die an demselben Hunde nach Fütterung von β -Naphthyl-brenztraubensäure erhalten wurden. Nach Applikation von 5,8 g β -Naphthyl-brenztraubensäure konnten aus dem 4tägigen Harn des Versuchstieres 0,35 g β -Naphthyl-essigsäure und 1,75 g Hippursäure isoliert werden. Die tägliche Hippursäureausscheidung betrug also in diesem Versuche 0,44 g gegen 0,173 g im Normalversuch. Ein stickstoffhaltiges Umwandlungsprodukt der β -Naphthyl-brenztraubensäure, an das nach neueren Befunden zu denken war, war in dem Harn der Fütterungsperiode nicht nachzuweisen.

β -Naphthyl-brenztraubensäure wird also im Tierkörper analog der von E. Friedmann und C. Maase¹⁾ verfütterten p-Chlorphenyl-brenztraubensäure zum Teil zu der um ein Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäure abgebaut. Daneben findet ebenso wie bei der entsprechenden α -Aminosäure, dem β -Naphth-alanin, nur erheblich deutlicher, ein Abbau des Naphthalinkernes statt. Als Endprodukt dieser Reaktion wird Benzoesäure gebildet, die als Hippursäure im Harn erscheint. Auch in der Naphthalinreihe führt demnach der Abbau der α -Ketonsäure zu denselben Endprodukten wie die Umwandlung der entsprechenden α -Aminosäure.

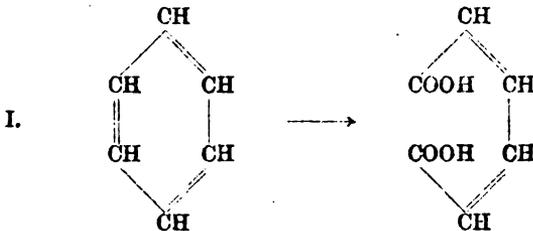
Der Abbau des β -Naphth-alanins und der β -Naphthyl-brenztraubensäure zu Benzoesäure legt natürlich die Frage nahe ob auch für die Oxydation des Naphthalinkernes zu Benzoesäure der chemische Bau der Seitenkette maßgebend ist. Diese Frage ist leicht durch Fütterungsversuche mit β -Naphthalin-essigsäure zu entscheiden. Leider habe ich diese Versuche nicht ausführen können, da das Ausgangsmaterial für die Synthese der β -Naphthylessigsäure, das β -Methylnaphthalin, zurzeit nicht erhältlich ist. Die Frage nach der Abbaufähigkeit des Naphthalinkernes in ihrer Abhängigkeit von dem Bau der Seitenkette muß demnach als eine offene bezeichnet werden, wenngleich zu betonen ist, daß eine Bildung von Benzoesäure

¹⁾ E. Friedmann und C. Maase, diese Zeitschr. 27, 97, 1910.

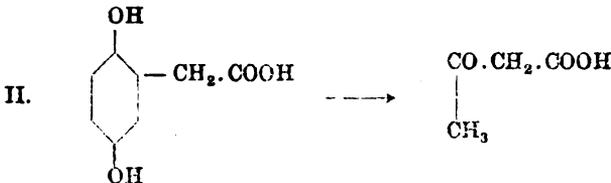
aus anderen Naphthalinderivaten im Tierkörper bisher nicht beobachtet ist.

Dagegen zeigt der Vergleich der Resultate, die nach Verfütterung von α -Naphth-alanin und von β -Naphth-alanin erhalten sind, daß der Abbau des Naphthalinkernes sich als abhängig von der Stellung der Seitenkette im Naphthalinring erweist, da nur β -Naphth-alanin, nicht aber α -Naphth-alanin in Benzoesäure übergeht.

Die nach Verfütterung von β -Naphth-alanin und von β -Naphthyl-brenztraubensäure beobachtete Aufspaltung des Naphthalinkernes im Tierkörper bietet gewisse Vergleichspunkte zu den Ringsprengungen, denen der Benzolkern im Tierkörper unterliegt. Bisher sind drei Ringsprengungen des Benzolkernes beobachtet worden. So hat Jaffé¹⁾ den Übergang von Benzol in Muconsäure nachgewiesen:



Embden²⁾ und seine Mitarbeiter, sowie Baer und Blum³⁾ zeigten, daß die Homogentisinsäure und ihre Muttersubstanzen in Acetessigsäure bzw. in β -Oxybuttersäure übergeht:



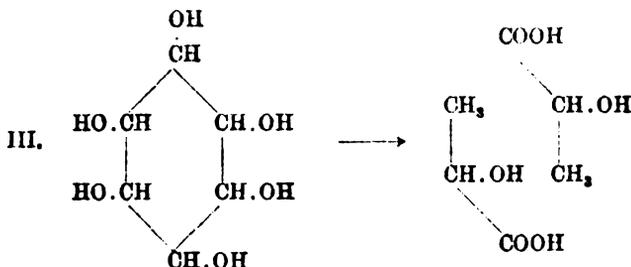
und Paul Mayer⁴⁾ erhielt aus Inosit bei Fütterungsversuchen an Kaninchen d,l-Milchsäure:

¹⁾ M. Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 58, 1909.

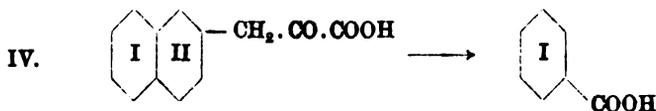
²⁾ Gustav Embden und Hans Engel, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 323, 1908.

³⁾ Julius Baer und Léon Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 92, 1907.

⁴⁾ Paul Mayer, diese Zeitschr. 9, 533, 1908.



Diesen Reaktionen reiht sich die von mir beobachtete Aufspaltung des einen Benzolkernes in dem β -Naphth-alanin und der β -Naphthyl-brenztraubensäure unter Bildung von Benzoesäure an:



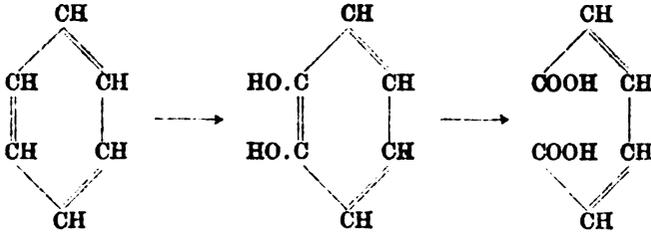
Daß in diesen Naphthalinderivaten tatsächlich der Kern II und nicht der Kern I aufgespalten wird, ergibt sich aus dem Befund von Hippursäure im Harn, da bei Oxydation des Kernes I nach allen bisherigen Erfahrungen wohl Phenacetursäure aufgetreten wäre.

Überblickt man diese vier Ringsprengungen, so erkennt man unschwer, daß sie sich auf die beiden physiologischen Typen der Oxydation des Benzolkernes zurückführen lassen, die Oxydation des Benzols zu Brenzcatechin (Typus I) und die Oxydation des Benzols zu Hydrochinon (Typus II).

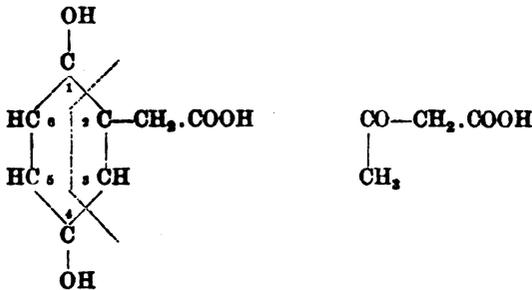
Die Oxydation des Benzols zu Brenzcatechin im Tierkörper ist zuerst von Nencki und Giacosa¹⁾ beobachtet worden und hat ihre physiologische Bedeutung in der Bildung des Adrenalins im intermediären Stoffwechsel²⁾. Die Aufspaltungsreaktion dieser Gruppe von Dioxybenzolen wird durch die von Jaffé beobachtete Entstehung der Muconsäure aus Benzol (I) wiedergegeben, eine Reaktion, für deren Erklärung die intermediäre Bildung von Orthodioxibenzolen wohl kaum entbehrlich ist:

¹⁾ M. Nencki und P. Giacosa, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 335, 1880.

²⁾ E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 120, 1903.



Während die **Aufspaltung** der Orthodioxybenzole zwischen den beiden oxydierten Kohlenstoffatomen stattfindet, liegen augenscheinlich für die Ringsprengung in Paradioxybenzolen kompliziertere Verhältnisse vor. Geht man von der Voraussetzung aus, daß auch in der Homogentisinsäure die Aufspaltung an den beiden oxydierten Kohlenstoffatomen des Benzolkernes angreift:



so hat man vier Möglichkeiten der Ringsprengung zu berücksichtigen, je nachdem die Aufspaltung zwischen den Kohlenstoffen 1,2 und 3,4, zwischen 1,2 und 4,5, zwischen 1,6 und 3,4 und schließlich zwischen 1,6 und 4,5 eintritt.

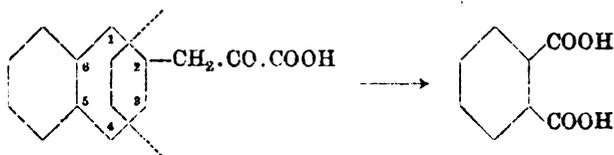
Die Aufspaltung der Homogentisinsäure (II) zwischen den Kohlenstoffen 1,2 und 3,4 ist von verschiedenen Autoren zur Erklärung ihres Überganges in Acetessigsäure angenommen worden¹⁾. In der Acetessigsäure würden im Sinne dieser Vorstellung nur 2 Kohlenstoffatome, und zwar die Gruppe CH₃.CO, dem Benzolkern entstammen, während der Rest —CH₂.COOH der Seitenkette angehört. Über das Schicksal der verbleibenden 4 Kohlenstoffatome sind wir nicht unterrichtet.

¹⁾ Julius Baer und Léon Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 58, 97, 1907. — Carl Neuberg, in Carl Oppenheimers Handbuch d. Biochemie 4, 2. Hälfte, S. 370, 1910.

Betrachtet man dagegen die Aufspaltung des Inosits zu Milchsäure (III) und die Bildung der Benzoesäure aus β -Naphthylbrenztraubensäure (IV), so erkennt man, daß sowohl in der Milchsäure wie in der Benzoesäure 3 Kohlenstoffatome des aufgespaltenen Benzolkernes in Erscheinung treten. Diese beiden Aufspaltungsreaktionen bieten daher bezüglich dieses Punktes erhebliche Analogien. Ob diese Analogie weiter geht, ist bei dem strukturell symmetrischen Bau des Inosits¹⁾ allerdings schwierig zu entscheiden.

Vergleicht man auf der anderen Seite die Aufspaltung der β -Naphthylbrenztraubensäure zu Benzoesäure mit der Aufspaltung der Homogentisinsäure zu Acetessigsäure, so zeigt die Betrachtung der Reaktionsformeln (S. 61 und 62), daß die beiden Endprodukte der Ringsprengung, die Benzoesäure und die Acetessigsäure, verschiedenen Bruchstücken des Benzolkernes angehören. Trotzdem wäre es denkbar, daß Benzoesäure und Acetessigsäure zwar verschiedenen Bruchstücken des Benzolkernes entstammen, daß aber der Mechanismus der Aufspaltung des Benzolkernes, der zu diesen Produkten führt, in beiden Fällen der gleiche ist. Daraus ergibt sich die Frage, ob bei einer Aufspaltung der β -Naphthylbrenztraubensäure, die analog der Aufspaltung der Homogentisinsäure, also zwischen den Kohlenstoffatomen 1,2 und 3,4, stattfindet, Benzoesäure entstehen kann. Ich glaube diese Frage aus zwei Gründen verneinen zu können.

Der eine Grund ergibt sich aus der Überlegung, daß eine Sprengung zwischen den Kohlenstoffatomen 1,2 und 3,4 in der Naphthylbrenztraubensäure wohl zu Phthalsäure und nicht zu Benzoesäure geführt hätte:



Phthalsäure ist nun nach den Versuchen von Přibram²⁾ im Tierkörper schwer verbrennlich, und ich habe daher nach

¹⁾ Die Bedeutung der räumlichen Asymmetrie des Inosits für die Entstehung der d,l-Milchsäure scheint für eine Diskussion nicht spruchreif zu sein.

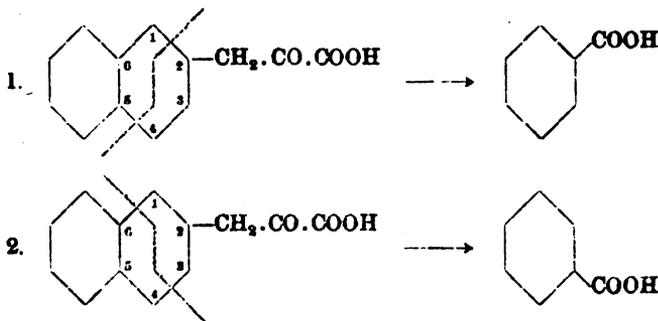
²⁾ Ernst Přibram, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 51, 372, 1904.

Phthalsäure sowohl nach Verfütterung von β -Naphth-alanin wie nach β -Naphthylbrenztraubensäure im Harn gefahndet, ohne irgendeinen Anhaltspunkt für das Auftreten dieser Säure gewinnen zu können.

Noch durchschlagender erscheint mir der zweite Grund. Bei einer Aufspaltung der β -Naphthyl-brenztraubensäure zwischen den Kohlenstoffatomen 1,2 und 3,4 wäre in Analogie mit dem Übergang der Homogentisinsäure in Acetessigsäure die Bildung von Acetessigsäure zu erwarten gewesen. Ich habe daher Durchströmungsversuche mit β -Naphthyl-brenztraubensäure ausgeführt und feststellen können, daß diese Substanz kein Bildner von Acetessigsäure ist.

Aus diesen Versuchen folgt, daß die Aufspaltung des Naphthalinkernes in den untersuchten Verbindungen in anderer Weise erfolgt wie die Ringsprengung des Benzolkernes der Homogentisinsäure, soweit diese über Acetessigsäure verläuft.

Für den Abbau der β -Naphthyl-brenztraubensäure zu Benzoesäure kommen unter Berücksichtigung der obigen Ausführungen zwei Wege in Betracht, die davon abhängen, ob die Spaltung des Naphthalinkernes zwischen den Kohlenstoffatomen 1,2 und 4,5 oder zwischen den Kohlenstoffatomen 1,6 und 3,4 stattfindet:



Eine Entscheidung zugunsten eines dieser Wege ist vorläufig nicht zu treffen. Beide Möglichkeiten erklären ungezwungen die Entstehung der Benzoesäure, und ebenso ist das Ausbleiben der Acetessigsäurebildung im Durchströmungsversuch mit beiden Vorstellungen in Einklang zu bringen. Denn bei der Aufspaltung (1) zwischen den Kohlenstoffatomen 1,2 und 4,5 würde neben der Benzoesäure eine normale Säure

zurückbleiben, deren Übergang in Acetessigsäure wenig wahrscheinlich ist, während bei der Ringsprengung (2) zwischen den Kohlenstoffatomen 1,6 und 3,4 eine verzweigte Säure gebildet würde. Diese würde zwar, unter Berücksichtigung des Abbaues der α -Ketonsäure zu der um 1 Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäure, das Kohlenstoffskelett der Isovaleriansäure enthalten, jedoch hat E. Friedmann¹⁾ gezeigt, daß die in der Seitenkette oxydierten Derivate der Isovaleriansäure keine Bildner von Acetessigsäure sind.

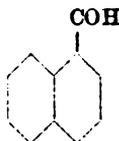
Die in dieser Arbeit gewonnenen Resultate sollen durch Versuche am Alkaptonuriker und durch Fütterungsversuche analoger Substanzen ergänzt und erweitert werden.

Chemischer Teil.

Die Darstellung des α -Naphth-alanins und β -Naphth-alanins wurde nach der von Erlenmeyer²⁾ für die Synthese des Phenylalanins angegebenen Methode ausgeführt. Naphthaldehyd wurde demnach mit Hippursäure zum Lactimid der Naphthylbenzoyl- α -aminoacrylsäure kondensiert und diese mit Alkali zur freien Säure aufgespalten. Die Naphthylbenzoyl- α -aminoacrylsäure wurde mit Natriumamalgam zum Benzoyl-naphth-alanin reduziert und aus dieser die Benzoylgruppe durch Kochen mit verdünnter Salzsäure³⁾ entfernt. Die Reaktionsflüssigkeiten lieferten beim Eindampfen nach dem Entfernen der Benzoesäure Naphth-alaninchlorhydrat, aus dem die freie Aminosäure in bekannter Weise gewonnen wurde.

1. Synthese des α -Naphth-alanins.

α -Naphth-aldehyd.



Der für die Synthese des α -Naphth-alanins nötige α -Naphth-aldehyd wurde nach den Angaben von F. Bodroux⁴⁾ aus

¹⁾ E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 365, 1908.

²⁾ E. Erlenmeyer jun., Ann. d. Chem. u. Pharmakol. 275, 18.

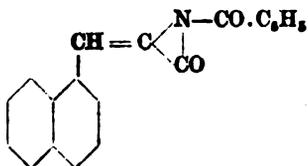
³⁾ Emil Fischer und A. Monneyrat, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 2383, 1900.

⁴⁾ F. Bodroux, Compt. rend. 139, 92 u. 700, 1904.

α -Bromnaphthalin, Magnesium und Orthoameisenester dargestellt. Da diese Angaben wenig ausführlich sind, wurden anfangs nur schlechte Ausbeuten erzielt. Beim Einhalten der folgenden Versuchsbedingungen habe ich leidlich gute Ausbeuten erhalten.

20 g α -Bromnaphthalin werden unter Zusatz eines Körnchens Jod mit 2,5 g trockenem Magnesium und 5 ccm absol. Äther in einem Kolben am Rückflußkühler auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 10 bis 15 Minuten tritt plötzlich lebhaftere Reaktion ein, nachdem zuerst die vom Jod braun gefärbte Flüssigkeit farblos geworden ist. Die Reaktion beansprucht mindestens 24 Stunden. Während dieser Zeit wird wiederholt absol. Äther in kleinen Portionen (5 ccm) hinzugefügt. Nach beendeter Reaktion wird der Äther abdestilliert und der Rückstand in 300 ccm trockenem Toluol gelöst. In die Toluollösung werden 10 ccm orthoameisensaures Äthyl bei Siedehitze unter häufigem Umschütteln tropfenweise eingetragen. Nach 1stündigem Stehenlassen wird das Gemisch mit 100 ccm verdünnter Salzsäure gut durchgeschüttelt. Die von der wässrigen Flüssigkeit getrennte Toluolschicht wird durch Destillation vom Toluol befreit und der braune sirupöse Rückstand mit 100 ccm verdünnter Schwefelsäure (100 ccm Wasser, 25 ccm Schwefelsäure) 1 Stunde gekocht. Der entstandene Aldehyd wird in Äther aufgenommen und nach Abdestillieren des Äthers zur Reinigung in die Bisulfitverbindung übergeführt. Aus 20 g rohem Aldehyd werden nach Zusatz von 40 ccm konz. käuflicher Bisulfitlösung und kräftigem Durchschütteln der Masse während 5 Minuten 15 g feste Bisulfitverbindung gewonnen. Aus dieser wird nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure durch Erwärmen der Aldehyd in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Nach Abdestillieren des Äthers hinterbleiben 7 g Aldehyd, der sofort zur Kondensation benutzt wurde.

Laetimid der α -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure.



27 g α -Naphth-aldehyd, 25 g Hippursäure, 34 g frisch destilliertes Essigsäureanhydrid und 14 g wasserfreies Natriumacetat

werden miteinander gut vermischt und im Wasserbade 2 Stunden erwärmt. Die Reaktionsmasse ballt sich anfangs zu einem festen weißen Kuchen zusammen, der bei weiterem Erhitzen rötlichgelb wird. Anfangs tritt Lösung ein, jedoch erstarrt die Flüssigkeit sehr rasch krystallinisch. Nach beendeter Reaktion wird das Gemisch mit Wasser versetzt. Nach 24stündigem Stehen werden die ausgeschiedenen Krystalle abgesaugt, zuerst mit Wasser, dann mit 50%igem Methylalkohol und zuletzt mit wenig Äther ausgewaschen. Es werden 28 g Lactimid erhalten, die bereits den richtigen Schmelzpunkt 168 bis 169° zeigen.

Zur Analyse wurde das Produkt einmal aus der 10fachen Menge siedenden Xylols umkrystallisiert, die erhaltene Substanz vom anhaftenden Xylol durch Waschen mit Alkohol befreit, darauf nochmals aus absol. Alkohol umgelöst, mit wenig Äther ausgewaschen und bei 100° getrocknet.

0,1529 g Substanz: CO₂ 0,4521 g, H₂O 0,0673 g.

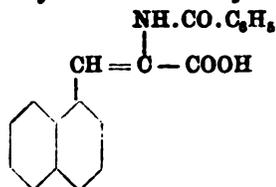
0,2028 g Substanz: N 8,53 ccm (19,4°, 760,9 mm).

C₂₀H₁₅O₂N. Ber.: C 80,24%, H 4,38%, N 4,68%.

Gef.: C 80,64%, H 5,92%, N 4,86%.

Die Substanz krystallisiert in feinen verfilzten, rötlichgelblichen Nadeln. Sie schmilzt bei 168 bis 169° (unkorr.) zu einer rötlichbraunen Flüssigkeit, die nach dem Erkalten erstarrt. Sie ist unlöslich in Wasser und Petroläther. In Methylalkohol, Äthylalkohol, Benzol und Xylol ist sie in der Kälte schwer, in der Wärme etwas mehr löslich, beim Erkalten der Lösung scheidet sie sich wieder krystallinisch aus. Im absol. Äther, Essigäther, Aceton und Schwefelkohlenstoff ist sie schon in der Kälte leicht löslich, in Chloroform ist sie spielend löslich.

... *a*-Naphthyl-benzoyl-*a*-aminoacrylsäure.



Das Lactimid wird von Natronlauge kaum angegriffen, etwas besser von verdünnter Kalilauge.

20 g Lactimid werden mit 5%iger Kalilauge so oft ausgekocht, bis alles in Lösung geht. Hierzu sind 3 l 5%iger

Kalilauge erforderlich. Die Flüssigkeit wird filtriert und das Filtrat in der Wärme allmählich mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Dabei scheidet sich die Säure sofort krystallinisch ab. Nach dem Erkalten wird sie abgesaugt, mit wenig Ather ausgewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute beträgt 19,8 g, ist also die theoretische.

Zur Analyse werden 1 g Substanz in 45 ccm 50%igem Alkohol in der Wärme gelöst. Die Lösung wird heiß filtriert und in der Wärme mit derselben Menge Wasser versetzt. Beim Erkalten krystallisiert die Säure in hellgelben Drusen von Nadeln, die noch einmal aus 50%igem Alkohol unter Zusatz von Wasser umkrystallisiert werden.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0,1297 g Substanz: CO₂ 0,3607 g, H₂O 0,0649 g.

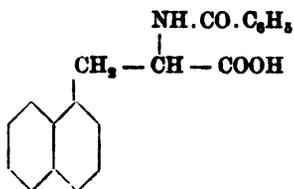
0,2140 g Substanz: N 8,81 ccm (20,8°, 752 mm).

C₁₀H₁₁NO₂. Ber.: C 75,69%, H 4,77%, N 4,42%.

Gef.: C 75,85%, H 5,60%, N 4,66%.

Die Säure krystallisiert in Büscheln von hellgelben Nadeln, die bei 218° sintern und bei 221° (unkorr.) schmelzen. Sie ist unlöslich in Wasser, sehr schwer löslich in absol. Äther. In Xylol ist sie schwer löslich in der Kälte, leicht löslich in der Wärme und scheidet sich beim Erkalten der Xylollösung wieder aus. In absolut. Alkohol, Essigäther, Schwefelkohlenstoff und Chloroform ist sie auch in der Kälte leicht löslich. Methylalkohol und Aceton lösen sie spielend.

α -Naphthyl-benzoyl- α -aminopropionsäure (Benzoyl- α -Naphth-alanin.



18,9 g α -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure werden in 100 ccm 5%iger Kalilauge in der Kälte gelöst. Die Lösung wird im Verlauf von 1 $\frac{1}{2}$ Stunde mit 300 g Natriumamalgam von 2% reduziert. Darauf wird die Lösung mit 100 ccm

15%iger Kalilauge versetzt, $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, um ungesättigte Säure zu zerstören, und in der Wärme mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Dabei fällt die gesättigte Säure sofort als eine krystallinische Masse aus. Ihre Menge beträgt 13,2 g.

Zur Reinigung wird die Säure aus der 50fachen Menge 50%igem Alkohol in der Wärme umgelöst. Aus dem Filtrat scheidet sie sich in Rosetten von farblosen, glitzernden, dünnen Blättchen ab. Zur Analyse wird sie noch einmal in derselben Weise umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1367 g Substanz: CO₂ 0,3743 g, H₂O 0,0757 g.

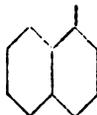
0,2011 g Substanz: N 7,17 com (18,1°, 748 mm).

C₂₀H₁₁NO₂. Ber.: C 75,21%, H 5,37%, N 4,39%.

Gef.: C 75,23%, H 6,24%, N 4,06%.

Die gesättigte Säure krystallisiert in Rosetten von farblosen glitzernden Blättchen, die nach Sintern und Erweichen bei 192 bis 193° (unkorr.) schmelzen. Sie ist in Wasser und Schwefelkohlenstoff schwer löslich, in Xylol in der Kälte schwer löslich, in der Wärme aber ziemlich löslich. In absolutem Alkohol, Ather, Essigäther und Chloroform ist sie leicht löslich. Methylalkohol und Aceton lösen sie spielend.

α -Naphth-alanin-chlorhydrat.



12 g α -Naphthyl-benzoyl- α -aminopropionsäure werden mit 1,6 l 10%iger Salzsäure 36 Stunden zum Sieden erhitzt. Die Abspaltung der Benzoylgruppe geht sehr langsam vonstatten. Nach beendeter Einwirkung wird die erkaltete Flüssigkeit von ausfallender Benzoesäure und wenig Ungelöstem filtriert und das Filtrat eingedampft. Der feste Rückstand wird in wenig Wasser in der Wärme gelöst. Die wässrige Lösung wird filtriert, mit Ather erschöpft und eingedampft. Es hinterbleiben 7,1 g α -Naphth-alanin-chlorhydrat. Dieses wird wiederholt aus salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisiert. α -Naphth-alanin-chlorhydrat krystallisiert in farblosen, dichten Drusen von

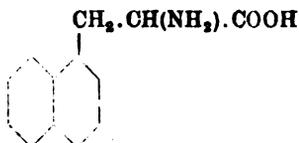
Nadeln. Zur Analyse wurde das α -Naphth-alanin-chlorhydrat im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1986 g Substanz: N 9,09 ccm (17°, 758 mm).

$C_{13}H_{14}O_2N$, HCl. Ber.: N 5,57%.

Gef.: N 5,27%.

α -Naphth-alanin.



3 g α -Naphth-alanin-chlorhydrat werden in 80 ccm Wasser in der Wärme gelöst. Die Lösung wird mit Tierkohle entfärbt und mit 30 ccm kaltgesättigter Natriumacetatlösung versetzt. Beim Erkalten und Stehen scheidet sich die freie Aminosäure krystallinisch ab. Ihre Menge beträgt 1,95 g. Nach wiederholtem Lösen in Säure und Abscheiden mit Natriumacetat wird die Substanz zur Analyse bei 100° getrocknet.

0,1277 g Substanz: CO_2 0,3331 g, H_2O 0,0745 g.

0,2060 g Substanz: N 10,60 ccm (18°, 772,1 mm).

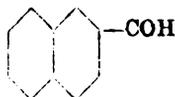
$C_{13}H_{13}NO_2$. Ber.: C 72,52%, H 6,09%, N 6,51%.

Gef.: C 72,20%, H 6,50%, N 6,04%.

Die Aminosäure krystallisiert bei allmählicher Ausscheidung in farblosen dünnen Blättchen, bei raschem Ausfällen in Kugeln, die radiäre Streifung erkennen lassen. Sie schmilzt bei 240° unter Zersetzung.

2. Synthese des β -Naphth-alanins.

β -Naphth-aldehyd.

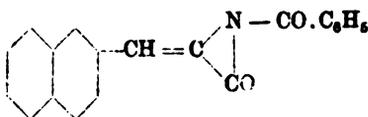


Die Darstellung des β -Naphth-aldehyds wurde im wesentlichen nach der Vorschrift von K. E. Schulze¹⁾ ausgeführt. Die Bromierung lieferte bei 230 bis 240° die besten Ausbeuten. Brom- β -methylnaphthalin wurde durch Destillation im Vakuum gereinigt und mit der gleichen Menge Bleinitrat in der 6fachen

¹⁾ K. E. Schulze, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 17, 1527, 1884.

Menge Wasser unter Einleiten von Kohlensäure durch 36stündiges Erhitzen zum β -Naphth-aldehyd oxydiert. Dieser wurde über die Bisulfitverbindung gereinigt.

Lactimid der β -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure.



17 g β -Naphth-aldehyd, 15,5 g Hippursäure, 23 g frisch destilliertes Essigsäureanhydrid und 10 g wasserfreies, essigsäures Natrium werden zusammen vermischt. Das Gemisch ballt sich beim Umschütteln zu einem festen, bräunlichen Kuchen zusammen. Die Reaktionsmasse wird im Wasserbad 4 Stunden erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird die Reaktionsmasse mit wenig Alkohol versetzt, umgeschüttelt und stehen gelassen. Dabei wird sie nach kurzer Zeit fest und krystallinisch. (Bei Zusatz von Wasser wird die Reaktionsmasse auch bei langem Stehen im Eisschrank nicht fest.) Die ausgeschiedenen Krystalle werden abgesaugt, zuerst mit Wasser, darauf mit Methylalkohol und dann mit wenig Äther ausgewaschen. Es werden 21,5 g Lactimid erhalten.

Zur Reinigung wird das Produkt in Methylalkohol in der Wärme gelöst und heiß filtriert. Aus dem Filtrat scheidet sich das Lactimid in hellgelben Nadeln ab, die schon den richtigen Schmelzpunkt 147° zeigen.

Zur Analyse wird die Substanz mehrmals aus Methylalkohol umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1265 g Substanz: CO_2 0,3725 g, H_2O 0,0605 g.

0,2023 g Substanz: N 8,05 ccm ($21,2^{\circ}$, 752,9 mm).

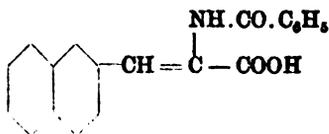
$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}$. Ber.: C 80,24%, H 4,38%, N 4,68%.

Gef.: C 80,31%, H 5,35%, N 4,50%.

Die Substanz krystallisiert in Drusen von hellgelben, feinen Nadeln, die bei 147 bis 148° (unkorr.) schmelzen. Sie ist unlöslich in Wasser und Petroläther. In Methylalkohol, Äthylalkohol und Aceton ist sie in der Kälte schwer löslich, in der Wärme löslich und scheidet sich aus diesen Lösungsmitteln

nach dem Erkalten krystallinisch ab. In Essigäther, Benzol und Ather ist sie auch in der Kälte leicht löslich. Chloroform löst sie spielend.

β -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure.



25 g Lactimid werden wiederholt mit 5%iger Kalilauge gekocht, bis alles gelöst ist. Die Flüssigkeit wird filtriert und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Dabei fällt die Säure krystallinisch aus. Nach dem Erkalten werden die Krystalle abgesaugt und getrocknet. Die Ausbeute ist annähernd die theoretische.

Zur Reinigung wird 1 g Substanz in 20 ccm Methylalkohol in der Hitze gelöst. Die Lösung wird filtriert und in der Wärme mit 20 ccm Wasser versetzt. Beim Erkalten krystallisiert die Säure langsam in leicht gelblichen, dicken Nadeln aus. Zur Analyse wird die Säure nochmals in derselben Weise unkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1849 g Substanz: CO_2 0,5106 g, H_2O 0,0883 g.

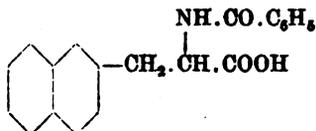
0,1705 g Substanz: N 6,23 ccm (22,3°, 758,9 mm).

$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_2$. Ber.: C 75,69%, H 4,77%, N 4,42%.

Gef.: C 75,31%, H 5,36%, N 4,16%.

Die Säure krystallisiert in leicht gelblichen, dicken Nadeln, die bei 229 bis 230° (unkorr.) zu einer rotgelblichen Flüssigkeit unter Gasentwicklung schmelzen. Sie ist unlöslich in Wasser und Petroläther. In Methylalkohol und Aceton ist sie in der Kälte schwer löslich, in der Wärme leicht löslich. In kaltem Äthylalkohol ist sie leicht löslich. In Ather, Essigäther und Benzol ist sie sowohl in der Kälte als auch in der Wärme schwer löslich. In kalter Kalilauge ist sie leicht löslich, in Natronlauge dagegen ist sie in der Kälte schwer löslich, in der Wärme löslich. Beim Erkalten der in heißer Natronlauge gelösten Substanz scheidet sich das Natriumsalz der Säure aus.

**β -Naphthyl-benzoyl- α -aminopropionsäure
(Benzoyl- β -naphth-alanin).**



10 g β -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure werden in 150 ccm 5% iger Kalilauge in der Kälte gelöst. Die Lösung wird mit 100 ccm Wasser verdünnt und im Verlauf von 2 Stunden mit 150 g 2% igem Natriumamalgam reduziert. Darauf wird die Flüssigkeit mit 100 ccm 28% iger Kalilauge versetzt, etwa eine halbe Stunde zum Sieden erhitzt und in der Wärme mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert. Dabei fällt die gesättigte Säure als ölige Masse aus, die rasch krystallinisch erstarrt. Die Ausbeute ist annähernd die theoretische.

Zur Reinigung wird die Substanz aus der 7fachen Menge 50% igem Methylalkohol in der Wärme umgelöst. Nach dem Erkalten der Lösung scheidet sie sich in prächtigen, glitzernden Blättchen ab, die bereits den richtigen Schmelzpunkt besitzen.

Zur Analyse wird die Substanz nochmals in derselben Weise umkrystallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1253 g Substanz: CO_2 0,3466 g, H_2O 0,0687 g.

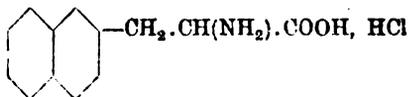
0,2024 g Substanz: N 7,23 ccm (14,1°, 741,1 mm).

$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}$. Ber.: C 75,21%, H 5,37%, N 4,39%;

Gef.: C 75,44%, H 6,13%, N 4,10%.

Die Säure krystallisiert in glitzernden Blättchen vom Schmelzpunkt 164° (unkorr.). Sie ist unlöslich in Wasser und Petroläther. In Benzol und Toluol ist sie in der Kälte und in der Wärme schwer löslich. In Äthylalkohol, Methylalkohol, Äther, Chloroform, Aceton und Essigäther ist sie auch in der Kälte leicht löslich.

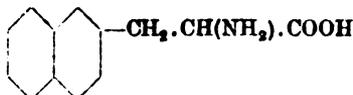
β -Naphth-alanin-chlorhydrat.



12 g β -Naphthyl-benzoyl- α -aminopropionsäure werden mit 1,6 l 10% iger Salzsäure 36 Stunden am Rückflußkühler er-

hitzt. Nach beendeter Einwirkung wird die Flüssigkeit erkalten gelassen, von ausfallender Benzoesäure und von einer ungelöst gebliebenen öligen Masse filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird in heißem Wasser aufgenommen, die Lösung filtriert und mit Ather ausgeschüttelt. Beim Abdampfen der wässrigen Lösung bleiben 6,8 g Rückstand. Dieser besteht aus einem Gemenge von Chlorhydrat und freier Aminosäure, da β -Naphth-alanin-chlorhydrat beim Eindampfen seiner wässrigen Lösung teilweise Salzsäure verliert.

β -Naphth-alanin.



5,3 g β -Naphth-alanin-chlorhydrat werden in 140 ccm Wasser unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure in der Wärme gelöst. Die filtrierte Lösung wird mit Tierkohle entfärbt, darauf mit Kieselgur geklärt. Das Filtrat wird mit verdünnter Natronlauge schwach alkalisch gemacht und von einer dabei auftretenden schmutzigen Ausfällung durch Filtration befreit. Beim Ansäuern des Filtrats mit sehr verdünnter Essigsäure fällt die freie Aminosäure krystallinisch aus. Nach 24 stündigem Stehen im Eisschrank wird sie abgesaugt, zuerst mit Wasser und dann mit Alkohol und Ather ausgewaschen. Die Ausbeute beträgt 3,3 g.

Zur Analyse wird die Säure wieder in das Chlorhydrat übergeführt, nochmals in der oben geschilderten Weise ausgefällt und im Vakuum getrocknet.

0,1226 g Substanz: CO_2 0,3237 g, H_2O 0,0741 g.

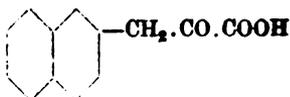
0,1987 g Substanz: N 10,60 ccm (17,4°, 757,9 mm).

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_2$. Ber.: C 72,52%, H 6,09%, N 6,51%;

Gef.: C 72,01%, H 6,76%, N 6,19%.

Die Säure krystallisiert in Kugeln, die radiär zerfallen. Sie schmilzt bei 263 bis 264° (unkorr.) unter Zersetzung.

8. Darstellung der β -Naphthyl-brenztraubensäure.



β -Naphthyl-brenztraubensäure wurde analog der Darstellung der Phenylbrenztraubensäure¹⁾ aus β -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure durch Kochen mit Kalilauge gewonnen.

5 g β -Naphthyl-benzoyl- α -aminoacrylsäure werden mit einer Lösung von 5 g Ätzkali in 25 ccm Wasser erhitzt, bis kein Ammoniak mehr entwickelt wird. Hierzu sind wenigstens 3 Stunden erforderlich. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit der gleichen Menge Wasser versetzt und mit Schwefelsäure angesäuert. Der Niederschlag wird nach kurzem Stehen abgesaugt und das Filtrat in den Eisschrank gestellt. Nach 5 Tagen werden die Krystalle abgesaugt. Ihre Menge beträgt 0,2 g.

Der Niederschlag wird mit Äther durchgeschüttelt. Die Ketonsäure und die abgespaltene Benzoesäure gehen leicht in den Äther über, während unangegriffene, ungesättigte Säure ungelöst bleibt. Der nach Abdestillation des Äthers bleibende Rückstand wird mit Petroläther mehrmals (ca. 10 mal) in der Wärme erschöpft, um die Benzoesäure vollständig zu entfernen. Der Rückstand beträgt 2,1 g, so daß die Ausbeute im ganzen 2,3 g erreicht.

Zur Reinigung wird die Substanz in 50%igem Alkohol in der Wärme gelöst und mit Wasser bis zur Trübung versetzt. Nach dem Erkalten scheidet sich die Ketonsäure in glitzernden Blättchen ab. Ein anderes Mal wurde die Substanz in Toluol in der Wärme gelöst und mit Petroläther bis zur starken Trübung versetzt. Hierbei scheidet sich die Säure ebenfalls krystallinisch aus.

Zur Analyse wird die Substanz 2mal aus 50%igem Alkohol umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1351 g Substanz: CO₂ 0,3626 g, H₂O 0,0631 g.

C₁₃H₁₀O₃. Ber.: C 72,9%, H 4,67%;

Gef.: C 73,2%, H 5,2%.

β -Naphthyl-brenztraubensäure krystallisiert in farblosen, breiten Nadeln und unregelmäßigen Blättchen, die bei 192° (unkorr.) unter Zersetzung schmelzen. Die Säure ist schwer löslich in Wasser, Petroläther und Schwefelkohlenstoff. In Toluol, Benzol und Chloroform ist sie in der Kälte schwer

¹⁾ J. Plöchl, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 16, 2818, 1883.

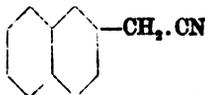
löslich, in der Wärme löslich. In Alkohol und Äther ist sie sehr leicht löslich. Aceton löst sie spielend. Eine alkoholische Lösung der Säure gibt bei Zusatz von Eisenchlorid intensive Grünfärbung, die mit der Zeit verblaßt.

4. Darstellung der β -Naphthyl-essigsäure.

β -Naphthyl-essigsäure ist bereits durch Umsetzung von rohem β -Naphthylchlorid mit Cyankalium und Verseifung des entstandenen Nitrils dargestellt worden¹⁾.

Ich ging zur Darstellung der β -Naphthyl-essigsäure vom Brom- β -methylnaphthalin aus, das durch Destillation im Vacuum gereinigt war, setzte dieses mit Cyankalium zu dem schön krystallisierenden β -Naphthyl-essigsäurenitril um, das beim Verseifen im Rohr mit konzentrierter Salzsäure die gesuchte β -Naphthyl-essigsäure lieferte.

β -Naphthyl-essigsäurenitril.



20 g reines β -Naphthylbromid werden mit 60 ccm Alkohol, 20 ccm Wasser und 10 g Cyankalium in einem Rundkolben 3 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Nach beendeter Reaktion wird die Flüssigkeit in 200 ccm Wasser eingetragen. Hierbei scheidet sich sofort eine krystallinische Substanz aus, die in Äther aufgenommen wird. Der nach Abdestillation des Äthers bleibende Rückstand erstarrt rasch zu einer krystallinischen Masse, die aus Drusen von feinen Nadeln besteht. Ausbeute 15 g.

Zur Reinigung wird die Substanz in der 30fachen Menge 50%igen Alkohols in der Wärme gelöst. Aus der filtrierten Lösung scheidet sich allmählich das Nitril krystallinisch ab.

Zur Analyse wird die Substanz nochmals aus 50%igem Alkohol umkrystallisiert und im Vacuum getrocknet.

0,1202 g Substanz: CO_2 0,3785 g, H_2O 0,0563 g.

0,1940 g Substanz: N 13,73 ccm (17°, 751,7 mm).

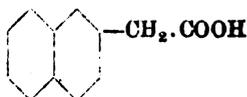
$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}$. Ber.: C 86,3%, H 5,47%, N 8,40%;

Gef.: C 85,9%, H 5,2%, N 8,1%.

¹⁾ Oskar Blank, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, 2373, 1896.

β -Naphthyl-essigsäurenitril krystallisiert in breiten Nadeln und unregelmäßigen Blättchen vom Schmelzpunkt 86° (unkorr.) Es ist in Petroläther auch in der Wärme unlöslich. In Wasser ist es in der Kälte unlöslich, in der Wärme etwas löslich und scheidet sich beim Erkalten der wässrigen Lösung wieder ab. In Alkohol, Ather, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Essigäther ist es sehr leicht löslich.

β -Naphthyl-essigsäure.



3 g β -Naphthyl-essigsäurenitril werden im Rohr mit 9 ccm konzentrierter Salzsäure 7 Stunden auf 110° erhitzt. Im Rohr sind reichlich Krystalle vorhanden. Krystalle und Flüssigkeit werden in verdünntem Ammoniak in der Wärme gelöst, die Lösung nach dem Erkalten filtriert und mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Die Ausbeute an β -Naphthyl-essigsäure beträgt 2,7 g. Die aus heißem Wasser umkrystallisierte Substanz schmilzt bei 140° (unkorr.) und hatte im übrigen die von Blank angegebenen Eigenschaften.

Fütterungsversuche.

Die Fütterungsversuche wurden an ein und demselben Hunde angestellt.

I. α -Naphth-alanin.

Einem Hunde von 8,5 kg, der täglich mit 1 Pfund gekochtem Pferdefleisch ernährt wurde, wurden täglich 1,5 g α -Naphth-alanin-chlorhydrat, in Fleischstückchen eingewickelt, verfüttert. Der Hund bekam im ganzen 9 g α -Naphth-alanin-chlorhydrat. Er vertrug die Substanz gut.

Der Harn der Verfütterungstage und des ersten Nachtages (7tägiger Harn) wurde vereinigt und zum dünnen Sirup eingedampft. Der Sirup wurde mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft, der nach Abdampfen des Alkohols verbleibende Sirup in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 4 mal 12 Stunden mit Ather extrahiert. Dabei schieden sich in Ather

schwer lösliche, farblose Krystalle am Boden und an den Wänden des Extraktionskolbens ab. Die Krystalle (A) wurden von der ätherischen Lösung (B) getrennt und beide gesondert verarbeitet.

A. Die Menge der Krystalle betrug 4,3 g. Sie wurden in der 30fachen Menge Wasser in der Kälte gelöst, ein Teil bleibt ungelöst. Der unlösliche Teil betrug 0,65 g (Krystalle a). Die wässrige Lösung wurde nach Entfärben mit Tierkohle zur Krystallisation eingedampft und lieferte eine Krystallisation, die ausschließlich aus Harnstoff bestand.

B. Die von den Krystallen abfiltrierte ätherische Lösung wurde durch Destillation vom Äther befreit. Der hinterbleibende Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 3mal mit Chloroform ausgeschüttelt (I. Chloroformauszug, II. die von Chloroform getrennte wässrige Lösung).

I. Chloroformauszug. Das Chloroform wurde abdestilliert und der Rückstand in verdünnter Natronlauge gelöst. Die trübe, alkalische Lösung wurde nochmals mit Chloroform ausgeschüttelt, das die in Alkali unlöslichen Bestandteile aufnahm. Die vom Chloroform getrennte klare, wässrige Flüssigkeit wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Hierbei schied sich eine geringe Menge einer öligen Masse, die von spärlichen Krystallen durchsetzt war, aus, die nicht weiter verarbeitet wurde.

II. Die vom Chloroform getrennte wässrige Lösung. Die wässrige Lösung wurde nach Zusatz von 10 ccm 25%iger Phosphorsäure 5mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der nach Abdestillieren des Essigäthers verbleibende Rückstand wurde in wenig heißem Wasser gelöst und die Lösung zur Krystallisation eingedampft. Die Menge der ausgeschiedenen Krystalle betrug 0,9 g. Sie bestanden aus prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt 186°. Beim Eindampfen des Filtrates wurde eine zweite Krystallisation derselben Krystalle erhalten (0,11 g). Sie wurde mit der ersten Krystallisation vereinigt. Diese 1,01 g Substanz wurde in heißem Wasser gelöst und lieferten nach Entfärben mit Tierkohle beim Eindampfen 0,73 g reine Substanz vom Schmelzpunkt 189° (unkorr.). Krystallform, Löslichkeitsverhältnisse, Schmelzpunkt und Mischprobe ergaben ihre Identität mit Hippursäure.

Die nach vollständiger Extraktion mit Äther zurückbleibende wässrige Flüssigkeit enthielt erhebliche Mengen einer in Wasser und Äther unlöslichen Substanz. Dieser in der Flüssigkeit suspendierte Niederschlag wurde abgesaugt. Seine Menge betrug 4,5 g. Er wurde in zirka der 100fachen Menge Wasser in der Wärme gelöst, dabei blieb ein Teil ungelöst (1,8 g). Die in Wasser unlösliche Substanz gab deutliche Kynurensäurereaktion und bestand nach wiederholter Reinigung wesentlich aus Kynurensäure. Die von der Kynurensäure getrennte wässrige Lösung wurde mit Tierkohle und Kieselerde entfärbt. Nach dem Erkalten des Filtrates schieden sich Krystalle in Kugeln, die radiär zerfallen, ab. Ihre Menge betrug 0,9 g. Beim Eindampfen der Mutterlauge wurden weitere 0,46 g derselben Krystalle erhalten (Krystalle b).

Krystalle b erwiesen sich als identisch mit Krystallen a (S. 79). Krystalle a und b wurden daher vereinigt (2,01 g) und unter Zusatz von Tierkohle wieder aus heißem Wasser umkrystallisiert. Die Substanz krystallisiert in Kugeln mit feinen radiären Streifen oder in feinen Nadeln vom Schmelzpunkt 204 bis 205°. Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz ergab folgende Zahlen:

0,1283 g Substanz: CO₂ 0,3024 g, H₂O 0,0637 g.

0,1916 g Substanz: N 17 ccm (18°, 759 mm).

Gef.: C 64,28%, H 5,51%, N 10,22%.

Die Analyse der nochmals aus heißem Wasser umkrystallisierten Substanz lieferte die gleichen Resultate.

0,1321 g Substanz: CO₂ 0,3092 g, H₂O 0,0678 g.

Gef.: C 63,9%, H 5,7%.

II. β -Naphth-alanin.

Einem Hunde von 8,75 kg wurden an 4 aufeinander folgenden Tagen 3 mal je 2 g und 1 mal 3 g β -Naphth-alanin-chlorhydrat, in Fleischstücken eingehüllt, verfüttert. Im ganzen wurden 9 g β -Naphth-alanin-chlorhydrat verfüttert. Der Hund wurde täglich mit 1 Pfund gekochtem Pferdefleisch ernährt.

Die Harnen der Versuchstage und des ersten Nachtages (5-tägiger Harn) wurden vereinigt und zum Sirup eingedampft. Der Sirup wurde mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft. Der

nach Abdampfen des Alkohols verbleibende sirupöse Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat 4mal 12 Stunden mit Äther extrahiert. Hierbei schieden sich die in Äther schwer löslichen Anteile teils als weiße Krystalle, teils als brauner Sirup am Boden und an den Wänden des Extraktionsapparates ab. Die in Äther schwer löslichen Krystalle (A) wurden vorsichtig von der ätherischen Lösung getrennt. Diese wurde zusammen mit der sirupösen Ausscheidung verarbeitet (B).

A. Die in Äther schwer löslichen Krystalle wurden in 150 ccm heißem Wasser gelöst. Die filtrierte Lösung schied beim Erkalten feine Nadeln und Kugeln mit feinen radiären Streifen ab. Der Schmelzpunkt der Krystalle lag bei 190° (unkorr.), ihre Menge betrug 0,27 (Krystalle I). Die Mutterlauge dieser Krystallisation wurde eingeengt, mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und 5mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der nach Abdestillieren des Essigäthers zurückbleibende Sirup wurde in wenig heißem Wasser gelöst, die Lösung filtriert und zur Krystallisation eingeengt. Die ausgeschiedenen Krystalle bestanden aus prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt 187,5° (unkorr.). Ihre Menge betrug 0,25 g (Krystalle H'). Sie erwiesen sich als Hippursäure und konnten mit dieser durch die Mischprobe identifiziert werden.

B. Die von den in Äther schwer löslichen Krystallen getrennte ätherische Lösung wurde mit der sirupösen Ausscheidung vereinigt und durch Destillation vom Äther befreit. Der verbleibende Rückstand wurde mit 50 ccm Wasser versetzt und 3mal mit Chloroform ausschüttelt. Chloroformauszug (I) und die von Chloroform getrennte wässrige Lösung (II) wurden gesondert verarbeitet.

I. Chloroformauszug. Beim Stehen der Chloroformlösung schieden sich Krystalle ab, deren Menge 0,63 g betrug. Sie wurden in 50 ccm heißem Wasser gelöst. Beim Erkalten der Lösung wurden 0,13 g nadelförmiger Krystalle erhalten (Krystalle I'). Ihr Schmelzpunkt lag bei 194°. Das Filtrat wurde eingeengt, mit Phosphorsäure angesäuert und 5mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Nach Abdestillieren des Essigäthers hinterblieb eine sirupöse Masse, die rasch zu prismatischen

Nadeln vom Schmelzpunkt 188° (unkorr.) erstarrten. Ihre Menge betrug 0,45 g (Krystalle H''). Sie erwiesen sich als Hippursäure.

Die von den Krystallen befreite Chloroformlösung wurde durch Destillation vom Chloroform befreit. Der verbleibende Rückstand wurde in verdünnter Natronlauge gelöst und die trübe alkalische Lösung nochmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform nahm dabei neutrale Verunreinigungen auf. Die von Chloroform getrennte wässrige Flüssigkeit wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Hierbei schieden sich glitzernde, blättchenförmige Krystalle (1,3 g) ab. Die unter Zusatz von Tierkohle aus heißem Wasser wiederholt umkrystallisierte Substanz bildete farblose, seidenglänzende, unregelmäßige Blättchen vom Schmelzpunkt 140° . Sie wurde zur Analyse bei 100° getrocknet:

0,1412 g Substanz: CO_2 0,4017 g, H_2O 0,0738 g.

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_2$. Ber.: C 77,4%, H 5,38%.

Gef.: C 77,58%, H 5,77%.

Aus der Analyse berechnet sich für die Substanz die Zusammensetzung einer Naphthyl-essigsäure. Der Schmelzpunkt des Körpers, seine Krystallform und seine Löslichkeitsverhältnisse ließen ihn als β -Naphthyl-essigsäure erkennen. Ein direkter Vergleich mit synthetisch dargestellter β -Naphthyl-essigsäure ergab die Identität der beiden Substanzen. Dementsprechend zeigte auch die Mischprobe der aus dem Harn gewonnenen Substanz mit synthetisch dargestellter β -Naphthyl-essigsäure keine Depression des Schmelzpunktes.

II. Die von Chloroform getrennte wässrige Lösung wurde 5mal mit Essigäther ausgeschüttelt, der nach Abdestillation des Essigäthers verbleibende Rückstand wurde in wenig heißem Wasser aufgenommen und die Lösung zur Krystallisation eingedunstet. Es wurden 0,69 g Krystalle (Krystalle H''') erhalten, die aus prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt $136,5^{\circ}$ bestanden. Sie erwiesen sich wieder als Hippursäure.

Krystalle H', H'' und H''' wurden vereinigt (1,39 g) und unter Zusatz von Tierkohle aus heißem Wasser umkrystallisiert. Es schieden sich 1,12 g Krystalle aus, die aus einheitlichen

prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt 188° bestanden. Schmelzpunkt, Mischprobe, Krystallform und Löslichkeitsverhältnisse ergaben ihre Identität mit Hippursäure. Auch die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz gab die für Hippursäure verlangten Werte.

0,1376 g Substanz: CO_2 0,3043 g, H_2O 0,0661 g.

0,1951 g Substanz: N 12,59 ccm ($19,8^{\circ}$, 764 mm).

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_3$. Ber.: C 60,31%, H 5,06%, N 7,82%.

Gef.: C 60,50%, H 5,34%, N 7,47%.

Krystalle I und I' wurden vereinigt (0,4 g) und aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Die Substanz krystallisiert in farblosen, feinen Nadeln und Kugeln mit radiären Streifen, die bei 190° (unkorr.) unter Zersetzung schmelzen. Sie wurde bei 100° getrocknet und analysiert.

0,1122 g Substanz: CO_2 0,2725 g, H_2O 0,0601 g.

0,1270 g Substanz: N 11,13 ccm ($18,9^{\circ}$, 760,1 mm).

Gef.: C 66,24%, H 5,99%, N 10,11%.

Dieselbe Substanz wurde aus einem zweiten Fütterungsversuch wiedergewonnen und analysiert:

0,0542 g Substanz: CO_2 0,1311 g, H_2O 0,0319 g.

0,0715 g Substanz: N 6,22 ccm ($20,1^{\circ}$, 760 mm).

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3$. Ber.: C 66,15%, H 5,93%, N 10,30%.

Gef.: C 66,24%, H 5,99%, N 10,11%.

C 65,95%, H 6,53%, N 9,9%.

In diesem Versuch wurden also 1,39 g Hippursäure, 1,3 g β -Naphthyl-essigsäure und 0,4 g einer unbekanntenen Säure vom Zersetzungspunkt 190° (unkorr.) isoliert.

III. β -Naphthyl-brenztraubensäure.

Einem Hund von 9 kg wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen zweimal je 2 g und einmal 1,8 g β -Naphthyl-brenztraubensäure, die in das Natriumsalz übergeführt war, in Fleisch eingewickelt, verfüttert. Im ganzen wurden 5,8 g β -Naphthyl-brenztraubensäure verfüttert. Der Hund erhielt täglich 1 Pfund gekochtes Pferdefleisch.

Die Harnе der drei Versuchstage und des ersten Nachtages wurden vereinigt und auf dem Wasserbade zum Sirup

eingedampft (viertägiger Harn). Der so erhaltene Sirup wurde mit heißem 93%igem Alkohol erschöpft. Der nach Abdampfen des Alkohols, verbleibende sirupöse Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, die Lösung mit 100 cem 25%iger Phosphorsäure angesäuert und im Extraktionsapparat viermal 12 Stunden mit Äther extrahiert.

Die in Äther schwer löslichen Anteile schieden sich als weiße Krystalle am Boden und an den Wänden des Extraktionskolbens ab. Die in Äther schwer löslichen Anteile (A) und die ätherische Lösung (B) wurden getrennt verarbeitet.

A. Die in Äther schwer löslichen Krystalle wurden abfiltriert. Ihre Menge betrug 2,1 g. Sie wurden in 160 cem heißem Wasser gelöst und von geringen Mengen in Wasser unlöslicher Kynurensäure durch Filtration befreit. Das Filtrat wurde mit Tierkohle und Kieselgur entfärbt. Aus dem Filtrat schieden sich Krystalle von prismatischen Nadeln ab (Krystalle H'). Ihre Menge betrug 1,11 g, ihr Schmelzpunkt lag bei 189° (unkorr.). Beim Einengen der Mutterlauge wurde eine zweite Ausscheidung derselben Krystalle, 0,43 g (Krystalle H'), erhalten. Krystalle H und H' erwiesen sich als Hippursäure.

B. Die ätherische Lösung wurde durch Destillation vom Äther befreit. Der verbleibende Rückstand wurde in 150 cem Wasser gelöst und die Lösung dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Chloroformauszug (I) und die vom Chloroform getrennte wässrige Lösung (II) wurden gesondert verarbeitet.

I. Chloroformauszug. Das Chloroform wurde abdestilliert, der Rückstand in verdünnter Natronlauge gelöst und die alkalische Lösung einigemal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vom Chloroform getrennte, wässrige Flüssigkeit wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Hierbei schieden sich glitzernde, blättchenförmige Krystalle ab. Ihre Menge betrug 0,35 g. Sie erwiesen sich als β -Naphthyl-essigsäure. Die unter Zusatz von Tierkohle aus heißem Wasser umkrystallisierte Substanz stellte farblose, seidenglänzende Blättchen vom Schmelzpunkt 140° (unkorr.) dar. Ein Gemisch gleicher Teile aus dem Harn gewonnener Substanz mit synthetisch dargestellter β -Naphthyl-essigsäure zeigte den gleichen Schmelzpunkt wie die synthetische β -Naphthyl-essigsäure. Auch die Analyse der bei 100° ge-

trockneten Substanz gab die für β -Naphthyl-essigsäure verlangten Zahlen.

0,1454 g Substanz: CO_2 0,4109 g, H_2O 0,0767 g.

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_2$. Ber.: C 77,4%, H 5,38%.

Gef.: C 77,1%, H 5,2%.

II. Die vom Chloroform getrennte, wässrige Lösung wurde mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und fünfmal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der nach Abdestillieren des Essigäthers verbleibende Rückstand wurde in wenig heißem Wasser gelöst und die filtrierte Lösung zur Krystallisation eingedampft. Die Menge der Krystalle betrug 0,21 g (Krystalle H''). Sie bestanden aus prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt 189° (unkorr.) und erwiesen sich als Hippursäure.

Krystalle H, H' und H'' wurden vereinigt (1,75 g) und unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Es wurden 1,28 g analysenreine Substanz vom Schmelzpunkt 188° (unkorr.) und den Eigenschaften der Hippursäure erhalten, mit der sie auch durch die Mischprobe identifiziert werden konnten.

Die Analyse der bei 100° getrockneten Substanz gab die für Hippursäure verlangten Werte.

0,1389 g Substanz: CO_2 0,3087 g, H_2O 0,0689 g.

0,2034 g Substanz: N 13,8 ccm ($19,8^\circ$, 748,1 mm).

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_3$. Ber.: C 60,31%, H 5,06%, N 7,82%.

Gef.: C 60,61%, H 5,55%, N 7,67%.

Es wurden also in diesem Fütterungsversuche im ganzen 1,75 g Hippursäure gefunden, was einer täglichen Ausscheidung von 0,44 g Hippursäure entspricht. Außerdem konnten 0,35 g β -Naphthyl-essigsäure isoliert werden.

IV. Bestimmung der täglichen Hippursäureausscheidung des Versuchshundes.

Das Versuchstier (8,5 kg) wurde täglich mit 1 Pfund gekochtem Pferdefleisch ernährt. Der Harn von 5 Tagen wurde vereinigt und zum Sirup eingedampft. Der Sirup wurde mit heißem, 93%igem Alkohol erschöpft und der nach Abdampfen des Alkohols bleibende Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wurde nach dem Ansäuern mit 100 ccm 25%iger Phosphorsäure im Extraktionsapparate mit Äther

viermal 12 Stunden extrahiert. Der ätherische Auszug lieferte nach Abdestillieren des Äthers einen sirupösen Rückstand, der in 100 ccm heißem Wasser gelöst wurde. Die Lösung wurde mit 10 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und fünfmal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der nach Abdestillieren des Essigäthers verbleibende Rückstand wurde in wenig heißem Wasser aufgenommen und die Lösung zur Krystallisation eingedampft. Es wurden auf diese Weise 0,86 g rohe und hieraus 0,7 g reine Hippursäure erhalten. Die tägliche Hippursäureausscheidung betrug demnach 0,173 g.

V. Durchströmungsversuche mit α -Naphth-alanin und β -Naphthyl-brenztraubensäure.

Es wurden Durchströmungsversuche an Hundelebern mit α -Naphth-alanin-chlorhydrat und β -Naphthyl-brenztraubensäure die mit Natronlauge neutralisiert war, ausgeführt, um festzustellen, ob eine dieser Substanzen in Acetessigsäure übergang. Dies war nicht der Fall.

Die Versuchstiere hatten vor dem Versuch 24 Stunden gehungert.

Tabelle I.

Durchblutung der Hundeleber mit α -Naphth-alanin.

Nummer des Versuchs	Durchblutungsfüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durchblutungszeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
1	1,5 g Naphth-alanin-chlorhydrat, 100 ccm phys. NaCl-Lösung, 1400 ccm Rinderblut.	259,7	94	18,3
2	1,5 g Naphth-alanin-chlorhydrat, 100 ccm phys. NaCl-Lösung, 1400 ccm Rinderblut.	262,0	82	26,5

Durchströmungen mit β -Naphth-alanin konnten wegen der Schwerlöslichkeit des β -Naphth-alanins in Wasser und der leichten hydrolytischen Dissozierbarkeit seines Chlorhydrates nicht ausgeführt werden. Ich habe deshalb β -Naphthyl-brenztraubensäure für diese Versuche benutzt, da auch der Fütterungsversuch ergab, daß diese Substanz im Tierkörper leichter als die ent-

sprechende Aminosäure aufgespalten wird. Über die hierbei erhaltenen Resultate gibt Tabelle II Auskunft.

Tabelle II.
Durchblutung der Hundeleber mit β -Naphthyl-
brenztraubensäure.

Nummer des Versuchs	Durchblutungsflüssigkeit	Gewicht der Leber g	Durch- blutungs- zeit Min.	Menge des pro Liter Blut neugebildeten Acetons mg
3	1,5 g β -Naphthyl-brenz- traubensäure mit $\frac{2}{10}$ -NaOH neutralisiert, die Lösung auf 100 cem aufgefüllt, 0,8 g Kochsalz, 1400 cem Rinderblut.	296	77	22,66
4	1,5 g β -Naphthyl-brenz- traubensäure mit Ammoniak neutralisiert, die Lösung auf 100 cem aufgefüllt, 0,8 g Kochsalz, 1400 cem Rinderblut.	209	87	23,4

Über die Bildung des Glykokolls im Tierkörper.

I. Mitteilung.

Synthese der Hippursäure in der Kaninchenleber.

Von

E. Friedmann und Hermann Tachau.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Klinik der Kgl. Charité zu Berlin.)

(Eingegangen am 4. Juli 1911.)

Wiechowski¹⁾ und Magnus-Levy²⁾ haben unabhängig voneinander und nahezu gleichzeitig den Nachweis geführt, daß im Tierkörper mehr Glykokoll entstehen kann, als in dem zersetzten Eiweiß präformiert enthalten ist. Dieses Resultat wurde von beiden Autoren in Fütterungsversuchen von Benzoesäure an Kaninchen und Bestimmung der gebildeten Hippursäure gewonnen. Da nach einer Berechnung von Magnus-Levy auf 100% Eiweißstickstoff 4,7% Glykokollstickstoff treffen können, so wäre eine Neubildung von Glykokoll erwiesen, wenn der in der Hippursäure ausgeschiedene Glykokollstickstoff diesen Wert erheblich übersteigt. Tatsächlich fand Wiechowski bis zu 21% und Magnus-Levy bis zu 28% des in 24 Stunden ausgeschiedenen Harnstickstoffs in dem Glykokoll der gebildeten Hippursäure.

In ähnlicher Weise hat Magnus-Levy eine Berechnung aufgestellt, aus der hervorgeht, daß auch für den normalen und nicht unter dem Einfluß von Giften ablaufenden Stoffwechsel eine Neubildung von Glykokoll anzunehmen ist. Hierfür bietet

¹⁾ Wilhelm Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 204, 1906.

²⁾ Adolf Magnus-Levy, Münchn. med. Wochenschr. 1905, Nr. 45, S. 2168 und diese Zeitschr. 6, 523, 1907.

das wachsende Tier ein besonders deutliches Beispiel. Der Eiweißansatz saugender Tiere erfolgt aus äußerst glykokollarmen Eiweißkörpern, da 100 g Milcheiweiß etwa 0,1 bis 0,3 g Glykokoll enthalten. Direkte Analysen¹⁾ der gesamten Eiweißmasse verschiedener Tiere haben nun einen Gehalt von mehr als 3% Glykokoll ergeben. Da aus 100 g Milcheiweiß beim Saugkalb 78 g Körpereweiß in gewissen Perioden entstehen können, so wären unter der Voraussetzung, daß der wachsende Organismus relativ die gleichen Glykokollmengen wie der ausgewachsene Organismus enthält, aus 100 g Milcheiweiß mit 0,1 bis 0,3 g Glykokoll 78 g Körpereweiß mit 2,4 g Glykokoll entstanden.

Mit der Feststellung, daß eine Neubildung von Glykokoll im normalen Stoffwechsel sowie unter dem Einfluß von solchen Substanzen, die mit Glykokoll paarungsfähig sind, stattfindet, erhebt sich die Frage nach der Quelle des Glykokolls. Diese Frage scheint im Studium der Hippursäurebildung experimentell zugänglich zu sein. Zu ihrer Lösung sind verschiedene Wege in Betracht gezogen worden.

Von Magnus-Levy²⁾ ist die Möglichkeit diskutiert worden, daß die durch hydrolytische Spaltung im Tierkörper gebildeten α -Aminosäuren zuerst mit Benzoesäure zu den entsprechenden Benzoylderivaten gepaart werden, die dann weiter im intermediären Stoffwechsel zu Hippursäure abgebaut würden. Im Sinne dieser Vorstellung prüfte er bei subcutaner Injektion an Kaninchen das Verhalten der Benzoylderivate einer Reihe von α -Aminosäuren im Tierkörper, und zwar der Benzoylverbindungen des d,l- und des l- α -Alanins, der d,l- α -Aminobuttersäure, der d,l- α -Aminoisovaleriansäure, des d,l- und des l-Leucins, des d-Isoleucins, des d,l-Phenylalanins, der l-Asparaginsäure, der d-Glutaminsäure, des d-Ornithins und des d,l-Serins. Keine dieser Substanzen ging in Hippursäure über, vielmehr wurden sie unverändert im Harn ausgeschieden. Nur das Benzoylderivat einer unbekanntenen, aus der Leucinfraction einer tryptischen Eiweißverdauung stammenden Aminosäure wurde zu Hippursäure abgebaut. Da jedoch sowohl die Zusammensetzung wie

¹⁾ Emil Abderhalden, Alfred Gigon und Eduard Strauß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 311, 1907.

²⁾ Adolf Magnus-Levy, diese Zeitschr. 6, 541, 1907.

die Konstitution dieser Substanz nicht ermittelt worden ist, so ist dieser Befund vorläufig schwierig zu beurteilen.

Ebensowenig wie das Studium der acylierten Aminosäuren¹⁾ eine Aufklärung über die Bildung des Glykokolls im Tierkörper erbrachte, hat die Verfolgung des Verhaltens der alkylierten α -Aminosäuren im Stoffwechsel²⁾ die Frage nach der Quelle des Glykokolls zu fördern vermocht, da keine der geprüften methylierten α -Aminosäuren in das nach den Untersuchungen von Salkowski³⁾ schwer verbrennliche Sarkosin überging.

Eine andere Möglichkeit der Entstehung des Glykokolls im Tierkörper ist von R. Cohn⁴⁾ erwogen worden. R. Cohn hat auf die Möglichkeit einer Synthese des Glykokolls aus Essigsäure und Ammoniak hingewiesen und versucht, diese Vorstellung experimentell zu begründen. Wenn auch diese Versuche, wie Magnus-Levy⁵⁾ mit Recht hervorhebt, nicht überzeugend sind, so möchten wir doch im Gegensatz zu Magnus-Levy die Möglichkeit der Entstehung von Glykokoll aus Essigsäure und Ammoniak nicht als unwahrscheinlich ablehnen. Essigsäure könnte im Tierkörper zu Glyoxylsäure oxydiert werden, die im chemischen Versuch bei Gegenwart von Ammoniak in Formylglycin übergeht⁶⁾. Auch der Tierkörper vermag, wie eine Reihe von Beobachtungen der jüngsten Zeit ergeben haben, α -Ketonsäuren in α -Aminosäuren umzuwandeln⁷⁾.

¹⁾ Adolf Magnus-Levy, l. c. und diese Zeitschr. 6, 555, 1907.

²⁾ E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 158 u. 177, 1908.

³⁾ E. Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 7, 116, 1874; Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 107, 1880.

⁴⁾ Rudolf Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 310, 1893; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 53, 435, 1905.

⁵⁾ l. c. S. 526; siehe auch Rudolf Cohn, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. l. c., S. 446.

⁶⁾ E. Erlenmeyer jun. und J. Kunlin, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 2438, 1902.

⁷⁾ F. Knoop, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 489, 1910; Gustav Erubden und Ernst Schmitz, diese Zeitschr. 29, 423, 1910; F. Knoop und Ernst Kerteß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 252, 1911. Wie aus dem Datum der unten mitgeteilten Versuche hervorgeht, ist die Fragestellung und die Durchführung unserer Versuche von diesen Arbeiten nicht beeinflusst worden. Die physiologische Bedeutung der chemischen Synthese von α -Aminosäuren aus α -Ketonsäuren und Ammoniak ist zuerst von Erlenmeyer und Kunlin, l. c., S. 2440, hervorgehoben worden.

Weiterer Aufschluß über die Muttersubstanzen des Glykokolls war zu erhoffen, wenn man an Stelle des komplizierten Stoffwechselversuchs die leichter übersichtbare Durchströmung eines überlebenden Organs setzen konnte, in dem nicht bloß die Bildung des Glykokolls, sondern auch seine Paarung mit Benzoesäure zu Hippursäure stattfindet. Bei der Beteiligung der Leber an zahlreichen Vorgängen des intermediären Stoffwechsels glaubten wir eine Bildung von Glykokoll durch Abbau anderer stickstoffhaltiger Substanzen oder durch Synthese aus stickstofffreien Substanzen und Ammoniak am ehesten bei Leberdurchblutungen erhoffen zu dürfen. Für unsere Versuche konnten Hundelebern nicht in Betracht kommen, da Bunge und Schmiedeberg¹⁾ gezeigt haben, daß beim Hunde lediglich die Niere der Ort der Synthese der Hippursäure ist, während andere Organe nicht die Fähigkeit besitzen, Benzoesäure und Glykokoll zu paaren. Dagegen schien es uns aussichtsvoll, Durchströmungen an Kaninchenlebern auszuführen, da wir in der Literatur Anhaltspunkte fanden, daß die Synthese der Hippursäure beim Kaninchen nicht nur in der Niere, sondern auch in anderen Organen erfolgt. Schon Meißner und Shephard²⁾ beobachteten, daß Kaninchen auch nach Ausschaltung der Nieren injizierte Benzoesäure in Hippursäure verwandeln können. Salomon³⁾, der den gleichen Befund erhob, folgerte aus der Tatsache, daß er in der Leber und in der Muskulatur seiner Tiere viel Hippursäure fand, daß diese Organe beim Pflanzenfresser imstande wären, Hippursäure zu bilden. Hierzu kommt weiter, daß das Kaninchen⁴⁾, im Gegensatz zum Hund⁵⁾, Benzoylderivate von

1) G. Bunge und O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 6, 233, 1877.

2) Meißner und Shephard, Untersuchungen über die Bildung der Hippursäure, Hannover 1866, S. 39.

3) W. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3, 365, 1879.

4) A. van de Velde und B. J. Stokvis, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 17, 195, 1883; O. Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 17, 449, 1883; Wilhelm Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 237 (Tabelle XX), 1906; Adolf Magnus-Levy, diese Zeitschr. 6, 544, 1907.

5) O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14, 379, 1881; O. Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 17, 445, 1883.

α -Aminosäuren nicht zu spalten vermag. Bestätigte es sich daher bei Prüfung mittels der Durchströmungsmethode, daß die Kaninchenleber die Fähigkeit hat, Benzoesäure und Glykokoll zu Hippursäure zu paaren, so schien es möglich, auf diesem Wege Aufschluß über die Bildung des Glykokolls zu erhalten. Wir haben deshalb eine Anzahl Durchströmungen der überlebenden Kaninchenleber ausgeführt.

Zunächst hatten wir eine technische Schwierigkeit zu überwinden. Während die Hundeleber mit unverdünntem Rinderblut leicht durchblutet werden kann, gelingt dies bei der Leber des Kaninchens nur recht schlecht. Wir waren daher auf die Verwendung von arteigenem Blut angewiesen, das natürlich nur in geringer Menge zur Verfügung steht. Es mußte deshalb zunächst ein Apparat geschaffen werden, der ermöglichte, mit kleinen Blutmengen Durchblutungen anzuführen. Ein derartiger Apparat ist von dem einen von uns¹⁾ konstruiert und kürzlich beschrieben worden. Er wurde ausschließlich für unsere Versuche verwendet.

1. Methodik.

A. Ausführung der Durchströmungsversuche.

Zu jedem Versuche wurden zwei Kaninchen benutzt, die seit längerer Zeit (etwa 14 Tagen) Kartoffelfutter erhalten hatten. Nach den Beobachtungen von Meißner und Shephard²⁾, Salkowski³⁾ u. a. findet bei dieser Art der Ernährung keine oder nur eine recht geringe⁴⁾ Ausscheidung von Hippursäure im Harn statt. Die beiden letzten Tage vor der Durchblutung blieben die Tiere ohne Nahrung. Wir überzeugten uns wiederholt von der Abwesenheit von Hippursäure im Harn unter diesen Bedingungen.

Beide Kaninchen wurden durch Einführen einer Kanüle in die Arteria carotis entblutet. Darauf wurde das Blut durch Schlagen mit einem Glasstabe defibriert und koliert.

¹⁾ E. Friedmann, diese Zeitschr. 27, 88, 1910.

²⁾ Meißner und Shephard, l. c.

³⁾ E. und H. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 165, 1882 1883.

⁴⁾ Adolf Magnus-Levy, l. c., S. 548.

Bei dem zweiten Tiere wurde sofort nach vollendeter Entblutung die Leber freigelegt. In die Vena cava superior und die Vena portae wurden Glaskanülen eingebunden, die übrigen Gefäße teils einzeln, teils durch Massenligaturen unterbunden. Die Operation dauerte etwa 8 bis 12 Minuten.

Die Leber wurde nun gewogen und 2 Stunden mit defibriniertem Kaninchenblute durchblutet. Dem Blute war vorher, in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, die zu untersuchende Substanz zugesetzt. Die Temperatur betrug 37,5°, der Druck 40 mm Hg.

Nach 2 Stunden wurde die Durchströmung unterbrochen, die Durchblutungsflüssigkeit möglichst vollständig gesammelt, abgemessen und auf Hippursäure verarbeitet. Die Leber wurde nochmals gewogen; bei guten, ungestörten Durchblutungen hatte das Gewicht derselben gewöhnlich nicht zu-, oft sogar abgenommen, während es in schlechten Versuchen oft erheblich gestiegen war. Anfangs wurde auch die Leber auf Hippursäure verarbeitet. Da hier aber stets nur geringe Mengen gefunden wurden, verzichteten wir später darauf.

Bei den Durchblutungen der Muskulatur wurden in die Aorta und Vena cava Kanülen eingebunden und von hier aus die unteren Extremitäten durchströmt, nachdem durch Massenligaturen möglichst alle Gefäße unterbunden waren.

B. Hippursäurebestimmung im Blut.

Das Blut wurde mit der 6fachen Menge 93%igen Alkohols versetzt und nach kurzem Stehen koliert. Der Niederschlag wurde wiederholt durch Dekantieren mit 93%igem Alkohol gewaschen, schließlich gründlich ausgepreßt und die gesamte alkoholische Lösung filtriert. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bis fast zur Trockne eingeengt, der sirupöse Rückstand mit wenigen Kubikzentimetern heißen Wassers aufgenommen und quantitativ in einen kleinen Scheidetrichter übergeführt. Nach Zusatz von 3 ccm 10%iger Natriumcarbonatlösung wurde die trübe Flüssigkeit dreimal mit Essigäther ausgeschüttelt. Es gelang auf diese Weise, eine Menge störender Substanzen zu entfernen. Da das Auschütteln mit Essigäther stets bei alkalischer Reaktion ausgeführt wurde, trat auch kein Verlust an Hippursäure ein, wovon wir uns wiederholt überzeugten. Nun

wurde mit ca. 20 ccm 25% iger Phosphorsäure angesäuert und 5 mal mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Essigäther wurde jedesmal mit einer kleinen Menge Wasser gewaschen und durch ein trockenes Filter filtriert. Nach Abdestillieren des Essigäthers blieb ein krystallinischer Rückstand, der Hippursäure und Benzoesäure schon in ziemlich reiner Form enthielt. Dieser wurde zur Trennung der Benzoesäure von der Hippursäure 5 mal mit Petroläther ausgekocht und der Petrolätherauszug filtriert. Da es wiederholt vorkam, daß, wahrscheinlich in kleinen Mengen zurückgebliebenen Essigäthers gelöst, etwas Hippursäure in das Filtrat übergang, ließen wir dieses einige Zeit stehen. Beim Erkalten fiel die Hippursäure dann sofort aus und konnte so wiedergewonnen werden. Die in Petroläther unlöslichen Krystalle wurden vom Filter und aus dem Kolben in heißem Essigäther gelöst. Nach Abdestillieren des Essigäthers wurde die zurückbleibende, noch etwas gefärbte und durch ölige Substanzen verunreinigte Hippursäure mit heißem Wasser aufgenommen und die Lösung durch Kochen mit Tierkohle entfärbt und geklärt. Nach Abfiltrieren und wiederholtem Auskochen der Kohle wurde die gesamte wässrige Lösung in einer Krystallisierschale auf wenige Kubikzentimeter eingengt. Die beim Erkalten ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt, mit wenig Wasser aufgenommen und auf Ton abgepreßt. Die Mutterlauge wurde weiter eingengt. Die eventuell noch ausfallenden Krystalle wurden in gleicher Weise wie die erste Krystallisation behandelt. Die Gesamtmenge der Krystalle wurde nun gewogen. Ein Teil derselben diente zur Ermittlung des Schmelzpunktes; ein weiterer Teil wurde auf dem Platinblech verbrannt, um anorganische Beimengungen zu erkennen. Waren solche vorhanden, so gelang es gewöhnlich, durch einmaliges Umkrystallisieren aus Wasser diese fast völlig zu entfernen. Auffallenderweise traten derartige Beimengungen besonders in den Versuchen auf, in denen wenig Hippursäure gebildet war. Die in den Tabellen angegebenen Werte für Hippursäure beziehen sich auf reine, von anorganischen Beimengungen freie Hippursäure, die durch Schmelzpunkt und Mischprobe mit synthetischer Hippursäure identifiziert war.

Die beschriebene Methode ist keine quantitative. Wir haben ihr trotzdem den Vorzug vor den neueren Methoden

(Wiechowski)¹⁾ gegeben, da wir nur auf diese Weise sicher waren, wirklich Hippursäure vor uns zu haben.

In Versuchen, in denen Hippursäure (mit $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge neutralisiert) dem Blute zugesetzt war, wurden ca. 75% derselben nach diesem Verfahren wiedergefunden. Hierüber gibt die Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.
Bestimmung der Hippursäure im Blut.

Nr. des Versuchs	Rinderblut ccm	Zusatz von Hippursäure mg	Zurückgewonnene Hippursäure mg	Verlust an Hippursäure mg	Ausbeute an Hippursäure %
1	250	—	—	—	—
2	100	43	31	12	72
3	100	62	44	18	71
4	100	67	52	15	79
5	100	114	89	25	78
6	100	126	102	24	81
7	100	159	114	45	72

2. Über den Ort der Hippursäuresynthese beim Kaninchen.

Da nach den Untersuchungen von Meißner und Shephard und von Salomon das Kaninchen auch nach Ausschaltung der Nieren Hippursäure zu bilden vermag, und Salomon ferner gezeigt hat, daß nach Ausschaltung der Nieren in der Leber und Muskulatur des Kaninchens Hippursäure zu finden ist, haben wir Durchströmungen der Kaninchenleber und der Kaninchenmuskulatur ausgeführt. Die Tabelle II gibt die Resultate, die wir bei Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesaurem Natrium ohne Zusatz von Glykokoll erhalten haben.

Nach 2stündiger Durchblutung der Leber unter Zusatz von 0,5 g benzoesaurem Natrium ließen sich, wie Tabelle II zeigt, stets nicht unerhebliche Mengen Hippursäure aus der Durchströmungsflüssigkeit gewinnen. Da das Blut hippursäurefrei war, war die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß es sich hierbei um eine Ausschwemmung von Hippursäure aus der Leber handeln könnte. Wir haben daher eine Durchblutung ohne Benzoesäurezusatz ausgeführt (Tab. III).

¹⁾ Wilhelm Wiechowski, l. c., S. 265.

Tabelle II.
Durchblutung der Kaninchenleber mit benzoesaurem Natrium.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht		Hippur- säure mg		
					vor	nach der Durch- blutung			
					g	g			
13	4.III.09	0,5 g Natr. benzoic., 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	135	80	89	29,6		
16	15.III.09			do.	120	135	71,5	80,0	30,8
25	7.IV.09			do.	105	154	111	102	75,0
28	21.IV.09			do.	120	110	60	60	74,2
31	27.IV.09			do.	120	148	85	95	61,6
40	10.V.09			do.	120	140	104	111	74,3
69	22.VI.09			do.	105	185	45	61	116,2
71	24.VI.09			do.	90	106	79,5	76,5	133,0
73	30.VI.09			do.	120	135	43,0	49,0	55,8

Tabelle III.
Leerdurchblutung der Kaninchenleber.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht		Hippur- säure mg
					vor	nach der Durch- blutung	
					g	g	
14	10.III.09	50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	108	80	94	0

Wie der Versuch der Tabelle III zeigt, tritt bei der Durchblutung der Kaninchenleber ohne Zusatz von Benzoesäure keine Hippursäure in der Durchströmungsflüssigkeit auf. Bei den Durchblutungsversuchen mit Benzoesäure (Tab. II) kann es sich also nicht um eine Ausschwemmung von Hippursäure aus der Leber handeln, vielmehr muß die in den Benzoesäureversuchen gefundene Hippursäure in der Leber gebildet sein. Die Leber des Kaninchens hat also die Fähigkeit, Benzoesäure synthetisch in Hippursäure umzuwandeln. Es besteht somit bezüglich des Ortes der Synthese eine prinzipielle Verschiedenheit gegenüber dem Verhalten des Hundes, bei dem die Hippursäurebildung nur in der Niere stattfindet.

Der Umfang der Hippursäuresynthese war in den ersten Versuchen ein geringer, bei den späteren Durchblutungen stiegen die Zahlen jedoch immer mehr, eine Tatsache, die wohl in der verbesserten Durchblutungstechnik ihre Erklärung findet. In den besten Versuchen wurden 0,116 g und 0,133 g Hippursäure gefunden.

Diese Mengen sind so groß, daß man daran denken könnte, daß beim Kaninchen die Leber das einzige Organ der Hippursäuresynthese ist. Wir sind dieser Frage nur insofern nachgegangen, als wir einige Durchblutungen der Kaninchenmuskulatur der unteren Extremitäten unter Zusatz von benzoesaurem Natrium und Glykokoll ausgeführt haben, da nach den erwähnten Untersuchungen von Salomon auch für die Muskulatur die Fähigkeit synthetischer Bildung von Hippursäure anzunehmen war. Das Resultat dieser Versuche, über die Tabelle IV Auskunft gibt, war ein negatives, es wurde nie Hippursäure gefunden.

Tabelle IV.

Durchblutungen der Kaninchenmuskulatur der unteren Extremitäten mit Benzoesäure und Glykokoll.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Minuten	Blutmenge ccm	Hippursäure mg
75	9. VII. 09	0,5 g Natr. benzoic., 0,5 g Glykokoll, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	105	155	0
76	14. VII. 09	0,5 g Natr. benzoic., 0,3 g Glykokoll, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	135	0

Wir haben ferner einige Durchströmungen der Kanincheniere ausgeführt, ohne Bildung von Hippursäure bei diesen Versuchen beobachten zu können. Wir möchten aber diesen Versuchen keinen entscheidenden Wert beimessen, da diese Durchblutungen wenig befriedigend verliefen.

3. Über die Größe der Hippursäuresynthese in der Kaninchenleber.

Die Entstehung von Hippursäure bei der Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesäure zeigt, daß eine nicht unbeträchtliche Menge Glykokoll oder in Glykokoll übergehende Substanz im Blut oder in der Leber vorhanden ist. Dieser Befund erinnert an die Beobachtung von Bunge und Schmiedeberg¹⁾, die bei der Durchblutung der Hundeniere mit Benzoesäure auch ohne Zusatz von Glykokoll Hippursäure, wenn auch nur in sehr geringer Menge, fanden.

¹⁾ H. Bunge und Schmiedeberg, l. c., S. 249, Versuch 17.
Biochemische Zeitschrift Band 30.

Wir haben nun weiter geprüft, ob durch Zusatz von Glykokoll oder von solchen Substanzen, die nach chemischen Analogien als Glykokollbildner in Betracht kommen, die Hippursäuresynthese zu steigern ist. Es wurden zu diesem Zwecke zunächst Durchblutungen mit Benzoesäure unter Zusatz von Glykokoll ausgeführt. Die hierbei erhaltenen Resultate sind in der Tabelle V niedergelegt.

Tabelle V.
Durchblutungen der Kaninchenleber mit Benzoesäure und Glykokoll.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durch- blutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht		Hippur- säure mg
					vor	nach der Durch- blutung	
15	12. III. 09	0,5 g Natr. benzoic., 0,3 g Glykokoll, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	105	112	57,5	76	130,5
18	22. III. 09	do.					
26	19. IV. 09	do.	120	200	106	114	135,3
49	24. V. 09	do.	120	160	38,5	54	120,8
72	25. VI. 09	do.	120	184	91,0	124	60,0

Wie aus der Tabelle V hervorgeht, sind die bei der Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesäure und Glykokoll erhaltenen Hippursäurewerte keineswegs höher wie die Zahlen, die bei der Durchströmung der Kaninchenleber mit Benzoesäure allein, ohne Zusatz von Glykokoll (Tab. II) gewonnen worden sind. Hierbei möchten wir hervorheben, daß wir, um einem Einwand zu begegnen, nach dem die Werte, die die in der Tabelle II überschreiten, durch eine mit der Zeit besser gewordene Versuchstechnik zu erklären seien, etwa nach je 10 Durchblutungen einen Kontrollversuch mit Benzoesäure ohne einen Zusatz eingeschaltet haben.

Nachdem wir gesehen hatten, daß durch Zusatz von Glykokoll bei der Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesäure keine Erhöhung der Größe der Hippursäuresynthese nachzuweisen war, prüften wir, ob der Zusatz von fettsauren Ammonium- oder Natriumsalzen den Umfang der Hippursäuresynthese in der Kaninchenleber zu beeinflussen vermag (Tab. VI). Dies war nicht der Fall.

Tabelle VI.

Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesäure und fettsauren Salzen.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht		Hippur- säure mg
					vor g	nach der Durch- blutung g	
23	1. IV. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g essigs. Ammonium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	146	65,0	78,0	42,3
24	6. IV. 09	do.					
30	26. IV. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g essigs. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	142	75	79	84,8
34	30. IV. 09	do.					
20	26. III. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,4 g glykols. Ammonium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	152	111	128	110,1
21	31. III. 09	do.					
27	20. IV. 09	do.	120	150	77	77	118,6
29	23. IV. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g glykols. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	176	86	81	91,1
32	28. IV. 09	do.					
48	21. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 1,0 g glyoxyls. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	130	78	70	14,0
50	26. V. 09	do.					
53	4. VI. 09	do.	90	160	53,5	79	111,1
42	12. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,7 g propions. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	132	74	74	143,3
56	8. VI. 09	do.					
59	10. VI. 09	do.	120	150	46	46	10,3
64	16. VI. 09	do.	120	145	53	53	74,7
39	7. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,6 g milchsaures Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	175	55	52	148,9
57	9. VI. 09	do.					
60	11. VI. 09	do.	120	140	68	70	61
38	6. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,7 g butters. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	140	72,5	72,5	153,2
55	7. VI. 09	do.					
43	17. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g β -oxybuttersaures Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	170	57,5	55	92,0
51	3. VI. 09	do.					
67	18. VI. 09	do.	130	182	68	60,7	69,8
46	19. V. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g valerians. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	166	124	114	90,4

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht vor nach der Durchblutung		Hippursäure mg
					g	g	
52	4. VI. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g valerians. Natrium, 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	155	63	51	6
65	16. VI. 09	do.					
58	9. VI. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g capronsäures Natr., 50 ccm phys. NaCl-Lösung	120	140	58	62	118
63	15. VI. 09	do.					

Weder die Ammonium- noch die Natriumsalze der Fettsäuren sind innerhalb unserer Versuchsanordnung auf die Größe der Hippursäuresynthese aus Benzoesäure in der Kaninchenleber von konstantem Einfluß (Tab. VI). Ebenso wenig konnte ein Einfluß der Homologen des Glykokolls auf diese Reaktion nachgewiesen werden (Tab. VII).

Tabelle VII.

Durchblutung der Kaninchenleber mit Benzoesäure und Homologen des Glykokolls.

Nr. des Versuchs	Datum	Zusatz	Durchblutungszeit Min.	Blutmenge ccm	Lebergewicht vor nach der Durchblutung		Hippursäure mg
					g	g	
68	21. VI. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g Alanin	120	182	144	149	121,5
62	14. VI. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g Amidobuttersäure					
70	23. VI. 09	0,5 g Natrium benzoic., 0,5 g Leucin	120	150	58	66	69,4

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß die Größe der Hippursäuresynthese bei der Durchströmung der Kaninchenleber mit Benzoesäure weder durch Glykokoll noch durch zahlreiche andere Substanzen zu beeinflussen ist. Zur Erklärung dieser Tatsache möchten wir annehmen, daß die Fähigkeit der Leber, Hippursäure zu bilden, quantitativ beschränkt ist, und daß der

Leber in unseren Fällen so viel Glykokoll oder in Glykokoll übergehende Substanz zur Verfügung steht, daß die Synthese in der Versuchszeit stets im vollen Umfange erfolgt.

Noch ein anderes Resultat, zu dem unsere Versuche geführt haben, bedarf der Besprechung. Oberblickt man die Zahlen, die für die Hippursäure in den verschiedenen Durchströmungen gefunden worden sind, so ist es recht auffallend, wie stark diese Werte selbst da voneinander abweichen, wo gleiche Bedingungen und gleich gute Durchblutungen vorliegen. Diese Verschiedenheit kann nicht durch das Vorhandensein von Glykokoll oder glykokollgebenden Substanzen in größerer oder geringerer Menge erklärt werden, da sie ebenso bei den Durchblutungen unter Zusatz von Glykokoll in Erscheinung tritt. Vielmehr werden wir zu der Annahme gedrängt, daß die synthetische Kraft der Kaninchenleber, die den Umfang der Hippursäuresynthese bestimmt, eine individuelle Größe ist.

Diese Schlußfolgerungen stehen in guter Übereinstimmung mit den Gesetzen der Hippursäuresynthese, wie sie durch Stoffwechseluntersuchungen am Kaninchen gewonnen worden sind. Auch hier ist die quantitative Begrenzung der Hippursäuresynthese und ihre Abhängigkeit von individuellen Faktoren nachgewiesen worden¹⁾. Gegenüber den Stoffwechselversuchen stellen unsere Versuche insofern einen Fortschritt dar, als aus ihnen hervorgeht, daß diese Vorgänge vorwiegend in der Leber des Kaninchens lokalisiert sind.

Dagegen fehlt diese Übereinstimmung, wenn wir den Einfluß des Glykokolls auf den Umfang der Hippursäuresynthese in der Kaninchenleber und im Stoffwechselversuch vergleichen. Während im Durchströmungsversuch die Größe der Hippursäuresynthese durch Zufuhr von Glykokoll keine Änderung erfährt, reagiert der Gesamtorganismus des Kaninchens bei gleichzeitiger Zufuhr von Benzoesäure und Glykokoll mit einer erheblich höheren Hippursäureausscheidung als bei Applikation von Benzoesäure allein²⁾. Eine Erklärungsmöglichkeit für diese Divergenz haben wir bereits erwähnt. Andere Möglichkeiten könnten sich

¹⁾ Wilhelm Wiechowski, l. c., S. 253.

²⁾ Hugo Wiener, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 40, 313, 1898.

ergeben, wenn wir über die Quelle des Glykokolls der gebildeten Hippursäure und über den Mechanismus der Hippursäuresynthese sichere Kenntnis hätten.

Es erscheint uns wenig wahrscheinlich, daß das Glykokoll der Hippursäure vorgebildet als „Depot“ in der Leber oder im Blute des Kaninchens vorhanden ist. Allerdings hat Bingel¹⁾ mittels der Naphthalinsulfochloridmethode Glykokoll im Rinderblute nachgewiesen, aber dort handelt es sich doch nur um recht kleine Mengen. Wir haben mit Hilfe von β -Naphthalinsulfochlorid weder in der Leber noch im Blute unserer Versuchstiere freies Glykokoll nachweisen können, so daß wir zu der Annahme berechtigt zu sein glauben, daß das Glykokoll der Hippursäure bei der Durchblutung der Kaninchenleber unter der Einwirkung der Benzoesäure entsteht. Dies ist einmal möglich durch Zersetzung von Eiweiß, woran zu denken ist, da Benzoesäure nach zahlreichen Untersuchungen den Eiweißzerfall steigert. Bei einer Bildung von 0,1835 g Hippursäure, wie wir sie im Versuch Nr. 29 (Tab. VI) beobachtet haben, müßten dann etwa 2,1 g Eiweiß zerfallen. Allerdings ist zu betonen, daß im Stoffwechselversuch der Umfang der Hippursäuresynthese nicht in direkter Abhängigkeit vom Eiweißzerfall verläuft²⁾. Ferner wäre eine Neubildung von Glykokoll, sei es durch Abbau anderer stickstoffhaltiger Substanzen, sei es durch Synthese aus Glyoxylsäure und Ammoniak, in Betracht zu ziehen.

Auf diesen drei Wegen würde zuerst Glykokoll entstehen, das dann mit Benzoesäure zu Hippursäure gepaart würde. Dies scheint uns jedoch nicht der einzige Mechanismus der Hippursäuresynthese zu sein. Schon Magnus-Levy³⁾ hat auf die Möglichkeit hingewiesen, daß bestimmte aus dem hydrolytischen Abbau der Eiweißkörper stammende Aminosäuren zuerst mit Benzoesäure gepaart und dann erst oxydativ zu Hippursäure abgebaut werden, und die Beobachtung, daß in der Tat eine benzoyle Aminosäure, wenn auch unbekannter Konstitution, vom Kaninchen zu Hippursäure oxydiert wird, scheint zugunsten dieser Vorstellung zu sprechen. Auch bei einer Synthese von Glykokoll aus Glyoxylsäure und Ammoniak

¹⁾ Adolf Bingel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 382, 1908.

²⁾ Wilhelm Wiechowski, l. c., S. 250, Tabelle XXIV.

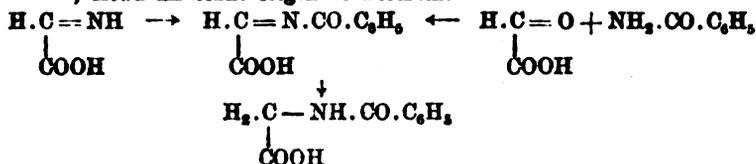
³⁾ Adolf Magnus-Levy, l. c., S. 541.

wäre es denkbar, daß die Bildung der Hippursäure nicht aus fertigem Glykokoll und Benzoesäure, sondern aus einer Vorstufe des Glykokolls und Benzoesäure oder einem Umwandlungsprodukt der Benzoesäure und Glyoxylsäure stattfindet¹⁾.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich, daß die Bildung des Glykokolls und die Synthese der Hippursäure beim Kaninchen nicht notwendigerweise in direkter Abhängigkeit voneinander stehen, etwa in dem Sinne, daß die Bildung des Glykokolls die Voraussetzung für die Synthese der Hippursäure darstellt. Beim Hunde dagegen, wo die Synthese der Hippursäure ausschließlich in der Niere erfolgt, und wo ihr Zustandekommen bei der Durchströmung mit Benzoesäure nachweislich an die Zuführung von Glykokoll gebunden ist, ist die Bildung des Glykokolls die Vorbedingung für die Entstehung der Hippursäure. Man hat daher die Möglichkeit im Auge zu behalten, daß die Hippursäuresynthese beim Kaninchen und beim Hund nicht nur in verschiedenen Organen, sondern auch auf chemisch prinzipiell verschiedenen Wegen verläuft.

Sollte es sich ferner beim Kaninchen zeigen lassen, daß in einem anderen Organ als in der Leber eine Synthese der Hippursäure aus Benzoesäure und Glykokoll stattfindet, so wäre auch die Tatsache, daß im Stoffwechselversuch bei Fütterung von Benzoesäure auf Zufuhr von Glykokoll eine höhere Hippursäureausscheidung erfolgt als bei Applikation von Benzoesäure allein, leicht verständlich²⁾.

¹⁾ Etwa im Sinne folgender Formeln:



²⁾ Herr Prof. Karl Spiro teilt uns mit, daß er beobachtet hat, daß bei der Durchblutung der Kaninchenleber mit Kälberblut zugefügtes benzoesaures Natrium resp. Ammonium in Hippursäure übergeht.

Eine einfache und zuverlässige Methodik der Aschenanalyse.

Von

Karl Stolte.

(Aus der Straßburger Universitäts-Kinderklinik.)

(Eingegangen am 7. Juli 1911.)

Im Nachstehenden möchte ich eine Methodik der Veraschung beschreiben, die ich seit längerer Zeit anwende und bei einer großen Zahl von Analysen bewährt gefunden habe. Im Prinzip kommt sie der früher allgemein geübten, in letzter Zeit aber durch die feuchte Verbrennung nach Neumann etwas zurückgedrängten trockenen Veraschungsmethode nahe. Sie unterscheidet sich von dieser jedoch dadurch, daß die Extraktion der Kohle fortfällt, eine Operation, die unbequem ist, da sie eine ganze Reihe von Manipulationen erfordert, und die infolgedessen auch leicht zu Verlusten an Aschebestandteilen führen kann. Vor der Neumannschen Veraschungsmethode bietet das nachstehend beschriebene Verfahren den Vorteil, daß es das Abrauchen der Säurelösung sowie das Eindampfen der großen Flüssigkeitsmengen erspart, die zum quantitativen Überspülen der Aschen aus den Kjeldahlkolben notwendig sind.

Bei einigermaßen vorsichtigem Arbeiten gelingt es bei meinem Verfahren, die Veraschung bis zu Ende durchzuführen, derart, daß die „Gesamtasche“ ohne jede Zwischenoperation in ein und derselben Platinschale zur Wägung gebracht werden kann, in welcher der zu untersuchende Harn oder die Milch eingedampft bzw. die Organpulver abgewogen werden.

Im einzelnen gestaltet sich das Verfahren folgendermaßen:
Eine Platinschale von 5 cm Durchmesser mit flachem Boden

wird mit dem absolut trockenen Analysenmaterial¹⁾ in eine Porzellanschale von etwa 1 bis 2 cm größerem Radius gesetzt, auf deren Boden sich ein umgekehrter Deckel eines kleinen Porzellantiegels oder auch einige Tonscherben nach Art von Siedesteinchen befinden, wodurch eine direkte Berührung der Platinschale mit der Porzellanschale verhindert wird. Alsdann wird, wie bei der sonst üblichen trockenen Veraschungsmethode, erst mit kleiner, dann mit stets größerer Flamme erwärmt. Die Regulierung der Flamme hat auch hier so zu geschehen, daß nur ganz langsam Dämpfe von der verkohlenden Masse aufsteigen. Erst wenn die Kohle vollkommen starr und unbeweglich geworden ist und auch bei stärkster Erhitzung mit einem großen Bunsendreibrenner oder Teklubrenner, dessen Flamme allseitig bis zum Rande der Porzellanschale emporschlägt, keine Dampfentwicklung mehr eintritt, darf mit voller Flammenstärke erhitzt werden. Nach weiteren 15 bis 30 Minuten kann zur Erhöhung der Temperatur und zur Beschleunigung der Veraschung der oberen Kohleschichten noch ein Porzellandeckel über die Platinschale gelegt werden. Sobald dieses Stadium der Veraschung erreicht ist, was je nach dem zu veraschenden Materiale früher oder später eintritt, kann unbesorgt mit der gleichen Flammenstärke bis zur Weißfärbung der Asche weiter erhitzt werden.

Sollte, was sich gelegentlich ereignet, auch bei längerem Glühen die Asche sich nicht weiter entfärben, so empfiehlt es sich, die Veraschung einen Augenblick zu unterbrechen, die aus der Porzellanschale herausgehobene Platinschale abkühlen zu lassen und durch Aufträufeln von 2 bis 3 Tropfen destillierten Wassers die Alkalischmelze, die die Kohlenpartikelchen umgibt, zu lösen und dann den Schaleninhalt bei schräg gestellter Platinschale auf dem Wasserbade, danach im Wärmeschranke wieder zu trocknen und weiterzuglühen. (Die Schrägstellung der Platinschale ist notwendig, weil sonst die Kohle wieder von den beim Trocknen zurückbleibenden Alkalien eingeschlossen wird.) In

¹⁾ Das Trocknen geschieht derart, daß die zu analysierenden Organe zu einem feinen Brei zerkackt, in dünner Schicht auf einer Glasplatte vor einem Ventilator getrocknet und danach pulverisiert werden; Flüssigkeiten werden in der Platinschale erst auf dem Wasserbade eingedampft, dann im Wärmeschrank bei 100 bis 105° nachgetrocknet.

vielen Fällen genügt es aber, wenn man die zusammengesinterten Kohlepartikelchen mit einem Platindraht umwendet, den Draht mit einem Stückchen aschefreien Filtrierpapiers abwischt und dieses mit verbrennt.

Die Veraschung ist meist in etwa 1 bis 2 Stunden nach dem Auflegen des Deckels vollendet. Längeres Glühen führt, wie ich mich wiederholt überzeugt habe, nicht zu Verlusten. Selbst bei 9 stündigem Erhitzen von reinem Natriumchlorid wurde keine Gewichtsabnahme der Platinschale beobachtet¹⁾.

Bei genauem Einhalten der Vorschriften gelingt es leicht, gut übereinstimmende Analysenwerte zu erzielen. Auch stimmen die so gewonnenen Zahlen hinreichend mit den nach dem bisher üblichen trockenen Veraschungsverfahren gewonnenen überein.

So ergaben Kontrollbestimmungen:

aus Muskelpulver nach der alten Methode: 5,42 bzw. 5,63% Gesamtasche,

aus Muskelpulver nach obiger Methode: 5,38 bzw. 5,74% Gesamtasche;

aus Blutpulver nach der alten Methode: 6,66 bzw. 6,65% Gesamtasche,

aus Blutpulver nach obiger Methode: 6,53 bzw. 6,54 bzw. 6,57% Gesamtasche;

aus Muskelpulver nach obiger Methode: 5,33 bzw. 5,40% Gesamtasche.

Sollen die einzelnen Metalle aus der so gewonnenen Gesamtasche bestimmt werden, so muß die Asche durch destilliertes Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure vollständig in Lösung gebracht werden. Die weitere Verarbeitung dieser Lösungen geschieht alsdann nach den bekannten Prinzipien, wie sie z. B. in Hoppe-Seyler-Tierfelders Handbuch oder auch in Hupperts „Analyse des Harnes“ ausführlich wiedergegeben sind.

Die so gewonnenen Zahlen stimmen gut miteinander überein. So ergab die Bestimmung der

Alkalien aus je 20 com einer Milchmischung 0,0600 bzw. 0,0597 g KCl + NaCl;

¹⁾ Vielleicht dürfte sich für jeden, der die Methode anwenden will, diese einmalige Prüfung als „blinde Probe“ des einfachen Apparates vor den Analysen empfehlen.

Alkalien aus je 100 com Harn (eines Säuglings) 0,1556 bzw. 0,1561 g $\text{KCl} + \text{NaCl}$;

Alkalien aus getrocknetem Kot 3,29 bzw. 3,14% $\text{KCl} + \text{NaCl}$.

Hier möchte ich noch hinzufügen, daß sich das oben beschriebene Einsetzen der Platinschale in eine Porzellanschale auch beim Abrauchen der Ammoniaksalze sowie zum Glühen des Natrium- + Kaliumchlorids zur Gewichtskonstanz bestens bewährt.

Außer für die Bestimmung von Gesamtasche sowie von Natrium und Kalium glaube ich das eben beschriebene einfache Verfahren ganz besonders zur Chlorbestimmung empfehlen zu können. Die Bestimmung ist, wenn man unter Zusatz von etwas Soda arbeitet, vollkommen zuverlässig und auch verhältnismäßig rasch auszuführen, da ein völliges Veraschen in diesem Falle nicht notwendig ist. Anstatt der Platinschale kann man bei dieser Bestimmung auch eine kleinere Porzellanschale verwenden.

Es ergab die Analyse von:

Muskelpulver 1,1053 bzw. 1,1074% Chlor,

einem anderen Muskelpulver 1,103 bzw. 1,084% Chlor.

Ersteres bei Verwendung von etwa $1\frac{1}{2}$ g, letzteres bei Benutzung von nur etwa $\frac{1}{2}$ g des Untersuchungsmaterials.

Die Zusammensetzung des Menschen- und des Hundeherzens.

Von

Richard Lederer und Karl Stolte.

(Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Straßburg.)

(Eingegangen am 7. Juli 1911.)

Die Veränderungen am Herzen scharlachkranker Kinder, die wir an anderer Stelle ausführlich beschreiben werden¹⁾, haben uns den Gedanken nahe gelegt, daß es sich um Ernährungsstörungen dieses Organs handeln könnte, zumal da die Funktionsstörungen des Herzens zeitlich und graduell mit Schwankungen des Körpergewichts zusammenfielen. Um diese Anschauung zu stützen und um genügendes Material für Analysen zu gewinnen, erzeugten wir ähnliche Erscheinungen am Herzen des Hundes durch subcutane Injektionen von Diphtherie-Toxin. Zum Vergleiche mußten auch Herzen normaler Hunde analysiert werden. Das menschliche Material, das wir verarbeiteten, entstammte folgenden Fällen: Zunächst einem Kinde, das an foudroyant verlaufendem Scharlach starb, dann einem Kinde, das einem plötzlichen diphtherischen Herztod erlag, und als Kontrolle diente das Herz eines etwa gleichalterigen, bisher gesunden Kindes, das 6 Stunden nach einer schweren Verbrennung seinen Verletzungen zum Opfer fiel.

Wenn sich auch aus den chemischen Analysen keine nennenswerten Differenzen zwischen kranken und gesunden Organen ergaben und, wie sich nach den späteren klinischen Beobachtungen herausstellte, die Erscheinungen am Scharlachherzen lediglich physikalischer Natur sind, glauben wir doch auf die Wiedergabe

¹⁾ Jahrb. f. Kinderheilk. 1911.

der Analysenresultate an dieser Stelle nicht verzichten zu dürfen, da dieselben späteren Nachuntersuchern als Normalzahlen dienen können. Andererseits ergaben sich aus dem Vergleich von Tier- und Menschenherzen Unterschiede, die eines physiologischen Interesses nicht entbehren.

Die Untersuchung erstreckte sich zunächst auf Trockensubstanz, Glykogen und extrahierbare Substanzen. Diese Bestimmungen konnten mit Rücksicht auf das Glykogen natürlich nur am Tier ausgeführt werden. Das Untersuchungsmaterial mußte möglichst schnell verarbeitet werden, da nach Untersuchungen von Boruttau¹⁾ das Herzmuskelglykogen noch rascher schwindet als das des Skelettmuskels. Die Tiere wurden durch Atherrausch betäubt, durch Verblutung aus der Aorta in wenigen Sekunden getötet; das Herz aus seinen Verbindungen gelöst, möglichst rasch von den großen Gefäßen und dem Herzbeutel befreit und das makroskopisch sichtbare Fett abpräpariert. Je zwei kleine Stücke wurden zur Bestimmung von Trockensubstanz und ätherextrahierbaren Substanzen verwendet, der Rest zerkleinert, gewogen und nach den Pflügerschen Vorschriften auf Glykogen verarbeitet. Die gefundenen Werte sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Alle Zahlenangaben in Prozenten frischer Substanz.

	Normaltiere						Mit Diphtherie-Toxin vergiftete Tiere					
	I	II	VII	VIII	IX	X	IV	V	XI	XII	XIII	XIV
Wassergehalt . . .	77,74	78,00	77,90	75,44	77,73	76,22	76,75	76,96	—	77,74	78,02	76,49
Ätherextrahierbare Substanzen . . .	—	—	3,735	7,926	2,864	2,882	—	—	—	2,018	2,675	3,570
Glykogen	—	—	—	0,578	0,407	0,709	—	—	—	0,231	0,639	0,435

Sämtliche Werte, sowohl bei den vergifteten Hunden als bei den Kontrolltieren, schwanken innerhalb derselben Grenzen und stimmen mit den in der Literatur niedergelegten Zahlen überein [Literatur in Nagels Handbuch²⁾].

¹⁾ Boruttau, Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 513 bis 524.

²⁾ Nagel, Handb. d. Physiol.

Gegenüber den von Krehl¹⁾ in Übereinstimmung mit Salkowski und Volkmann für das Menschenherz angegebenen Werten (78,6 bis 80,3%) schwanken die von uns für den Wassergehalt des Tierherzens gefundenen Zahlen zwischen 75,4 bis 78,02%.

Dagegen sind die Fettwerte des Hundeherzens (2,0 bis 3,7%, in einem Falle 7,9%) höher als die von Krehl für das gesunde Menschenherz aufgestellten Werte von 1,7 bis 2,9%.

Die Glykogenwerte schwanken zwischen 0,23 bis 0,709%, bewegen sich also innerhalb der von Schöndorff²⁾ aufgestellten Grenzen.

In Rücksicht auf dieses negative Resultat glaubten wir auf die Bestimmung von N, Gesamtasche, Basen und Säureradikalen nicht verzichten zu können. Diese Untersuchungen wurden an 4 Hunde- und 3 Menschenherzen ausgeführt. Die Ergebnisse sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.
Werte in Prozenten Trockensubstanz.

	(Na+K)Cl	Na	K	Cl	P	S	N	Gesamt-Asche
Normales Hundeherz I	4,484	—	—	0,430	0,699	0,954	12,06	5,155
Normales Hundeherz II	—	0,464	1,508	0,746	1,060	1,135	13,47	5,410
Hundeherz IV (nach Injekt. von Diphth.-Toxin)	4,085	—	—	0,481	0,875	0,975	11,88	5,366
Hundeherz V (nach Injektion von Diphth.-Toxin)	—	0,412	1,327	0,359	0,948	1,141	12,58	5,098
Normales Menschenherz	—	0,597	1,241	1,106	0,668	1,260	10,88	5,036
Menschenherz nach diphtherischem Herztod	—	0,779	1,367	1,093	0,792	1,407	11,08	5,220
Menschenherz nach foudroyantem Scharlach	—	0,729	1,347	1,023	0,623	1,143	10,865	5,525

Auf die Bestimmung von Ca und Mg mußten wir verzichten, da bei dem geringen Gehalt des Muskels an diesen Elementen das Material hierzu nicht ausreichte.

1) Krehl, Deutsches Arch. f. klin. Med. 51.

2) Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 99.

Die Herzen wurden nach der Entnahme so wie zu den vorhergehenden Analysen vorbereitet, insbesondere das Fett sorgfältig abpräpariert und das anhaftende Blut mit Filtrierpapier abgesaugt. Je zwei Stückchen wurden zur Bestimmung des Gesamtwassergehaltes verwendet. Der Rest wurde fein zerkleinert, auf einer Glasplatte in dünner Schicht ausgebreitet und vor dem Ventilator bei einer Temperatur von ca. 30 bis 40° getrocknet. Ein kleiner Teil dieser lufttrockenen Substanz wurde zur Bestimmung des noch vorhandenen Wassergehaltes verwendet, alles übrige diente zum Ausgangsmaterial für die folgenden Untersuchungen. Die Bestimmung von N wurde nach Kjeldahl ausgeführt, die Bestimmungen von S, P und Cl geschahen durch Wägung nach trockener Veraschung unter Zusatz von Natriumperoxyd bzw. Sodasalpetermischung und Soda. Die Bestimmung der Gesamtsäure wurde mit der von Kalium und Natrium verbunden¹⁾, die Trennung dieser beiden Elemente nach Treadwell ausgeführt. Bei zwei Hundeherzen geben wir nur den Wert für die Summe der Alkalichloride an, da die Resultate der getrennten Kalium- und Natriumbestimmung in den Kontrollen nicht absolut genau übereinstimmten und eine Wiederholung wegen des spärlichen Materials nicht möglich war. Die übrigen Zahlen fußen auf sicher übereinstimmenden Doppelanalysen.

Die Werte der einzelnen Bestandteile schwanken sowohl beim Menschen- wie beim Hundeherzen. Unterschiede, die weit außerhalb der normalen Schwankungen liegen, ergaben sich in folgenden Punkten: das Hundeherz enthält viel weniger Natrium als das Menschenherz, 0,412 bis 0,464 beim Hunde gegenüber 0,597 bis 0,779% beim Menschenherzen. Sehr stark differieren ferner die Chlorwerte, die sich beim Hunde zwischen 0,359 und 0,746% bewegen, während die Analyse des Menschenherzens Werte von 1,02 bis 1,10% ergab. Dagegen scheinen die P-Werte beim Hundeherzen etwas höher zu liegen. Große Abweichungen ergaben sich ferner im Schwefel- und Stickstoffgehalt insofern, als das Menschenherz an Schwefel reicher, an Stickstoff dagegen erheblich ärmer ist als das Herz der Hundes.

1) Über Einzelheiten der Methodik vgl. vorstehende Arbeit.

Anhangsweise seien aus der Arbeit von Katz¹⁾ die Werte der durch Analyse von Skelettmuskeln bei Menschen und Hunden gewonnenen Zahlen unseren Durchschnittswerten gegenübergestellt.

Tabelle III.
Werte in Prozenten der Trockensubstanz.

	K	Na	Cl	P	S
Menschlicher Skelettmuskel	1,166	0,291	0,255	0,741	0,758
Menschlicher Herzmuskel	1,319	0,690	1,074	0,694	1,270
Skelettmuskel vom Hund	1,418	0,400	0,342	0,948	0,964
Herzmuskel vom Hund	1,418	0,438	0,504	0,893	1,051

Aus dem Vergleich der beiden Reihen ergeben sich bedeutende und interessante Unterschiede, deren Erklärung natürlich nicht ohne weiteres möglich ist. Es sei nur darauf hingewiesen, welche erhebliche Unterschiede in der Zusammensetzung von Skelett- und Herzmuskel des Menschen besteht, wie gering dagegen die Unterschiede derselben Organe beim Hunde sind.

¹⁾ Katz, Arch. f. d. ges. Physiol. 63; dort auch ältere Literatur.

Über Kalkresorption und Verkalkung¹⁾.

Von

Masahiko Tanaka (Nagasaki).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 13. Juli 1911.)

I. Versuche über die Resorption von Knochensubstanz.

Das Knochengewebe unterliegt wie andere Gewebe einer steten Erneuerung. Hungernde und auf kalkarme Nahrung gesetzte Tiere zeigen Schwund der Knochensubstanz. Geschwülste, Aneurysmen, Granulationen führen, wenn sie direkt dem Knochen anliegen, zu örtlicher Resorption. Daß dabei nicht vitale Vorgänge in dem arrodieren Gewebe die maßgebende Rolle spielen, geht aus der bekannten Tatsache hervor, daß auch toter Knochen und Elfenbein von Granulationen angegriffen werden.

Da der Knochen der Hauptmasse nach aus leimgebendem Gewebe besteht, in das unlösliche Kalk- und Magnesiumsalze, und zwar Phosphate und Carbonate eingelagert sind, so muß eine Arrosion des Knochens sowohl die organische Grundsubstanz wie auch die anorganischen darin abgelagerten Salze betreffen. Bei der sonstigen Widerstandsfähigkeit des anorganischen Anteils gegen mechanische und chemische Einwirkungen hat man die Veränderung dieses Anteils besonders ins Auge gefaßt. Während

¹⁾ Die nachstehend mitgetheilten, auf Veranlassung von Herrn Prof. Hofmeister ausgeführten Untersuchungen wurden im Jahre 1908 begonnen und waren im Sommer 1909 in der Hauptsache abgeschlossen. Herr Prof. Hofmeister hat über sie in der Sitzung des Straßburger naturwissenschaftlichen medizinischen Vereins vom 26. Juni 1909, dann in den Ergänzungen der Physiologie von Asher und Spiro, 10. Jahrg., S. 436 ff. berichtet.

viele Autoren die Arrosion des Knochens nur unter der Annahme erklärlich finden, daß sie durch besondere vitale Prozesse im arrodierenden Protoplasma zustande kommt, d. h. Vorgänge, die einer physikalischen und chemischen Erklärung zunächst unzugänglich sind, halten andere (z. B. Rindfleisch) eine rein chemische Erklärung für denkbar und nehmen mit größerer oder geringerer Entschiedenheit, jedoch ohne Beibringung von Zahlenbelegen an, daß es sich dabei um Auflösung von Knochensubstanz durch im Protoplasma gebildete Säure handelt.

Da das Leben des Protoplasmas an eine annähernd neutrale Reaktion geknüpft ist, jedenfalls bei Anwesenheit einer irgend merklichen Menge freier Mineralsäuren nicht bestehen kann, hat man daher an organische Säuren, vor allem an Kohlensäure gedacht.

Da nun Kohlendioxyd im lebenden Protoplasma stetig und in großer Menge gebildet wird und sein Auftreten als gelöstes wenig dissoziiertes Hydrat (H_2CO_3) im lebenden Protoplasma nicht bezweifelt werden kann, so kommt die Kohlensäure ungezwungenerweise als lösender Faktor so sehr in erster Reihe in Betracht, daß, wenn diese ihre Rolle einmal außer Zweifel gestellt ist, das Suchen nach anderen im gleichen Sinne wirksamen Lösungsmitteln zunächst überflüssig erscheint.

In der Tat haben vielfach ältere Untersuchungen sicher gestellt, daß Kohlensäure die Salze des Knochens in Lösung bringt. Man hat dabei das Calciumphosphat des Knochens als den schwerstlöslichen Teil vor allem ins Auge gefaßt. Maly und Donath¹⁾ bestimmten die Löslichkeit von frisch gefälltem tertiärem Calciumphosphat in Wasser zu 0,0025%, von grob gepulvertem Ochsenfemur zu 0,003%. Kohlensäuregesättigtes Wasser löste fein verteilten phosphorsauren Kalk fast so reichlich wie eine verdünnte Mineralsäure. Leiteten Maly und Donath Kohlendioxyd durch in Wasser suspendiertes Kalkphosphat und filtrierten, so schied das Filtrat beim Erhitzen einen reichlichen Niederschlag von Tricalciumphosphat

¹⁾ Maly und Donath, Journ. f. prakt. Chem. 7, 413, 1873.

ab. In ähnlicher Weise leitete Flesch¹⁾ Kohlendioxyd in suspendiertes Knochenpulver ein und fand, daß Kalksalze (und Grundsubstanz) in Lösung gingen. Tillmanns²⁾, der Elfenbeinstäbchen bei 37 bis 38° einem langsamen Strom von kohlenensäurehaltiger Lösung von Kalkphosphat aussetzte, konnte nach mehrwöchiger Dauer eine Gewichtsabnahme von 1 bis 2% und makroskopisch sichtbare Arrosion feststellen.

Da, wie eingangs erwähnt, trotz dieser Befunde die Lösungswirkung der Kohlensäure als Ursache der Knochenarrosion nicht allgemein anerkannt ist, habe ich eine Reihe einschlägiger Versuche unter wechselnden Versuchsbedingungen ausgeführt.

1. Löslichkeit der Knochensubstanz.

Elfenbein-, Knochen- und Zahnschliffe wurden durch andauerndes Waschen von wasserlöslichen Bestandteilen befreit, im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, dann einem sehr langsamen Strom mit Kohlendioxyd gesättigter Flüssigkeit, und zwar destillierten Wassers, 0,9%iger Kochsalzlösung und Rinderblutserums ausgesetzt.

Die Schliffe befanden sich dabei in einem kurzen zylindrischen, unten zu einer feinen Spitze ausgezogenen Glasrohr, das sich in einem auf etwa 40° gehaltenen Bruttofen befand. Die durch einen Kohlendioxydstrom gesättigt erhaltene Durchleitungsflüssigkeit befand sich außerhalb des Brutraumes, doch wurde die Durchleitung so geregelt, daß die Flüssigkeit aus der Spitze des Glasrohrs nur tropfenweise abfloß und daher reichlich Zeit hatte, die Temperatur des Brutraumes anzunehmen. Die aus dem Glasrohre abfließende Lösung tropfte auf eine große schiefgestellte Glasplatte und von da in ein vorgelegtes großes Aufnahmegefäß. Nach Abbrechen des Versuchs wurden die Schliffe neuerdings sehr sorgfältig gewaschen und im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Außer dem Gewicht wurde auch die Oberfläche der Schliffe bestimmt. Um eine störende Einwirkung von Fäulnisregnern zu verhindern, waren die Durchleitungsflüssigkeiten mit Toluol versetzt.

Das Ergebnis der Versuche ist aus umstehender Tabelle ersichtlich.

¹⁾ Flesch, Centralbl. f. med. Wiss. 1896, 524.

²⁾ H. Tillmanns, Deutsche Zeitschr. f. Chirurgie 7, 533, 1877.

Tabelle I.

Versuch Nr.		Durch- leitungs- flüssigkeit	Dauer der Ein- wirkung	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Abnahme g im ganzen	Abnahme pro Tag g	Oberfläche qmm	Abnahme pro Tag in 1000 qmm Oberfläche g
1	Elfenbein	Wasser . .	3 Tg. 20 St.	0,4606	0,4024	0,0582	0,01518	1142	0,0133
2	"	0,9% ige Kochsalz- lösung . .	3 Tg. 20 St.	0,2988	0,2019	0,0969	0,02538	1248	0,0203
3	"	Pferdeblut- serum . .	3 Tg. 20 St.	0,6020	0,5411	0,0609	0,01589	1538	0,0103
4	Knochen	Wasser . .	3 Tg. 20 St.	0,3060	0,2252	0,0808	0,02108	1515	0,0139
5	"	0,9% ige Kochsalz- lösung . .	3 Tg. 20 St.	0,3618	0,2841	0,0777	0,02027	1212	0,0167
6	"	Pferdeblut- serum . .	3 Tg. 20 St.	0,2024	0,1881	0,0143	0,00373	1346	0,0028
7	Zahn	Wasser . .	5 Tg. 4 St.	0,6217	0,5875	0,0342	0,00662	809	0,0062
8	"	0,9% ige Kochsalz- lösung . .	5 Tg. 4 St.	0,5191	0,4666	0,0525	0,01016	963	0,0106
9	"	Pferdeblut- serum . .	5 Tg. 4 St.	0,4366	0,4292	0,0074	0,00143	1043	0,0014

Das in Lösung gegangene Calciumphosphat war in der abfließenden Flüssigkeit nachweisbar. Wie erwähnt, ließ ich sie auf eine Glasplatte tropfen, von der sie langsam in ein untergestelltes Gefäß abfloß. Auf der Glasplatte bildeten sich infolge des Verdunstens der Kohlensäure sehr bald weißliche Beschläge, die, wie die Untersuchung zeigte, reichlich Calciumphosphat enthielten. Es erinnert das an pathologische Beobachtungen, wo in der Nachbarschaft von Arrosionsstellen Ablagerungen von Kalksalzen beobachtet wurden¹⁾.

Die lösende Wirkung kohlenäurereicher Flüssigkeiten auf Knochensubstanz ist danach, wenn eine genügend große Berührungsfäche vorliegt, nicht unerheblich. Bemerkenswert ist die ungleich geringere Lösungswirkung des Blutserums gegenüber Wasser und namentlich Kochsalzlösung. Sie dürfte durch den Umstand zu erklären sein, daß das Blutserum eben schon von vornherein Kalkphosphat gelöst enthält.

Die oben beobachtete Gewichtsabnahme der Elfenbeinplättchen beruht wesentlich nur auf der Lösung der Kalksalze.

¹⁾ Vgl. Nunakawa, Virchows Archiv 198, 271, 1909.

Die mikroskopische Untersuchung des durchscheinenden Plättchenrandes unter Zuhilfenahme der Schwefelsäurereaktion ergab, daß die organische Grundsubstanz anscheinend unverändert, aber bis zu einer gewissen Tiefe des Kalks beraubt war.

2. Resorption von Kalkphosphat und Knochensubstanz im lebenden Gewebe.

Da das Blut im lebenden Tiere nicht mit Kohlensäure gesättigt ist, war zu erwarten, daß die lösende Wirkung des kreisenden Blutes hinter der für Blutserum ermittelten zurückbleiben dürfte. Allenfalls war daran zu denken, daß Gewebe mit starker Kohlensäurebildung, also solche mit lebhaftem Stoffwechsel, wie er z. B. bei Granulationen und wuchernden Geschwülsten gegeben ist, ein besonders hohes Lösungsvermögen für Kalkphosphat besitzen könnte. Um eine Vorstellung über das Lösungsvermögen der Gewebsflüssigkeiten zu gewinnen, habe ich einerseits Calciumphosphat in Pulverform, andererseits Elfenbeinnadeln von bekanntem Gewicht in verschiedene Gewebe eingebracht und deren Veränderung verfolgt.

Versuch 10. Kleines Kaninchen erhielt am 13. III. 1909 nach Laparotomie 0,2 g Calciumphosphat (CaHPO_4), suspendiert in 0,9%iger Kochsalzlösung durch zwei Einstiche in die Leber injiziert. Das Tier erholte sich rasch; wird am 17. IV. getötet. Die Sektion ergibt eine Narbe im rechten Leberlappen mit Verfettung der Umgebung. Mikroskopisch keine Kalkablagerung¹⁾ nachweisbar. Wohl aber findet sich eine geringe Kalkablagerung unter dem Peritonealüberzug des Zwerchfells und des Magens.

Versuch 11. Kleines Kaninchen erhielt am 13. III. 1909 durch die Rückenwand direkt in die von außen fixierte linke Niere 0,1 g Calciumphosphat injiziert. Getötet am 19. III. In der Mitte der linken Niere eine linsengroße weiße Stelle, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, ohne Kalkablagerung. Auch sonst im Nierenparenchym kein Rest des Kalkphosphats nachweisbar.

Versuch 12. Kleines Kaninchen erhielt nach Laparotomie am 17. III. 0,05 g Calciumphosphat in die Milz injiziert. Getötet am 4. IV. In der Milz keine Spur des injizierten Phosphats aufzufinden.

Versuch 13. Kleines Kaninchen erhielt am 19. III. 1,0 g Calciumphosphat an der Bauchwand subcutan injiziert. Getötet am 29. III. An der Injektionsstelle eine fünfpfenniggroße Induration, gelblichweiße

¹⁾ Die mikroskopischen Untersuchungen wurden im Institut des Herrn Prof. Chiari vorgenommen. Ich werde über sie ausführlich in einer späteren Publikation berichten.

Massen enthaltend, die sich makroskopisch und mikroskopisch als kalkreich erweisen. In der Magenmucosa viele linsengroße Ecchymosen.

Versuch 14. Kleines Kaninchen erhielt am 20. III. $\frac{1}{2}$ g Calciumphosphat in die Rückenmuskulatur rechts und ebenso am 25. III. in die Rückenmuskulatur links injiziert. Getötet am 1. IV. Die Sektion zeigt, daß die injizierten Massen beiderseits größtenteils verschwunden sind. In der Magenschleimhaut in der Abheilung begriffene Ecchymosen.

Wie diese Versuche lehren, wird beigebrachtes Calciumphosphat verhältnismäßig rasch resorbiert; wenn die injizierte Menge größer ist, kommt es ausnahmsweise zu Verkalkungen in der Nachbarschaft und zum Auftreten von Ecchymosen in der Magenschleimhaut, wie ich es sonst (s. unten) nach Injektion von gelösten Kalksalzen regelmäßig beobachtet habe. Die prompte Resorption dürfte sich aus der relativ großen Oberfläche des in Pulverform beigebrachten Präparates erklären.

Es könnten aber Zweifel entstehen, ob das beobachtete Verschwinden auf Rechnung der Lösungswirkung der Kohlensäure oder auf eine Wegtransportierung durch Leukocyten und den Lymphstrom zu beziehen ist. Zur Entscheidung dieses Punktes habe ich flachgeschliffene 4 bis 8 mm breite, 22 bis 54 mm lange, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschene, dann getrocknete und gewogene Elfenbeinnadeln direkt bei Kaninchen in verschiedene Gewebe eingeführt, nach längerer Zeit (10 bis 19 Tagen) wieder herausgenommen, gewaschen, getrocknet und behufs Bestimmung des Gewichtsverlustes wieder gewogen. Die aseptisch ausgeführten Versuche, bei denen zum Teil Eröffnung der Bauchhöhle notwendig war, verliefen ohne Störung.

Die nachstehende Tabelle gibt einen Überblick der Ergebnisse.

Tabelle II.

Ver- such Nr.	Organ	Dauer des Verweilens Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Gewichts- abnahme g	Gewichts- abnahme pro Tag g	Oberfläche qmm	Gewichts- abnahme pro Tag u. 1000 qmm
15	Leber	19	0,2705	0,2653	0,0052	0,00027	444	0,00061
16	Milz	19	0,0601	0,0568	0,0033	0,00017	144	0,00118
17	Niere	10	0,1402	0,1374	0,0028	0,00028	398	0,00070
18	Muskel	17	0,3264	0,3223	0,0041	0,00024	642	0,00037
19	Unterhaut- bindegewebe	17	0,4430	0,4382	0,0048	0,00027	684	0,00039

Die beobachteten Gewichtsabnahmen liegen sämtlich außerhalb der Fehlergrenzen, sie stehen aber, wie zu erwarten war, hinter den früher für kohlendioxidgesättigtes Serum ermittelten merklich zurück. Sie sind bei Milz und Niere am größten, bei Muskel und Unterhautbindegewebe am niedrigsten. Die Vermutung, daß Organe mit lebhaftem Stoffwechsel ein größeres Lösungsvermögen aufweisen, kann mit diesen Zahlen gut in Einklang gebracht werden, doch ist zur endgültigen Sicherstellung dieser Annahme einerseits die Zahl der Versuche zu gering; andererseits ist aber auch zu bedenken, daß die Einbringung eines wenn auch sorgfältig gereinigten Fremdkörpers wenigstens vorübergehend eine Reaktion hervorruft, die die Arrosionsverhältnisse beeinflussen dürfte.

Trotz ihrer Kleinheit lassen die erhaltenen Werte keinen Zweifel darüber, daß die Knochensubstanz im lebenden blutdurchströmten Organismus einer wenn auch sehr langsam, doch stetig verlaufenden Lösung unterliegt und daher, wie dies ja die anatomische Beobachtung lehrt, einer steten Erneuerung bedarf. Dort, wo diffuse Ablagerung von Kalksalzen erfolgt, wie bei pathologischen Prozessen, sind wegen der viel größeren Oberfläche die Bedingungen der Resorption ungleich günstiger. Das Verschwinden von kleinen diffusen Verkalkungen, wie sie z. B. Schujeninoff¹⁾ an Muskelnähten beobachtete, ist daher ohne weiteres verständlich. Bei größerer Ausbreitung und kompakterer Beschaffenheit von Kalkablagerungen werden die Resorptionsbedingungen zusehends ungünstiger, zumal da in solchen Fällen eine Abnahme der Stoffwechselforgänge und damit der Kohlensäurebildung gegeben zu sein pflegt.

II. Versuche über Ablagerung von Kalksalzen im Tierkörper.

Schon bei den zuletzt angeführten Versuchen wurde gelegentlich beobachtet, daß das eingebrachte Calciumphosphat in der Nachbarschaft der Injektionsstelle Kalkablagerung im sonst normalen Gewebe herbeiführen kann. Im Hinblick auf die physiologisch und pathologisch nicht unwichtige Frage, ob die Zufuhr von Kalksalzen etwa Verkalkungsvorgänge einleitet oder befördert, habe ich den Einfluß untersucht, den die Bei-

¹⁾ Schujeninoff, Zeitschr. f. Heilk. 18, 13, 1879.

Tabelle III.

Verz. Nr.	Tierart	Injiziertes Salz	Datum d. Injektion	Injiz. Menge g	Ort der Injektion	Datum d. Todes	Befund	Bemerkungen
20	Kaninchen, klein	CaCl ₂	1909 23. II.	0.5	Bauchhöhle	1909 26. II.	An der Injektionsstelle etwas Ödem. Subperitoneale Kalkablagerungen an der Bauchwand, dem Zwerchfell und Netz. In der Magenschleimhaut viel Eochymosen.	Daneben 0,5 g NaHCO ₃ per Ohrvene
21	Kaninchen mittelgroß	CaSO ₄	13. II.	1.0	"	15. II.		
22	Kaninchen, klein	Ca(C ₂ H ₃ O ₃) ₂	26. II.	2.0	"	27. II.	Eochymosen in der Magenschleimhaut. Ausgedehnte flächenförmige oder streifige subperitoneale Verkalkung an der Bauchwand, vielfach 1/8 bis 1 mm stark, an Zwerchfell, Netz, Magen, Dickdarm, Milz, Mesenterium u. im Fettgewebe. Verkalkte einzelne Muskelfasern und Muskelfasergruppen in mehreren Muskeln aller Extremitäten und dem Herzen. Stellenweise Verkalkung der Intima und Media der Gefäßwände (Aorta). In den Tubuli recti des Nierenmarks kurze Kalkcylinder. In der Magencavosa zahlreiche Eochymosen.	
23	Kaninchen, mittelgroß	"	17. II.	2.0	"	27. II.	Subperitoneale streifige Kalkablagerung an Bauchwand, Zwerchfell, im Mesenterium und Netz. Viele Eochymosen im Magen.	
24	Kaninchen, klein	"	5. III.	0.75	"	7. III.	Injektionsstelle nekrotisch. In den Muskeln der Umgebung stellenweise Kalkablagerung. Alte Eochymosen im Magen.	
25	Kaninchen, mittelgroß	"	13. II. 17. II. 22. II.	1.0 1.0 2.0	Subcutan an der Brustwand rechts	3. III.		
26	Kaninchen, mittelgroß	"	1. III. 26. III.	2.0 1.0	Linke Rückenmuskulatur Rechte Rückenmuskulatur	3. IV.	In der Rückenmuskulatur links verkalkte Partien, rechts noch unveränderte Calciumacetatlösung an der Einstichstelle, daneben Hämorrhagien. In der Subserosa des Peritonaeums der linken Bauchwand eine Verkalkungsstelle. Eochymosen im Magen.	
27	Kaninchen, klein	"	2. IV. 29. III.	1.0 0.5	Leber	30. IV.	Spärliche Verkalkungen an der Außenseite der Leber, ziemlich viel fleckige und streifige subperitoneale Verkalkungen des Magens und subperitoneale Kalkablagerung an der Unterfläche des Zwerchfells.	
28	Kaninchen, klein	"	26. V. 1. VI. 4. VI. 10. VI. 14. VI. 16. VI. 17. VI. 18. VI.	0.25 0.25 0.25 0.25 0.25 0.25 0.25 0.25	Pleura rechts " " " " " " "	In der rechten Pleurahöhle ausgedehnte Verkalkungen und Hämorrhagien. An der Zwerchfelloberfläche Verkalkung, stellenweise Ablagerungen in der rechten Brustmuskulatur. Stecknadelkopfgroße Verkalkungen im Netz, in der Subserosa der kleinen Magenkurvatur, kleine, alte Eochymosen in der Magenmucosa.		

29	Kaninchen, klein	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$	2.0	Bauchhöhle	27. II.	Eoehymosen im Magen.
30	Kaninchen mittelgroß	CaCO_3	1.0	"	23. II.	Im Peritonealraum allenthalben Reste der injizierten Massen. An Zwerchfell, Bauchwand, Magen, Darm subperitoneale Kalkablagerungen. Eoehymosen im Magen.
31	Kaninchen, mittelgroß	"	2.0	"	22. II.	Reste der Kalkmassen auf der Peritonealflechte. Massenreste subperitoneale Kalkablagerung an Einzerveiden, Bauch- und Rückenwand, Leber, Milz und Nieren. Ziemlich viele Eoehymosen im Magen.
32	Kaninchen, mittelgroß	CaHPO_4	1.0	"	23. II.	Bauchdecke mit dem Dickdarm ausgelehnt ver wachsen. In der Bauchhöhle verstreut Kalkablagerung nachweisbar, auch an der Unterflache des Zwerchfells. Ziemlich viele alte Eoehymosen im Magen.
33	Hund, klein	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$	1.0	"	12. III.	Streifige Kalkablagerungen unter dem Peritoneum an der Bauchwand, der Unterflache des Zwerchfells. Zarre subseröse Verkalkungsflecke an Magen u. Milz. Die Nierenknirschen beim Schneiden. Geringe Ablagerung in der Adventitia der Baucharteria.
34	Hund, klein	"	1.0	Muskulatur d. r. hint. Extremität	8. V.	Verkalkungen in den injizierten Muskeln.
35	Meerschweinchen	"	1.0	Muskulatur d. l. hint. Extremität	9. VII.	Subperitoneale streifige oder fleckige Kalkablagerungen an der Bauchwand, der Unterflache des Zwerchfells, an der hinteren Wand der Bauchhöhle, an Magen, Darm, Milz, Netz und Mesenterium, auch in den Mesenterialdrüsen. Darneben an den Bauchdecken viel ganz kleine Blutungen.
36	"	CaCO_3	0.65	"	6. XII.	Blind-, Dickdarm, Magen und Leber miteinander verwachsen. Zahlreiche Verkalkungsteilen in der Subserosa der Bauchwand und der Unterleibsorgane.
37	"	"	0.1	"	14. XII.	Bauchwand, Darm, Netz und Leber teils ver wachsen, teils durch fibrinöse Massen verklebt, in denen Kalk abgelagert ist. Auch in der Subserosa des Mesens, Blasen-, Dick- und Blinddarms stellenweise Kalkablagerung.
38	Kaninchen, klein	$\text{Mg}_2\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_3$	0.2	"	7. IV.	Die injizierte Masse ist von einer Bindgewebekapsel eingeschlossen. Mesenterialdrüsen geschwollen, enthalten weiße Massen.
39	Kaninchen, klein	SrCO_3	0.4	"	7. IV.	Blinddarm an vorderer Bauchwand adhärent. Die injizierte Masse eingekapselt. Mesenterialdrüsen vergrößert und hart, weiße Massen enthaltend. Alle Unterleibsorgane gerötet und zum Teil mit weißen Massen bedeckt. Eoehymosen im Magen.
		"	0.8	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"	1.0	"		
		"	2.0	"		
		"	3.0	"		
		"				

bringung verschiedener Kalksalze beim Kaninchen und bei anderen Säugetieren ausübt.

In dieser Richtung liegen zurzeit wichtigere Angaben nur von J. v. Kóssa¹⁾ vor, der beobachtete, daß Chlorcalciuminjektion bei Kaninchen an sich keine Kalkablagerung erzeugt, wohl aber die Verkalkung der durch Jodoformvergiftung geschädigten Leber begünstigt. Doch ist dabei zu bedenken, daß v. Kóssa seinen Tieren sehr geringe Mengen Kalksalz beibrachte, somit keine erhebliche Steigerung des Kalkgehalts der Körperflüssigkeiten erzielte. Wie aus den nachstehend mitgeteilten Versuchen hervorgeht, vermag die Applikation von größeren Kalkmengen auch bei völlig gesunden Tieren ausgedehnte Kalkablagerung hervorzurufen.

Die Versuche wurden an Kaninchen, Hunden, Meerschweinchen und Mäusen vorgenommen. Es kamen verschiedene Kalksalze zur Verwendung: lösliche — Chlorid, Acetat und Lactat — und schwer- bzw. unlösliche — Sulfat, Phosphat (CaHPO_4) und Carbonat.

Zum Vergleiche habe ich auch Versuche mit Magnesium- und Strontiumsalz ausgeführt.

Die löslichen Salze werden zu 5%, in einer 0,9%igen Kochsalzlösung gelöst und durch 2 stündiges Erhitzen im Dampfkochtopf sterilisiert. Die schwer löslichen Salze wurden in Pulverform durch anhaltendes Erhitzen keimfrei gemacht, dann in steriler physiologischer Kochsalzlösung verteilt. In einer Anzahl von Versuchen an Kaninchen wurde neben der Applikation der Kalksalze eine Infusion von Natriumbicarbonat von der Ohrvene aus vorgenommen (Versuch 20, 31, 32), anscheinend ohne Einfluß auf das Resultat.

Die Ergebnisse der Versuche sind aus vorstehender Tabelle III ersichtlich. Nur die Versuche an Mäusen habe ich, da mir die mikroskopische Untersuchung fehlt, nicht aufgenommen. Soweit diese gegen Injektion irgend größerer Mengen fremder Stoffe sehr empfindlichen Tiere lang genug am Leben blieben, zeigten sie makroskopisch ähnliche Befunde wie Kaninchen und Meerschweinchen.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Beibringung von Kalksalz in nicht zu geringer Menge führt bei Kaninchen, Hunden, Meerschweinchen (und Mäusen) zu Kalkablagerungen.

¹⁾ v. Kóssa, Zieglers Beitr. 29, 163, 1901.

2. Die schwer löslichen Kalksalze, Sulfat, Carbonat, Phosphat, verhalten sich in dieser Richtung wie die leicht löslichen.

3. Die Verkalkungen fehlen in den ersten 24 Stunden, sind aber nach 2 mal 24 Stunden regelmäßig nachweisbar.

4. Sie kommen, wie sich bei der Applikation der leicht löslichen Salze zeigte, nicht durch einfache Ausfällung der injizierten Kalklösung zustande, denn sie finden sich nicht an der eigentlichen Injektionsstelle, sondern in den benachbarten Geweben. Der Ablagerung muß sonach die Resorption des Salzes vorausgegangen sein. Bei reichlicher Zufuhr bilden sich Kalkablagerungen auch an ganz entfernten Stellen — im Herzen, den Rumpfmuskeln usw. —, wohin die Kalklösung nur durch die Blutbahn gelangt sein kann (Kalkmetastasen). Solche Kalkablagerungen betreffen vorwiegend quergestreifte Muskeln, und zwar einzelne Muskelfasern oder Gruppen von solchen.

5. Die Verkalkungen finden sich nach peritonealer Applikation, besonders reichlich im subserösen Bindegewebe bzw. den darin vorhandenen Lymphräumen und in der quergestreiften Muskulatur. Das Parenchym der Leber und Milz ist nicht nachweisbar betroffen.

6. Die Magenschleimhaut des Kaninchens zeigt fast ausnahmslos Eochemosen.

Wie Hofmeister¹⁾ kurz ausgeführt hat, ist das Zustandekommen der Kalkablagerungen, wenn gelöste Kalksalze in die Peritonealhöhle eingeführt wurden, so zu denken, daß die Kalksalze in den ersten 24 bis 48 Stunden durch Diffusion (oder Filtration) in das subseröse Gewebe gelangen, und soweit sie nicht von da mit dem Blute und der Lymphe weiterwandern, hier in unlösliche Kalkverbindungen übergeführt werden. Es ist zu vermuten, daß das Eindringen der Kalksalze in abnorm hoher Konzentration die Verkalkungsvorgänge durch direkte Schädigung des Gewebes begünstigt, doch ist diese Annahme nicht gesichert. Bei den metastatischen Verkalkungen, z. B. in der Rückenmuskulatur, ist nach der ganzen Lokalisation diese Annahme minder wahrscheinlich, da man nicht gut denken kann, daß die durch das Blut zugeführten Calciumsalze gerade einzelne Muskelfasern oder Gruppen davon schädigen sollten, die

¹⁾ a. a. O., S. 446.

daneben liegenden aber gar nicht, man müßte denn annehmen, daß primäre Veränderungen in der Nachbarschaft, z. B. Kalkablagerungen in den Lymphräumen, vorangegangen, aber zur Zeit des Todes wieder verschwunden sind.

Da die Verbreitung der Verkalkungen bei Anwendung von unlöslichen Kalksalzen die gleiche war wie bei Beibringung leicht löslicher, so muß angenommen werden, daß die eingebrachten unlöslichen Salze, Carbonat und Phosphat, zunächst in Lösung gehen, resorbiert werden, dann aber wieder zur Ablagerung kommen. Es entspricht dies den oben mitgeteilten Befunden über die Löslichkeit dieser Salze in der Gewebsflüssigkeit.

Das Auftreten von Kalkablagerungen bei Übersättigung des Gewebes mit Kalksalzen, und zwar nicht bloß an der Applikationsstelle, sondern auch an ganz entfernten Punkten, erinnert in vieler Beziehung an das Vorkommen von Kalkmetastasen beim Menschen. Wie Virchow¹⁾ schon im Jahre 1855 festgestellt hat, kommen Verkalkungen an bestimmten Stellen, Lungen, Nieren, Magen, bei Erkrankungen vor, die mit einer Resorption von Knochensubstanz einhergehen. Die seither beobachteten Fälle²⁾ haben in ihrer überwiegenden Mehrzahl diese Auffassung bestätigt. Die beim Menschen beobachtete eigentümliche Lokalisation in Lunge, Niere, Magenschleimhaut und Arterien weist auf ein bestimmtes, die Kalkabscheidung begünstigendes Moment an diesen Orten hin. Wie Askanazy, dann Wells hervorheben, handelt es sich bei Lunge, Niere und Magenschleimhaut um Orte einer erheblichen Säureentziehung, und Hofmeister weist darauf hin, daß diese Deutung auch für die arteriellen, kohlensäurearmes Blut führenden Gefäße und Capillaren zulässig ist und mit den histologischen Befunden im Einklang steht.

Die oben mitgeteilten Sektionsbefunde an Tieren ergeben keine besondere Prädisposition der Lunge für die Kalkablagerung, und nur vereinzelt sind Verkalkungen in der Gefäßwand und der Niere verzeichnet. Hingegen könnte das so häufige Vor-

1) Virchows Archiv 8, 103, 1855.

2) Vgl. die ausführliche Literatur des Gegenstandes bei Askanazy, Beiträge zur Knochenpathologie. Festschrift für M. Jaffé. Braunschweig 1901, und das zusammenfassende Referat von Hofmeister in Asher-Spiros Ergebn. d. Physiol. 10, 444, 1910.

kommen von Ecchymosen in der Magenschleimhaut des Kaninchens mit den Kalkmetastasen des Magens beim Menschen in Beziehung gebracht werden.

Es wurde nun in verschiedener Weise versucht, bei Kaninchen und Hunden experimentell eine ähnliche typische Lokalisation der „Kalkmetastasen“ zu erzielen, wie sie beim Menschen beobachtet ist. Es wurde dabei versucht, neben der Calciumübersättigung auch eine Phosphatübersättigung des Körpers zu erzielen. Doch entsprach der Erfolg nicht den Erwartungen. Offenbar war es nicht gelungen, die für die Erzeugung von Metastasen notwendigen Bedingungen einzuhalten. Die an Hunden ausgeführten Versuche waren sämtlich von zu kurzer Dauer. Immerhin seien die einschlägigen Versuche kurz angeführt, weil sie teils die bisher mitgeteilten Befunde bestätigen, teils einen Ausblick nach anderer Richtung gewähren.

Versuch 40. Kleines Kaninchen erhielt am 25., 26., 27., 29., 30. XI. 1., 3. und 4. XII. 1909 je 5 ccm einer 5%igen Lösung von Calciumlactat ins Peritoneum und 5 ccm einer 1%igen Na_2HPO_4 -Lösung in die Ohrvene injiziert. Am 8., 9., 10., 13. XII. wurden je 10 ccm der gleichen Calciumlactatlösung intraperitoneal und je 5 ccm einer 2%igen Lösung von Natriumphosphat intravenös beigebracht. Das Tier ging am 14. Dezember 1909 zugrunde. Die sehr ausgedehnten Verkalkungen an der Bauchwand, dem Magen, Darm, Zwerchfell usw. boten dasselbe Bild wie in den oben angeführten Versuchen. Eine besondere Lokalisation in Lunge, Gefäßen, Nieren war nicht nachweisbar.

Versuch 41. Kleines Kaninchen erhielt am 25., 27., 30. XI., 2., 4., 7. XII. je 5 ccm, am 9., 13., 16., 18., 21., 23., 25., 27., 29., 31. XII. 1909, dann am 3. I. 1910 je 10 ccm einer 5%igen Calciumlactatlösung intraperitoneal, daneben am 26., 29. XI., 1., 3., 6. XII. je 5 ccm einer 1%igen Na_2HPO_4 -Lösung, dann am 8., 10., 14., 17., 20., 22., 24., 26., 28., 30. XII. 1909, 2. und 4. I. 1910 je 5 ccm einer 2%igen Calciumlactatlösung.

Der Befund vom 5. Januar ergab dieselben Veränderungen wie im vorigen Versuch, nur in etwas leichterem Grade.

Versuch 42. Hund, 6500 g schwer. Am 6. XII. 1910 ein Aderlaß von 200 ccm.¹⁾ Er erhielt am 18. XII. 1909 in der Narkose 170 ccm einer 2%igen Calciumlactatlösung allmählich durch die Vena cruralis. Nach einer 1½stündigen Pause wurden ihm 170 ccm einer äquivalenten Lösung von Na_2HPO_4 durch die andere Vena cruralis beigebracht. Das Tier macht nach Erholung von der Narkose einen kranken Eindruck,

¹⁾ Die Aderlässe, die in den Versuchen 42 bis 46 einige Zeit vor der Kalkinfusion gemacht wurden, dienten der Ermittlung des Calcium- und Phosphatgehalts des Blutes, doch soll über diesen Punkt in anderem Zusammenhange berichtet werden.

frißt nicht, entleert blutigen Harn und Kot. Am 19. morgens Hämatemesis, Darauf wird das Tier getötet. Befund: Magen enthält etwa 30 ccm Blut. In der Schleimhaut zahlreiche glänzend-schwarze, blasenförmig gefüllte Ecchymosen von der Größe eines Punktes bis zur Größe eines Marktstücks. In der Nachbarschaft unregelmäßige weiße Flecken. Invagination des Ileums in 8 cm Länge. Größere Ecchymosen am Colon descendens, zahlreiche punktförmige Blutungen an der Serosa des Darms. Blutungen in Leber, Nieren, Endocard, Lunge. Die Niere knirscht beim Schneiden.

Die mikroskopische Untersuchung ergab:

Magen, Darm, Leber und Milz: Keine Verkalkung.

Nieren: In einzelnen gewundenen und geraden Kanälchen, sowie auch in einigen Sammelröhrchen Verkalkung der Epithelien.

Herz: In einigen wenigen Muskelfasern beginnende Verkalkung.

Versuch 43. Hund, 8700 g schwer. Am 18. XII. 1910 Aderlaß von 200 ccm. Am 27. XII. 1910 Infusion von 150 ccm 2%iger Calciumlactatlösung, dann nach 1½ Stunden die gleiche Menge einer äquivalenten Menge Natriumphosphatlösung. Das Tier am 28. XII. getötet.

Befund: Kleine Ecchymosen im Magenfundus, eine einzelne Ecchymose im Duodenum; in der Leber einige kleine Ecchymosen, am rechten Lappen weiße Flecke. In der Milz unter der Kapsel kleine Kalkablagerungen, Ecchymosen im Herzen, vorzugsweise im linken Endocard, und in der Lunge.

Die mikroskopische Untersuchung ergab:

Magen: In der Submucosa und in der Subserosa geringe Kalkablagerung.

Darm: Keine Verkalkung.

Leber: In der Kapsel geringe Kalkablagerung.

Nieren: In einzelnen gewundenen und geraden Kanälchen, sowie auch in einigen Sammelröhrchen ziemlich reichliche Verkalkung der Epithelien.

Milz: In der Kapsel spärliche Kalkablagerung.

Herz: Stellenweise Verkalkung einzelner Muskelfasern und kleiner Muskelfasergruppen ohne Entzündung.

Versuch 44. Hund, 12800 g schwer. Aderlaß von 300 ccm, am 28. I. 1911. Am 15. II. 1911 Infusion von 230 ccm einer 2%igen Calciumlactatlösung durch die Cruralvene, dann nach 1½ Stunden von ebensoviel Kubikzentimetern einer äquivalenten Natriumphosphatlösung.

15 Stunden später am 16. II. 1911 wurde das Tier getötet.

Befund: Einige kleine Ecchymosen im Magen und Endocard.

Mikroskopisch:

Magen und Darm: Normal.

Leber: Stellenweise geringe Verkalkungen in der Kapsel.

Nieren: In den gewundenen und geraden Kanälchen, auch in einigen Sammelröhrchen Verkalkung der Epithelien.

Herz: Stellenweise Verkalkung einzelner Muskelfasern und Muskelfasergruppen. Im Endocard auch geringe Verkalkung.

Versuch 45. 10160 g schwerer Hund. Aderlaß von 200 ccm am 8. III. 1911. Am 15. III. 1911 Infusion von 230 ccm einer Na₂HPO₄-

Lösung, die einer 2%igen Calciumlactatlösung äquivalent ist, nach 1 Stunde dann 230 ccm der Calciumlösung selbst, beidemal durch die Vena cruralis.

Am 16. III. 1911. Hund schwach, leichte Diarrhöe und Hämaturie. 15 Stunden nach der Injektion Tötung des Tieres.

Befund: Niere knirscht beim Schneiden.

Mikroskopischer Befund:

Nieren: In den gewundenen und geraden Kanälchen hier und da Verkalkung des Epithels. Auch stellenweise Rundzelleninfiltration in der Nierenrinde, aber ohne Beziehung zu den Verkalkungen.

Milz: In der Kapsel stellenweise ganz geringe Verkalkung.

Herz: Stellenweise Verkalkung einzelner Muskelfasern und kleiner Muskelfasergruppen.

Während die an Kaninchen ausgeführten Versuche 40 und 41, wo das Kalksalz intraperitoneal, das Phosphat intravenös beigebracht wurden und die Tiere noch lange weiterlebten, dasselbe Bild wie nach Kalkzufuhr allein darboten, traten bei den Versuchen mit Infusion von Kalksalz und Phosphat bei Hund 42 und 45, wo die Tiere innerhalb 24 Stunden getötet wurden¹⁾, die Verkalkungen in den Hintergrund. Nur in den Nieren war es bereits in so kurzer Zeit konstant zu Kalkablagerungen gekommen. Hingegen boten die Tiere stets das Bild einer hochgradigen hämorrhagischen Diathese dar, wobei allerdings die Magenmucosa besonders stark betroffen war, andere Organe in so inkonstanter Weise, daß sich die Annahme eines regelmäßigen Auftretens dieser Veränderungen vorläufig verbietet. Ob die im Magen auftretenden Ecchymosen mit Kalkablagerungen zusammenhängen, war nicht zu entscheiden und bedarf weiterer Untersuchung.

III. Die chemische Zusammensetzung der experimentell erzeugten Verkalkungen.

Wie aus den Untersuchungen von G. Wells und seinen Mitarbeitern hervorgeht, entspricht die Zusammensetzung der pathologisch oder experimentell zustande gekommenen Verkalkungen in betreff des anorganischen Teils sehr annähernd der Zusammensetzung des Knochens. Sowohl die pathologisch verkalkten Gewebe, wie die in die Bauchhöhle von Kaninchen für längere Zeit eingebrachten Knorpel ergaben bei der Analyse etwa 85 bis 90% des Kalks in Form von Calciumphosphat

¹⁾ Dies geschah behufs Untersuchung des Blutes, s. oben.

und 10 bis 15% in Form von Calciumcarbonat. Natronseifen, in die Bauchhöhle von Kaninchen eingebracht, nahmen etwas Kalk auf, es bildeten sich neben Kalkseifen anorganische Kalksalze, die wiederum das gleiche Verhältnis von Carbonat und Phosphat aufwiesen. Ebenso erfuhren unter gleichen Verhältnissen eingeführte Kalkseifen teilweise eine Umwandlung in Phosphat und Carbonat, wobei wiederum das gleiche Verhältnis nachweisbar war. Wells schließt daraus, daß sich bei diesen Vorgängen stets ein Gleichgewichtszustand von Carbonat und Phosphat herstellt und bringt dafür dann weitere experimentelle Belege bei¹⁾.

Meine einschlägigen Versuche wurden ohne Kenntnis dieser Arbeiten ausgeführt. Sie hatten Prof. Hofmeister²⁾ noch vor Wells zu ganz ähnlichen Schlußfolgerungen geführt. Ich halte die Mitteilung meiner Versuche trotz der inzwischen erfolgten Publikation von Wells nicht für überflüssig, zumal sie die Frage des Gleichgewichts noch schärfer beleuchten.

Zunächst konnte ich mit Leichtigkeit feststellen, daß die Verkalkungen, die durch Beibringung von gelösten Calciumsalzen bewirkt waren, z. B. durch das von mir am häufigsten benutzte Calciumlactat, der Hauptsache nach aus Kalkphosphat bestanden. Es war dies eben so nach intraperitonealer Injektion beim Kaninchen, wie nach intramuskulärer Beibringung beim Hunde der Fall.

Bedenkt man, daß der Gehalt des Blutplasmas und der Lymphe an Alkalicarbonat weitaus den Gehalt an Phosphat übersteigt, daß daher in erster Reihe die Bildung von Calciumcarbonat zu erwarten ist, so hat diese Tatsache zunächst etwas Befremdendes. Sie weist darauf hin, daß Calciumcarbonat, falls es überhaupt entsteht, in Berührung mit den Körper-

¹⁾ G. Wells, Journ. of med. Research. 14, 401, 1905/6. — Wells und Benson, ebenda 17, 15, 1907. — Wells u. Mitchell, ebenda 22, 501, 1910.

Wells letzte Untersuchung erschien erheblich später als die Publikation des zusammenfassenden, meine Versuche mit berücksichtigenden Referats Hofmeisters in Asher-Spiro, Ergebnisse d. Physiol. 10, 1916. Bei dieser Gelegenheit sei eine Angabe berichtigt, die zu Mißverständnissen Anlaß geben könnte. Es heißt bei Hofmeister S. 451: „Wells fand im Glührückstand verkalkter Gewebe“. Dies ist insofern unrichtig, als Wells mit gutem Grunde die Bestimmung der Kohlen- und Phosphorsäure ohne vorgängige Veraschung ausgeführt hat. Nur die Calcium- und Magnesiumbestimmung wurden im Glührückstand ausgeführt.

²⁾ a. a. O., S. 452.

flüssigkeiten selbst in Phosphat übergehen dürfte. Zur Prüfung dieser Vorstellung habe ich verschiedene Versuche ausgeführt.

Zunächst wurde untersucht, ob in die Bauchhöhle vom Kaninchen eingebrachtes Calciumcarbonat Phosphorsäure aufnimmt.

Das in physiologischer Kochsalzlösung suspendierte völlig sterile Calciumcarbonat wurde intraperitoneal beigebracht, was die Tiere ohne merklichen Schaden vertrugen.

Die Tiere wurden nach 2 bis 5 Tagen getötet und das in der Bauchhöhle zurückgebliebene Kalksalz zur Analyse gebracht. Es fand sich teils noch in Pulverform vor, teils in Brocken und Klümpchen bis zur Erbsengröße, mehr oder weniger von fibrinösen Gerinnseln eingeschlossen. Die mit dem Spatel zusammengestrichenen Reste wurden zunächst mechanisch von anhaftenden organischen Massen befreit, dann andauernd mit Wasser gewaschen, schließlich getrocknet und gepulvert. Die Bestimmung der Phosphorsäure im Glührückstand¹⁾ geschah mittels molybdänsaurem Ammon. Die Kohlensäure wurde aus dem nicht-geglühten Material mit Schwefelsäure freigemacht und in titriertem Barytwasser aufgefangen. Die erhaltenen Zahlen sind nachstehender Tabelle zu entnehmen:

Tabelle IV.

Veruch Nr.	Das CaCO ₃ blieb in der Bauchhöhle Stunden	Trockengewicht der Probe g	Glührückstand Ca ₃ (PO ₄) ₂ + CaO g	P ₂ O ₅ g	= Ca ₃ (PO ₄) ₂ g	CO ₂ g	= CaCO ₃ g	Calciumphosphat : Calciumcarbonat in 100 Teilen
46	72	0,2874	(0,1268) ²⁾	0,0020	0,0044	—	—	} 1,32:98,18
		0,3700	(0,1631) ²⁾	0,0025	0,0055	—	—	
		0,0666	(0,0294) ²⁾	—	—	0,0237	0,0539	
		0,0871	(0,0384) ²⁾	—	—	0,0312	0,0710	
47	124	0,1812	0,0988	0,0035	0,0076	—	—	} 4,46:95,54 ³⁾ 3,68:96,32 ³⁾
		—	0,3320	0,0097	0,0212	—	—	
48	127	0,1874	(0,0796) ⁴⁾	0,0029	0,0063	—	—	} 4,43:96,57
		0,1872	(0,0796) ⁴⁾	0,0029	0,0063	—	—	
		0,2168	(0,0921) ⁴⁾	—	—	0,0684	0,1556	
		0,1756	(0,0746) ⁴⁾	—	—	0,0567	0,1290	
		0,1875	(0,0797) ⁴⁾	—	—	0,0597	0,1358	

¹⁾ Das Glühen geschah vor dem Gebläse bis zur Gewichtskonstanz, d. h. bis alles Carbonat in Calciumoxyd übergegangen war.

²⁾ Berechnet auf Grund der Glührückstandbestimmung von drei anderen Proben, die im Mittel 41,1% ergeben hatten.

³⁾ Berechnet aus dem Glührückstand unter der Voraussetzung, daß er ganz aus Ca₃(PO₄)₂ + CaO besteht.

⁴⁾ Berechnet auf Grund der Glührückstandbestimmung von zwei anderen Proben, die im Mittel 42,48% ergeben hatten.

Die gefundenen Werte zeigen, daß das in die Bauchhöhle des Kaninchens gebrachte Calciumcarbonat sich allmählich in Phosphat umsetzt. Möglicherweise sind die gefundenen Phosphatwerte um eine Spur zu hoch, da auf die etwaige Anwesenheit von Phosphatiden in den organischen Beimengungen des aus der Bauchhöhle wiedergewonnenen Materials nicht Rücksicht genommen werden konnte. Doch bestanden diese Beimengungen naturgemäß fast nur aus Eiweißstoffen, so daß diese Fehlerquelle nicht ernstlich in Betracht kommt.

Um sicher zu sein, daß die aufgetretene Phosphorsäure nicht bloß aus organischem Material, namentlich Nucleinstoffen, stamme, zumal da eine Einwanderung von Leukocyten in die eingebrachten als Fremdkörper wirkenden Carbonatmassen und deren nachträglicher Zerfall unter Freiwerden von Phosphorsäure denkbar erscheint, habe ich Calciumcarbonat, suspendiert in physiologischer Kochsalzlösung, in Schilfschläuche gefüllt und diese unter aseptischen Kautelen in die Bauchhöhle von Kaninchen gebracht. Da unter diesen Verhältnissen die Peritoneallymphe nur durch Diffusion eindringen, auch deren Einwirkung auf den Carbonatbrei nur an der Oberfläche des Schilfschlauches stattfinden konnte, so wurde eine entsprechend längere Versuchsdauer gewählt.

Es wurden zwei solche Versuche ausgeführt. Die Tiere vertrugen die nötige Operation völlig ohne Schaden. Eines wurde am 10., das andere am 21. Tage getötet. Die Schilfschläuche waren völlig intakt, der ursprünglich dünnbreiige Inhalt war durch Abgabe der Flüssigkeit bröcklig fest geworden. Die Phosphorsäure- und Kohlensäurebestimmung des erst mit Wasser gewaschenen, dann getrockneten Rückstandes ergab folgende Zahlen:

Tabelle V.

Versuch Nr.	Das CaCO ₃ blieb in der Bauchhöhle Tage	Trocken- gewicht g	P ₂ O ₅ g	= Ca ₃ (PO ₄) ₂ g	in % der Substanz	CO ₂ g	= CaCO ₃ g	in % der Substanz	Ca ₃ (PO ₄) ₂ :CaCO ₃ in 100 Teilen
49	10	0,2093	0,0009	0,0019	0,90	—	—	—	} 0,90:99,10
		0,2654	0,0011	0,0024	0,90	—	—	—	
		0,1903	—	—	—	0,0827	0,1879	98,77	
		0,2377	—	—	—	0,1038	0,2359	99,26	
		0,2318	—	—	—	0,1011	0,2298	99,15	
50	21	0,1732	0,0015	0,0033	1,92	—	—	—	} 1,99:98,01
		0,1745	0,0016	0,0035	2,06	—	—	—	

Trotz der relativ ungünstigen Aufnahmebedingungen war danach das im Schilfschlauch eingeschlossene Calciumcarbonat in merklicher Menge in Phosphat übergegangen. Die geringen Mengen diffusibler Phosphate in der Peritonealflüssigkeit genügen somit, um diese Umwandlung zu bewirken. Eine Mitwirkung kolloider Phosphorverbindungen des lebenden Gewebes scheint nicht notwendig, ist aber durch diesen Versuch nicht ausgeschlossen.

Es war nunmehr zu erwägen, ob nicht umgekehrt die in den Gewebsflüssigkeiten reichlich vorhandenen Carbonate einen analogen Einfluß auf eingebrachtes tertiäres Calciumphosphat ausüben.

Zur Prüfung dieser Vermutung wurde nachstehender Versuch ausgeführt.

Versuch 51. Reines, tertiäres Calciumphosphat wurde in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und aseptisch in die Bauchhöhle eines Kaninohens eingebracht. Das Tier wurde nach 3 Monaten getötet, das in Form von Körnern und kleinen Brocken noch vorhandene Kalksalz, das meist in gefäßarmes Bindegewebe eingebettet war, gesammelt, gut ausgewaschen, bei 80° getrocknet. 0,1779 g der Kalkmenge gaben bei Säureeinwirkung 0,00795 g CO₂, entsprechend 0,0181 g = 10,2% CaCO₃.

In diesem Versuche hatte, wohl infolge der feinen Verteilung des eingebrachten Kalkphosphats und der langen Versuchsdauer, in dem Maße eine Aufnahme von Kohlensäure bzw. Verdrängung von Phosphorsäure stattgefunden, daß die eingebrachte Substanz eine der Knochenerde ähnliche Zusammensetzung angenommen hatte.

Um weitere Beweise dafür zu erbringen, daß die Zusammensetzung der Kalkablagerungen von der Zusammensetzung der umspülenden Flüssigkeit abhängt, habe ich noch weitere Versuche in vitro ausgeführt.

In Versuch 52 wurde ein mit tertiärem Calciumphosphat gefüllter Schilfschlauch in eine 0,1%ige Lösung von Na₂CO₃ hineingehängt und 38 Tage bei 37° darin belassen.

In Versuch 53 wurde etwa die Hälfte des Schlauchinhalts von Versuch 52 unter gleichen Bedingungen für weitere 20 Tage in eine 0,3%ige Na₂CO₃-Lösung eingebracht.

In Versuch 54 wurde tertiäres Calciumphosphat mit einer Lösung, die 0,1% Na₂CO₃, 0,1% NaHCO₃ und 0,9% NaCl enthält, in einer Flasche zusammengebracht und unter oftmaligem Schütteln und täglichem Erneuern der überstehenden Lösung 12 Tage bei 37° gehalten.

Der Kohlensäure- und Phosphorsäuregehalt der Substanz nach Unterbrechung des Versuchs ist nachstehend verzeichnet.

Tabelle VI.

Ver- such Nr.	Konzen- tration der Na ₂ CO ₃ -Lsg.	Dauer der Einwirkung Tage	Substanz g	CO ₂ g	CaCO ₃ g	CaCO ₃ %	P ₂ O ₅ g	Ca ₃ (PO ₄) ₂ g	Ca ₃ (PO ₄) ₂ %
52	0,1%	38	0,2661	0,0108	0,0246	9,44	—	—	—
			0,0556	—	—	—	0,0233	0,0510	} 86,88
			0,0736	—	—	—	0,0303	0,0662	
			0,1085	—	—	—	0,0447	0,0976	
			0,0954	—	—	—	0,0398	0,0868	
			0,0741	—	—	—	0,0397	0,0671	
53	0,3%	(38 +) 20	0,2587	0,0192	0,0437	16,88	—	—	
			0,1890	—	—	—	0,0723	0,1590	} 83,86
			0,1539	—	—	—	0,0595	0,1291	
			0,1798	—	—	—	0,0693	0,1514	
54	0,1 Na ₂ CO ₃ 0,1 NaHCO ₃	12	0,2282	0,0123	0,0260	} 12,76	—	—	
			0,2575	0,0150	0,0341		—	—	—
			0,1654	—	—	—	0,0643	0,1406	} 85,19
			0,1532	—	—	—	0,0599	0,1308	

Die Zusammensetzung von Kalkphosphat, das in einer Natriumcarbonatlösung suspendiert ist, ändert sich, wie man sieht, ziemlich rasch. Der Endzustand hängt von der Konzentration der Carbonatlösung ab. Bei einem Gehalt von 0,1 Na₂CO₃ und etwas darüber, wie er etwa im Blutplasma gegeben ist, nähert er sich der Zusammensetzung der Knochen und Verkalkungen.

	CaCO ₃	Ca ₃ (PO ₄) ₂
Knochensubstanz	9,2—12,8	83,8—87,8
Versuch 52 (0,1% Na ₂ CO ₃) . . .	9,4	90,6
„ 54 (0,1% Na ₂ CO ₃ + 0,1% NaHCO ₃) . . .	12,8	85,2

Versuch 51, wo Calciumphosphat 3 Monate in der Bauchhöhle verweilt hatte, ergab, wie oben gezeigt, 10,2% Carbonat.

Wie Hofmeister auf Grund dieser Erfahrungen ausgeführt hat, ist die Konstanz in der Zusammensetzung der Knochensubstanz und der Verkalkungen nicht veranlaßt durch die Bildung einer bestimmten chemischen Verbindung, wie Hoppe-Seyler und andere anzunehmen geneigt waren, sondern vor allem durch den annähernd konstanten Carbonat- und Phosphorgehalt des Blutplasmas und der Lymphe. Zu gleichen Schlußfolgerungen

führen die interessanten Versuche von Wells und Benson, bei denen verschiedene Kalksalze in Agar suspendiert in die Bauchhöhle eingebracht wurden.

Daß trotz des Überwiegens der Carbonate in den Gewebeflüssigkeiten gegenüber den Phosphaten in den Verkalkungen die Phosphate bei weitem überwiegen, erklärt sich aus der geringeren Löslichkeit der Phosphate, wie Wells betont, aber auch aus der stärkeren Avidität der Phosphorsäure gegenüber der Kohlensäure.

Zur Frage nach der Existenzfähigkeit molekular asymmetrischer Storaxzimtsäuren.

Von

E. Erlenmeyer und G. Hilgendorff.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt
zu Dahlem bei Berlin.)

(Eingegangen am 6. Juli 1911.)

Mit 4 Figuren im Text.

Die Frage, ob ungesättigte Verbindungen in asymmetrischen *d*- und *l*-Modifikationen verbunden mit optischer Aktivität auftreten können oder nicht, ist für die Theorie der Doppelbindung von hervorragender Bedeutung. Die Frage ist nicht neu, sondern sie war bereits Gegenstand der Diskussion zwischen den beiden Begründern der Stereochemie van't Hoff und Le Bel. Letzterer neigte sehr der Ansicht zu, daß auch ungesättigte Verbindungen asymmetrisch auftreten könnten und hat selbst Untersuchungen in dieser Richtung angestellt, die jedoch ein entscheidendes Ergebnis nicht gehabt haben.

Da es seit Begründung der Stereochemie noch nicht gelungen ist, ungesättigte Verbindungen in optisch aktivem Zustand zu gewinnen, so war ich mir vor der Inangriffnahme der nachstehend mitgeteilten Versuche darüber klar, daß, wenn ungesättigte Verbindungen überhaupt optisch aktiv auftreten können, ihre Beständigkeit jedenfalls außerordentlich gering sein müsse, so daß sie bereits durch einen geringen Anstoß racemisiert würden. Danach konnte es nur unter besonderen Kautelen gelingen, ungesättigte Verbindungen in optisch aktivem Zustand zu konservieren.

Angenommen, die Zimtsäure vermag in zwei enantiomorphen Formen zu existieren, so hat man zu schließen, daß die aktiven von der Zimtsäure sich ableitenden Derivate mit asymmetrischen

Kohlenstoffatomen, wie die aktiven Zimtsäuredibromide, die Phenylhalogenmilchsäuren, die Phenylmilchsäuren usw., je einer der enantiomorphen Formen der Zimtsäure entsprechen.

Es wurde deshalb versucht, ausgehend von den beiden aus Storaxzimtsäure hergestellten, optisch-aktiven Phenyl- β -milchsäuren durch Wasserabspaltung unter Bedingungen, unter denen eine Racemisierung möglichst vermieden wird, zu den den aktiven Phenylmilchsäuren entsprechenden Zimtsäuren zu gelangen. Die genaue Untersuchung und Vergleichung der so gewonnenen Zimtsäuren mußte dann Aufschluß darüber geben, ob die Annahme der Existenz enantiomorpher Zimtsäuren gerechtfertigt erscheint oder nicht.

Die Herstellung der optisch aktiven Phenyl- β -milchsäuren aus Storaxzimtsäuren erfolgte nach der in Gemeinschaft mit meinen Schülern Rabbethge und Barkow ausgearbeiteten Methode.

Man stellt zuerst aus Storaxzimtsäure das Dibromid dar. Dieses wird durch Destillation mit Wasserdampf in d,l-Phenylbrommilchsäure übergeführt, die sodann nach der von mir angegebenen Vorschrift mit Hilfe von Cinchonin in d- resp. l-Phenylbrommilchsäure getrennt wird. Die beiden aktiven Phenylbrommilchsäuren werden, nach der Krystallisation aus Chloroform, der Reduktion mit Natriumamalgam unterworfen und die entstandene d- resp. l-Phenyl- β -milchsäure nach dem Ansäuern der Lösung mit verdünnter Schwefelsäure durch Ausäthern gewonnen. Die Reduktion ist beendet, wenn die angesäuerte Lösung beim Erwärmen den Geruch nach Phenyläthylaldehyd nicht mehr erkennen läßt.

Daß bei dieser Art der Bearbeitung ein Mitgehen von Cinchonin absolut ausgeschlossen ist, braucht kaum erwähnt zu werden.

Die prächtig krystallisierende Phenyl- β -milchsäure verliert sehr leicht beim Lösen in mäßig konzentrierter Salzsäure in der Wärme Wasser und geht dabei in die viel schwerer lösliche und mehr als 40° höher schmelzende Zimtsäure über.

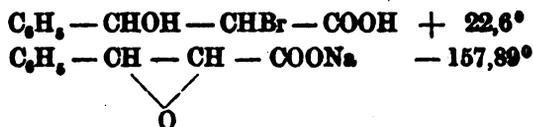
Bei einem ersten Versuche wurde eine noch von früher herstammende schön krystallisierte d-Phenylmilchsäure in der angegebenen Weise in Zimtsäure übergeführt. Die in der Kälte abgeschiedene Zimtsäure wurde filtriert und sodann in alko-

holische Lösung auf Drehungsvermögen untersucht, das um ca. 30' nach rechts gefunden wurde.

Dieses Resultat ermunterte zu weiteren Versuchen.

In der Folge wurden deshalb größere Mengen von d- und l-Phenylmilchsäure dargestellt und mit Salzsäure in die entsprechenden Zimtsäuren übergeführt, die sich meist als inaktiv erwiesen.

Bei Körpern mit geringem Drehungsvermögen ist es leicht möglich, daß die Aktivität nicht beobachtet werden kann, da die Lösung zu wenig aktives Material enthält. Einem solchen Fall war ich früher bei der Trennung der Phenyljodmilchsäure begegnet. Bei dem ersten Versuch schien den äußeren Anzeichen nach die Trennung wenigstens teilweise erfolgt zu sein, trotzdem konnte auch bei relativ starker Konzentration eine Aktivität mit Sicherheit nicht festgestellt werden. Da ich nun nachgewiesen hatte, daß das aus den aktiven Phenylhalogenmilchsäuren entstehende phenoxyacrylsäure Natrium sehr viel stärker dreht als diese, nämlich:



so dachte ich mir, daß auch die Phenyljodmilchsäure ein relativ geringes Drehungsvermögen besitzt, das erst bei Anwendung stärkerer Konzentrationen zur Beobachtung gelangt.

Da auch die Phenyljodmilchsäure leicht in phenoxyacrylsäures Natrium übergeht, so war zu erwarten, daß das aus der durch die Trennung gewonnene Phenyljodmilchsäure hergestellte phenoxyacrylsäure Natrium eine Drehung erkennen lassen würde, wenn überhaupt eine Trennung stattgefunden hatte.

Der Versuch lehrte, daß das so gewonnene phenoxyacrylsäure Natrium relativ stark drehte, woraus zu schließen war, daß die Phenyljodmilchsäure, wenn auch nicht vollständig, getrennt war. Nach vollständiger Trennung ergab sich $[\alpha]_D = 17^\circ$.

In solchen zweifelhaften Fällen ist die Überführung von schwach oder gar nicht drehenden Verbindungen in Derivate, die bekanntermaßen stärker drehen, sehr zu empfehlen, und wir wendeten diese Methode deshalb auch bei der Untersuchung der aus den aktiven Phenylmilchsäuren erhaltenen Zimtsäuren an.

Wie eingangs erwähnt, darf man bei den so erhaltenen Zimtsäuren im besten Falle mit Resten von Aktivität rechnen, die zudem bei weiterer Behandlung durch Racemisierung leicht verschwinden dürften.

Um diese ev. vorhandenen Reste von Aktivität festzuhalten, wurden die aus den aktiven Phenylmilchsäuren gewonnenen Zimtsäuren sogleich in die Dibromide verwandelt, diese dann durch Kochen mit Wasser in die Phenylbrommilchsäure übergeführt und endlich die aus ihnen gewonnenen phenoxyacrylsäuren Natriumsalze auf Aktivität geprüft.

Bei dem ersten Versuche wurde die aus l-Phenyl- β -milchsäure erhaltene Zimtsäure in ihr Dibromid verwandelt, 2,3 g von diesem mit Wasserdampf destilliert, die in Lösung befindliche Phenylbrommilchsäure wurde durch Behandlung mit Natronhydrat in phenoxyacrylsäures Natrium umgewandelt. Die erhaltene Lösung (40 cem) drehte im 2 dem-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes 4' nach rechts.

In der gleichen Weise wurde aus d-Phenylmilchsäure Zimtsäure, daraus 1 g Dibromid erhalten. Die Lösung des durch Umwandlung entstandenen phenoxyacrylsäuren Natriums drehte 2' nach links.

Bei weiteren in der gleichen Weise erhaltenen Lösungen von phenoxyacrylsäurem Natrium wurden Drehungen von $-8'$, $-15'$, $-25'$ festgestellt.

Diese Vorversuche lassen kaum einen Zweifel, daß die aus aktiven Phenylmilchsäuren entstehenden Zimtsäuren zu einem geringen Teil molekulare Asymmetrie besitzen müssen, die sich durch die Drehung der aus ihnen gewonnenen phenoxyacrylsäuren Natriumsalze zu erkennen gibt, und veranlaßten uns, nunmehr auch bei den Krystallen der Storaxzimtsäure auf Anzeichen asymmetrischer Ausbildung unser ganz besonderes Augenmerk zu richten.

Untersuchung der aus aktiver Phenyl- β -milchsäure erhaltenen Storaxzimtsäure auf asymmetrische Ausbildung ihrer Krystalle.

Bei dem Krystallisieren der Storaxzimtsäure war mir von Anfang an das Auftreten einzelner Krystalle mit asymmetrischer Ausbildung aufgefallen. In der Ansicht, daß die Storaxzimtsäure in asymmetrischen Krystallen auftreten könne, wurde ich

bestärkt durch das Urteil des Herrn Dr. Söllner, der einige Proben kleiner Kryställchen, die aus Bruoinsalzen der Zimtsäure dargestellt worden waren, untersucht hatte, das in seinem Schlußsatz den folgenden Wortlaut hat:

„Es spricht also in der Tat alles dafür, daß wir es hier mit zwei enantiomorphen Formen zu tun haben, die also der sphenoidischen Klasse (monoklin-hemimorphen Klasse) des monoklinen Systems angehören würden, ebenso wie die Rechts- und Links-Weinsäure.“

Da sich die Storaxzimsäure leicht in großen, gut ausgebildeten Krystallen ziehen läßt, habe ich, der Auffassung des Herrn Dr. Söllner entsprechend, Krystalle nach ihrem Rechts- resp. Linkscharakter auszulesen versucht und die Lösungen der Krystalle auf Drehung untersucht.

Die eine der Lösungen zeigte eine deutliche Drehung um ca. 30' nach rechts, während bei der anderen eine Drehung mit Sicherheit nicht zu erkennen war.

Nach dieser Beobachtung war es wünschenswert, die Untersuchung auf einer breiteren Basis weiter zu führen.

Ich betone nochmals, daß, wenn die Storaxzimsäure in molekular asymmetrischen Formen auftreten kann, diese sehr labil sein und sehr leicht in die nicht asymmetrische Form übergehen werden, so daß man im günstigsten Falle hoffen kann, die Storaxzimsäure zu einem kleinen Teil in den asymmetrischen Formen festzuhalten.

Herr Dr. Richarz hatte die Freundlichkeit, die von uns hergestellten Präparate der krystallographischen Untersuchung zu unterwerfen.

Bei einem aus Äther durch fraktionierte Krystallisation von natürlicher Storaxzimsäure erhaltenen Krystall ließ sich eine mit der beim Rohrzucker übereinstimmende Hemiedrie nachweisen. Bei wenigen anderen aus Äther erhaltenen Krystallen tritt das Klinodoma s in der Lage (021) und $(0\bar{2}1)$ an ein und demselben Individuum also nur auf einer Symmetriehälfte auf. Da diese Klinodoma aber bei anderen Krystallen an jeder Seite der Symmetriehälfte in der Lage (021) und $(0\bar{2}1)$ auftritt, so glaubt Herr Dr. Richarz, daß bei günstigen Krystallisationsbedingungen die Fläche s an allen 4 Kanten auftreten könnte.

Bei der schier unendlichen Zahl von Krystallisationen der Storaxzimtsäure, die wir im Laufe der Untersuchung hergestellt und zur Untersuchung gegeben haben, sollte man annehmen, daß die für das Auftreten der Fläche s an allen 4 Kanten günstigen Krystallisationsbedingungen mindestens einige Male vorhanden gewesen wären.

Außer der fraktionierten Krystallisation der natürlichen Storaxzimtsäure stellten wir Versuche an, durch Regeneration der Storaxzimtsäure aus aktiver Phenylmilchsäure Zimtsäurekrystalle zu erhalten, die, wenn auch vielleicht nur noch teilweise, Anzeichen von asymmetrischer Ausbildung zeigten.

Die krystallographische Untersuchung der aus d- resp. l-Phenylmilchsäure durch Wasserabspaltung erhaltenen Storaxzimtsäurekrystalle ergab, wie mir Herr Dr. Richarz mitteilte, daß ein Teil identisch mit der gewöhnlichen Storaxzimtsäure ist (Fig. 1), ein anderer Teil aber zeigte eine typisch asymmetrische Form, indem bei diesen letzteren Krystallen die Fläche s rechts oben und links unten, bzw. nach einer Drehung von 180° um die Symmetrieachse rechts unten und links oben auftrat (Fig. 2 u. 3).

Storax- α -zimtsäure.

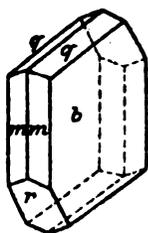


Fig. 1.
Von Kahlbaum
künstlich.

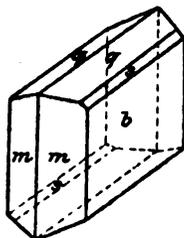


Fig. 2.
Aus rechtsdrehender
Phenylmilchsäure.

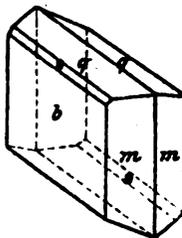


Fig. 3.
Aus linksdrehender
Phenylmilchsäure.

Da wir die asymmetrisch ausgebildeten Krystalle nur bei der Krystallisation der durch Zersetzung der aktiven Phenyl- β -milchsäure entstandenen Storaxzimtsäure erhalten konnten, so zweifeln wir nicht, daß diese besondere asymmetrische Ausbildungsart der Krystalle mit der Abtammung aus den aktiven Phenylmilchsäuren zusammenhängt.

Der Umstand, daß neben den asymmetrisch ausgebildeten Krystallen sehr viele die gewöhnliche Ausbildung der Storax-

zimtsäure (Fig. 1) mit der Fläche r und ohne die Fläche s besitzen, spricht zugunsten der Auffassung, daß die Storaxzimtsäure in ihrer asymmetrischen Lagerung äußerst labil ist und sehr leicht in die symmetrische Racemform übergeht.

Man kann daher kaum erwarten, die d - und l -Formen der Zimtsäure oder anderer ungesättigter Verbindungen jemals frei von der Racemform zu gewinnen, und wird sich deshalb auch mit der Ableitung geringer Drehungswinkel begnügen müssen.

Zur Bestätigung unserer Annahme, daß die asymmetrische Ausbildung der aus aktiver Phenylmilchsäure dargestellten Storaxzimtsäure mit ihrer Herstellung aus dem asymmetrischen Molekül der Phenylmilchsäure im Zusammenhang steht, regenerierten wir auch noch aus einem anderen optisch aktiven Derivat Zimtsäure und zogen, zur Untersuchung auf das Auftreten asymmetrischer Formen, meßbare Krystalle.

Als geeignetes Material für diesen Zweck kam besonders die Phenylbrommilchsäure in Betracht, die sich sehr leicht nach meinen Angaben in ihre Komponenten trennen läßt, viel leichter als z. B. das Zimtsäuredibromid. Da aber bisher eine direkte Umwandlung der Phenylbrommilchsäure in Zimtsäure noch nicht bekannt war, mußte erst eine Methode ausgearbeitet werden.

Bildung der Zimtsäure aus Phenylbrommilchsäure.

Es zeigte sich, daß ähnlich wie bei dem Zimtsäuredibromid durch Behandlung mit Zink und Alkohol das Brom, bei der Phenylbrommilchsäure, durch die gleiche Behandlung Brom und Hydroxyl unter Bildung von Zimtsäure herausgenommen werden.

Die Untersuchung des Reaktionsgemisches ergab aber, daß nur die Hälfte der angewandten Phenylbrommilchsäure in Zimtsäure, die andere Hälfte dagegen in Phenylmilchsäure übergeht. Wahrscheinlich findet bei der Einwirkung von Zink und Alkohol auf die Phenylbrommilchsäure zuerst Reduktion zu Phenyl- β -milchsäure statt, die dann zur einen Hälfte unter Wasserverlust in Zimtsäure übergeht.

Die Ausführung der Reduktion der Phenylbrommilchsäure geschieht wie folgt:

Man löst 36 g wasserfreie d,l -Phenylbrommilchsäure in 72 ccm Alkohol. Diese Lösung verteilt man gleichmäßig auf 8 Erlenmeyerkölbchen und gibt zu jedem Teil 9 g Zink-

spähe. Diese Verteilung geschah, um die nach 2 Minuten unter Aufkochen stattfindende Reaktion nicht zu heftig werden zu lassen. Nach dem Aufhören der Reaktionserscheinung wurde noch $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt.

Die alkoholische Lösung, welche die durch die Reduktion gebildeten Produkte enthält, wird von dem unverbrauchten Zink abgossen und dieses noch einigemal mit Alkohol gewaschen. Die vereinigten alkoholischen Lösungen gießt man hierauf in 1 l Wasser; dabei scheidet sich ein weißer amorpher, halogenfreier Niederschlag, das Zinksalz der bei der Reaktion gebildeten Zimsäure, ab.

Zur Gewinnung der Zimsäure daraus wird das Zinksalz mit verdünnter Salzsäure und Äther geschüttelt. Die nach dem Verjagen des Äthers gewonnene Säure schmolz nach der Kristallisation aus Wasser direkt bei 134 bis 135°, war halogenfrei und besaß die Eigenschaften der zur Darstellung der d,l-Phenylbrommilchsäure benutzten Storaxzimsäure.

Die aus 36 g der letzteren Säure erhaltene Menge Zimsäure betrug nur 11,1 g. Da auch bei den anderen Darstellungen nicht mehr Zimsäure erhalten werden konnte, die theoretisch erwartete Menge Zimsäure aber 21,4 g beträgt, so mußte neben der Zimsäure noch eine andere Säure entstanden sein.

Die in dem Filtrat des zimsauren Zinks noch gelöst enthaltenen Zinksalze wurden daher durch Zusatz von Salzsäure zersetzt und die in Freiheit gesetzten Säuren mit Äther extrahiert.

Die Ätherauszüge hinterlassen nach dem Vertreiben des Äthers eine zuerst ölige, jedoch im Vakuum bald fest werdende Substanz von dem Verhalten der Phenyl- β -milchsäure.

Nach dem Umkrystallisieren aus Äther-Ligroin schmolz die in Nadeln krystallisierte Säure bei 92 bis 93° und gab bei der Verbrennung die für Phenyl- β -milchsäure berechneten Werte.

0,1255 g gaben 0,2990 CO₂ und 0,0698 H₂O.

	Ber. für C ₉ H ₁₀ O ₂ :	Gef.:
C	65,06	64,98
H	6,02	6,17

Die Menge der erhaltenen Phenylmilchsäure betrug 11,5 g. Die aus 36 g Phenylbrommilchsäure theoretisch mögliche Menge

ist 24,4 g. Da auch bei anderen Versuchen die gleichen Mengen von Zimtsäure und Phenylmilchsäure erhalten wurden, ist zu schließen, daß genau die Hälfte der angewandten Phenylbrommilchsäure in Zimtsäure, die andere in Phenylmilchsäure ohne Bildung anderer Körper übergeht. Für diesen Reaktionsverlauf berechnet sich Zimtsäure + Phenylmilchsäure 23,0 g, während 22,6 g gefunden wurden. Die Reaktion verläuft daher quantitativ nach der Gleichung:



ohne andere Nebenprodukte.

Versuche, die bei der Reaktion neben Zimtsäure sich bildende Phenylmilchsäure unter anderen Reaktionsbedingungen zu umgehen, haben zu dem gewünschten Resultat bisher noch nicht geführt.

Darstellung der den beiden aktiven Phenylbrommilchsäuren entsprechenden asymmetrischen Storaxzimtsäuren.

Die Versuche mit der racemischen Phenylbrommilchsäure haben ergeben, daß bei der Reduktion dieser Säure mit Zink und Alkohol die Hälfte in Zimtsäure, die andere Hälfte in Phenylmilchsäure übergeht, und zwar verläuft die Reaktion in diesen beiden Richtungen, wie die erhaltenen Mengen von Zimtsäure und Phenylmilchsäure erkennen lassen, unter quantitativer Umsetzung der Phenylbrommilchsäure ohne irgendwelche andere Nebenprodukte.

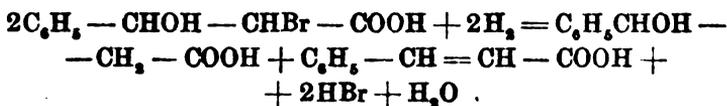
Die Reduktionsversuche mit den beiden optisch aktiven Phenylbrommilchsäuren führen genau zu dem gleichen Resultat, daß nämlich ohne die Bildung anderer Produkte die Hälfte der angewandten aktiven Phenylbrommilchsäure in Zimtsäure, die andere in Phenylmilchsäure übergeht, welche letztere natürlich, ihrer Abstammung aus aktiver Phenylbrommilchsäure entsprechend, optisch aktiv ist.

Es ist deshalb nicht möglich, daß die alkoholische Lösung der aktiven Phenylbrommilchsäure nach der Reduktion völlig inaktiv wird.

Da die höchsten bei den aktiven Phenylbrommilchsäuren und Phenylmilchsäuren zu beobachtenden Drehwerte durch die Untersuchungen von Erlenmeyer, Barkow und Rabbethge¹⁾

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 788, 1906.

bekannt geworden sind, so läßt sich, unter Zugrundelegung der Gleichung:



berechnen, um welchen Betrag der Drehungswinkel einer zur Reduktion verwendeten Lösung von aktiver Phenylbrommilchsäure, deren Drehung bestimmt wurde, nach Verlauf der obigen Gleichung entsprechenden Reaktion abgenommen haben muß, wenn die Drehung allein auf die gebildete Phenylmilchsäure zurückgeführt werden soll.

Nach der Dissertation von C. Barkow¹⁾ dreht eine 5%ige Lösung d-Phenylmilchsäure im 1 dcm-Rohr + 57' und eine 2,5%ige Lösung von d-Phenylbrommilchsäure im 1 dcm-Rohr + 34'.

Die zu einem Versuch angewandte Lösung von 32 g aktiver d-Phenylbrommilchsäure, die 84 ccm betrug und daher 38,1% enthielt, drehte vor der Reduktion + 5° 46'. Nach dieser Drehung muß die Lösung 25,4% höchstdrehende Phenylbrommilchsäure neben 12,7% der Racemverbindung enthalten. Von diesen in 100 ccm Lösung enthaltenen 25,4 g d-Säure geht, wie bei allen Versuchen gefunden wurde, nur die eine Hälfte in aktive Phenylmilchsäure über, die andere in Zimtsäure. Nach der Reduktion muß, laut Rechnung und nach der angeführten Gleichung, die Lösung 8,6% d-Phenylmilchsäure und 7,7% eventuell aktive Zimtsäure, beide an Zink gebunden, enthalten.

Eine 8,6%ige d-Phenylmilchsäurelösung muß nach Barkow 98' drehen, vorausgesetzt, daß nicht ein bedeutender Unterschied in der Drehung zwischen freier d-Phenylmilchsäure und ihrem Zinksalz besteht.

Um darüber etwas zu erfahren, wurde eine Phenylmilchsäurelösung von vorher bestimmter Drehung mit Zinkcarbonat in das Zinksalz verwandelt und dessen Lösung wieder polarisiert. Es zeigte sich, daß die Zinksalzlösung fast um die Hälfte weniger dreht als die ihr entsprechende Lösung der freien Säure.

Danach mußte also die Drehung der ursprünglich vorhandenen Phenylbrommilchsäure nach der Reaktion mit Zink, das Drehungsvermögen des gebildeten zimtsauren Zinks als = 0

¹⁾ Stereochemische Studien. Inaug.-Diss. 1906, S. 29 und 20.

vorausgesetzt, weniger als 98' drehen. Der erste Versuch in dieser Richtung ergab aber das sehr überraschende Resultat, daß die obige Lösung von dem Drehwert $+5^{\circ}46'$ nicht, wie zu erwarten war, nach der Reduktion auf einen weniger als 98' betragenden Drehwert herabgegangen war, daß vielmehr der Drehwert nach der Reduktion, trotzdem die Hälfte der aktiven Phenylbrommilchsäure in die angeblich inaktive Zimtsäure übergegangen war, noch den Drehwert der ursprünglichen Phenylbrommilchsäure aufwies, statt $5^{\circ}46'$ $5^{\circ}5'$.

Daß hier keine Täuschung vorliegt, ergibt sich aus den folgenden in ganz der gleichen Weise ausgeführten Versuchen.

1. Versuch.

Eine Lösung der nämlichen d-Phenylbrommilchsäure in Alkohol, Vol. 42 ccm, drehte im 1 dem-Rohr $+5^{\circ}46'$.

Nach der Reduktion und Auffüllung auf das ursprüngliche Volumen $+5^{\circ}1'$.

2. Versuch.

Eine Lösung von 32 g l-Phenylbrommilchsäure in Alkohol, Vol. 84 ccm, drehte im 2 dem-Rohr $-8^{\circ}55'$.

Nach der Reduktion und Auffüllung auf das ursprüngliche Volumen $-9^{\circ}23'$.

3. Versuch.

Eine Lösung von 42 g d-Phenylbrommilchsäure in Alkohol, Vol. 84 ccm, drehte im 1 dem-Rohr $+3^{\circ}24'$.

Nach der Reduktion und Auffüllung $+3^{\circ}34'$.

4. Versuch.

Eine Lösung von 17 g l-Phenylbrommilchsäure in Alkohol, Vol. 45 ccm, drehte im 1 dem-Rohr $-4^{\circ}38'$.

Nach der Reduktion und Auffüllung $-4^{\circ}1'$.

Man sieht aus diesen Versuchen, daß die Lösung nach der Reduktion entweder gleich, in einzelnen Fällen sogar stärker drehte, als vor der Reduktion. Da die Versuche beweisen, daß dieses außerordentlich hohe Drehungsvermögen der Lösungen nach der Reduktion durch die entstandene Phenylmilchsäure nicht erklärt werden kann, so muß man annehmen, daß neben dem aktiven phenylmilchsauren Zink auch aktives zimtsaures Zink nach der Reduktion in der Lösung enthalten ist.

Ausführung der Reduktion und Verarbeitung der Lösung nach der Reaktion.

Bringt man die aktive Phenylbrommilchsäurelösung in der bei der Reduktion der inaktiver Säure geschilderten Weise mit Zink zusammen, so steigt alsbald die Temperatur, nach wenigen Minuten tritt eine lebhafte Reaktion unter Aufkochen der Lösung ein (die Temperatur der kochenden Lösung betrug 80°), die jedoch nach etwa 1 Minute vollständig vorüber ist, was durch den Rückgang der Temperatur leicht festzustellen ist.

Um zu erfahren, ob das nachträgliche Erwärmen auf dem Wasserbad noch einen Effekt ausübt, wurden zwei Vergleichsversuche angestellt.

Diese ergaben, daß eine $+3^{\circ}24'$ drehende Lösung direkt nach Beendigung der Reaktion $+3^{\circ}34'$, nach noch weiterem Erwärmen auf dem Wasserbad $3^{\circ}12'$ drehte. Da sich direkt nach der Reaktion unveränderte Phenylbrommilchsäure nicht mehr nachweisen läßt und man nach dem Resultat der Vergleichsversuche annehmen darf, daß durch das Erwärmen auf dem Wasserbad nach vollendeter Reaktion eine Veränderung im Reaktionsgemisch nicht mehr vor sich geht, wurde deshalb bei den weiteren Reduktionen von dem Erwärmen auf dem Wasserbade abgesehen und die Lösung, nachdem von der Reaktionswärme nichts mehr zu bemerken war, gleich weiter verarbeitet.

Bei allen Versuchen wurde die Lösung nach Auffüllung auf das ursprüngliche Volumen polarisiert.

Alsdann gießt man die alkoholische Lösung in Wasser, wobei sich, ganz wie bei den Versuchen mit der inaktiven Säure, das Zinksalz der entstandenen Zimtsäure als unlöslicher Niederschlag abscheidet, der nach der Filtration so lange mit Wasser ausgewaschen wird, bis sowohl das Waschwasser als der Niederschlag, für sich geprüft, die Anwesenheit von Halogen nicht mehr erkennen läßt. Zur Verdrängung des Wassers und zur Entfernung eines dem Zinksalz manchmal anhaftenden Geruchs wird der abgesaugte Niederschlag mit Äther geschüttelt, sodann abgesaugt und getrocknet.

Das nunmehr farb- und geruchlose trockne Zinksalz besitzt nur mehr eine minimale Löslichkeit in Alkohol; es erscheint deshalb nicht unwahrscheinlich, daß das ursprüngliche in der

alkoholischen Lösung vorhanden gewesene Zinksalz bereits bei der Abscheidung durch Wasser eine Veränderung erfahren hat.

Da es uns bisher nicht gelungen ist, das durch Abscheidung mit Wasser erhaltene und quantitativ von phenylmilchsaurem Zink und Bromzink getrennte zimtsaure Zink zur Prüfung auf Aktivität wieder in Lösung zu bringen, so mußten wir die an das Zink gebundene Zimtsäure abscheiden und auf ihr Drehungsvermögen untersuchen.

Nach der vorsichtigen Zerlegung des Zinksalzes durch verdünnte Schwefelsäure und Aufnahme der freien Zimtsäure in Äther wurde bei allen Versuchen, bei denen von aktiver Phenylbrommilchsäure ausgegangen worden war, deutlich optisch aktive ätherische Zimtsäurelösungen erhalten, die in der gleichen Richtung drehten, wie die zu ihrer Darstellung angewandte aktive Phenylbrommilchsäure.

Bei den einzelnen Versuchen wurden die folgenden Drehungswinkel abgelesen.

1. Versuch.

Lösung nach der Reduktion $+5^{\circ}5'$ (1 dm-Rohr) lieferte nach der geschilderten Bearbeitung auf freie Zimtsäure 82 cem einer ätherischen Zimtsäurelösung, die im 2 dm-Rohr $+18'$ dreht. Es berechnet sich daraus approximativ: $[\alpha]_D = +1^{\circ}48'$.

2. Versuch.

Lösung nach der Reduktion $-9^{\circ}25'$ (2 dm-Rohr) drehend, lieferte 95 cem ätherische Zimtsäurelösung, die im 2 dm-Rohr $-13'$ drehte.

3. Versuch.

Lösung nach Reduktion $+3^{\circ}34'$ (1 dm-Rohr) drehend, lieferte 93 cem ätherische Zimtsäurelösung, die im 2 dm-Rohr $29'$ drehte.

Zur Gewinnung der Zimtsäuren aus ihren ätherischen Lösungen wurde der Äther im Vakuum vor Licht geschützt verdunstet. Aus allen aktiven Zinksalzen wurde Storax- β -zimtsäure erhalten. Da bei der Zersetzung der Zinksalze jegliche Erwärmung, die bekanntlich sehr leicht den Übergang von Storax- α - in Storax- β -zimtsäure zur Folge hat, ausgeschlossen war, so muß man annehmen, daß in den auf dem geschilderten Wege abgeschiedenen Zinksalzen die Storaxzimtsäure in ihrer β -Form enthalten ist.

Wie früher¹⁾ erwähnt wurde, lagert sich die Storax- β -zimtsäure am raschesten beim Lösen in absolutem Alkohol in die Storax- α -säure um.

Man löst deshalb die beim Verdunsten der aktiven Zimtsäurelösungen zurückbleibende Storax- β -säure in absolutem Alkohol und läßt diese Lösung innerhalb einiger Tage freiwillig verdunsten.

Sehr bemerkenswert ist die Beobachtung, daß die Drehung der in der ätherischen Lösung als β -Säure vorhandenen Säure in der absolut alkoholischen Lösung schließlich auf 1 bis 2° abnimmt.

Beim langsamen Verdunsten der alkoholischen Lösung wurden prächtige Storax- α -zimtsäurekrystalle erhalten, die bei 134 bis 135° schmolzen und bei der Analyse die folgenden Werte ergaben:

0,1135 g gaben	0,3026 CO ₂	und	0,0565 H ₂ O.
	Ber. f. C ₉ H ₉ O ₂		Gef.
C	72,97		72,71
H	5,41		5,53

Von solchen aus aktiver Phenylbrommilchsäure erhaltenen Storaxzimtsäurekrystallen hat früher bereits Herr Dr. Richarz einige Präparate untersucht und konnte auch bei diesen Präparaten die durch die rechts oben und links unten liegenden Flächen σ asymmetrisch erscheinende Krystalle auffinden, wie vorher bei den aus der d- bzw. l-Phenylmilchsäure erhaltenen Storax- α -zimtsäurekrystallen.

Neuerdings haben wir bei einer Darstellung von Storax- α -zimtsäure aus d-Phenylbrommilchsäure bei der langsamen Krystallisation aus absolutem Alkohol durch Verdunsten eine auffallend große Menge typisch hemiedrisch ausgebildeter Krystalle erhalten, die die Fläche τ nur auf der einen Seite besitzen, deren Umrisse durch die beigefügte Figur 4 wiedergegeben sind.

Zur Feststellung der Hemiedrie durch eingehende kristallographische Untersuchung reichte das bisher gewonnene Material nicht aus.



Fig. 4.

Nach diesen Resultaten zweifeln wir nicht mehr, daß die Storaxzimtsäure in sehr labilen, äußerst leicht racemisierbaren,

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1584, 1906.

molekular asymmetrischen Modifikationen auftreten kann, die man aber ihrer Labilität wegen nur in kleinen Rudimenten neben der Racemform, durch kleine Drehungswerte und durch die teilweise hemiedrische Ausbildung der Krystalle zu beobachten Gelegenheit haben wird. Eine Darstellung der aktiven Formen frei von Racemform halten wir bis jetzt für unmöglich.

Die mitgeteilten Versuche sind als die ersten Pionierarbeiten auf diesem schwierigen Gebiet zu betrachten, doch hoffen wir, bald weitere Beiträge zu dieser wichtigen und höchst interessanten Frage liefern zu können. Die Fachgenossen bitten wir, uns die Bearbeitung der Zimtsäure und ihrer Derivate weiterhin überlassen zu wollen.

Auch die Trennung der Zimtsäure durch Alkaloide, die bisher noch zu keinem entscheidenden Resultat geführt hat, wollen wir nach einem etwas anderen Verfahren von neuem in Angriff nehmen.

Über die aus den aktiven Phenylbrommilchsäuren erhaltenen Mengen von Phenylmilchsäure und Zimtsäure.

Aus den Filtraten der Zinksalze der aktiven Zimtsäure wurde, wie bei dem Versuch mit der Racemsäure, die Phenylmilchsäure, jedoch in aktiver Form, abgeschieden. Nach der obigen Gleichung berechnet, soll man aus 36 g Phenylbrommilchsäure 12,2 g Phenylmilchsäure und 10,9 g Zimtsäure erhalten.

Die gefundenen Mengen sind die folgenden:

1.	36 g	$C_6H_5O_2Br$	gaben	12,1 g	$C_6H_5O_2$,	11 g	$C_6H_5O_2$
2.	17 „	„	„	4,8 „	„	3,8 „	„
3.	32 „	„	„	9,2 „	„	8,7 „	„
4.	32 „	„	„	9,5 „	„	9,0 „	„

Diese Werte zeigen, daß es sich hier um eine konstant nach obiger Gleichung verlaufende Reaktion handelt.

Anmerkung. Die in den Abhandlungen Bd. 34, 386—416 mitgeteilten experimentellen Ergebnisse wurden ausschließlich im chemischen Laboratorium der Kaiserl. Biolog. Anstalt, während die in der Abhandlung Bd. 34, 306—353 mitgeteilten in meinem früheren Laboratorium in Straßburg i. E. und die in den Abhandlungen Bd. 34, 355—385 und Bd. 35, 134—148 teils in dem zuletzt, teils in dem zuerst genannten Laboratorium gewonnen wurden.

Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten.

Von

Emil Erlenmeyer.

[Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem bei Berlin.]

(Eingegangen am 6. Juli 1911.)

Mit 30 Figuren im Text.

Die voranstehend mitgeteilten Versuche lassen in der Tat vermuten, daß Äthylenderivate entgegen den bisherigen Vorstellungen unter geeigneten Bedingungen in sehr labilen, molekular asymmetrischen Modifikationen existieren können.

Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß die Annahme der Existenz molekular asymmetrischer Äthylenderivate weit davon entfernt ist, das stolze Gebäude unserer Stereochemie in ihren Grundfesten zu erschüttern, um so weniger, als Le Bel von vornherein mit dieser Möglichkeit rechnete. In der zweiten Auflage der van't Hoff'schen Broschüre S. 3 lesen wir: „Bei der Kohlenstoffdoppelbindung jedoch tritt die Möglichkeit einer Divergenz auf. Auch hier sind vier Gruppen gebunden, und für Le Bel ist von vornherein über deren Lage nur so viel gegeben, daß eins der beiden Paare dem einen, das andere dem zweiten Kohlenstoff am nächsten liegt. Äthylenderivate können deshalb eventuell ohne alle Symmetrie im Molekül und somit aktiv sein. Bei Durchführung meiner tetraedrischen Gruppierung kam ich zu dem Schluß, daß die vier bezeichneten Gruppen mit dem Kohlenstoffatom in einer Ebene befindlich sind, die also gleichzeitig Symmetrieebene in allen Äthylenderivaten ist, optische Isomerie kann also nicht vorhanden sein. In dieser Beziehung hat Le Bel seine Meinung

zunächst zu meinen Gunsten geändert, kommt davon jedoch neuerdings wieder zurück.“

Wie eine Skizze, die das Objekt in seinen Hauptzügen wiedergibt, durch Einfügung der intimeren Merkmale zum fertigen Bild wird, so muß sich auch eine gute Theorie, der wohlgeordneten Skizze gleich, nach Entdeckung neuer Tatsachen modifizieren lassen, so daß sie nach Einfügung der aus den neuen Tatsachen sich ergebenden feineren Merkmale uns schließlich ein getreues Bild der Beziehungen aller Tatsachen zueinander liefert. Mit anderen Worten, eine gute Theorie muß entwicklungsfähig sein.

Wie die folgenden Betrachtungen ergeben, besitzt die Le Bel-van't Hoff'sche Theorie diese Entwicklungsfähigkeit, und es fällt nicht schwer, nach Modifizierung der Theorie in bestimmter Richtung auch die neu aufgefundenen Tatsachen durch sie zu erklären und weitere neue Isomeriefälle vorauszusehen.

1. Substanzen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen.

Körper mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen von der allgemeinen Formel $C(R_1R_2R_3)C(R_4R_5R_6)$ waren, der bisherigen Theorie entsprechend, in vier verschiedenen Modifikationen aufgefunden worden. Wie aber van't Hoff in seiner ersten Auflage S. 6 gezeigt hat, sollte man eigentlich für diesen Fall 12 Isomere erwarten, da jede der 4 durch die verschiedene Stellung der Radikale an der Gruppe $C-C$ ausgezeichneten Isomeren durch Drehung um die gemeinsame Achse noch die folgenden Lageverschiebungen erfahren können.

Der Einfachheit halber sind in den folgenden Figuren 1 bis 3 die sechs Plätze der Radikale durch Gerade miteinander verbunden, so daß die möglichen, durch Drehung um die $C-C$ -Achse auseinander hervorgehenden Modifikationen als dreiseitige Prismen erscheinen.

Diese durch die Drehung bewirkten intramolekularen Lageverschiebungen entsprechen vollständig den in den allgemeinen theoretischen Betrachtungen über labile Isomerie der gleichen Struktur gekennzeichneten und als notwendigerweise existierend vorausgesehenen Lageverschiebungen bei strukturgleichen Verbindungen und müssen, wie dort ausgeführt wurde, von größeren oder geringeren Eigenschaftsunterschieden begleitet sein.

Je nach der größeren oder geringeren Anziehung, die die übereinanderliegenden Radikale aufeinander ausüben, müssen solche Moleküle in Form von labilen oder stabileren Modifikationen von verschiedenem Energieinhalt und verschiedener Reaktionsgeschwindigkeit unter geeigneten Bedingungen existenzfähig sein, indem die Teile des Moleküls in diesen neuen gegenseitigen Lagen zur Ruhe kommen.

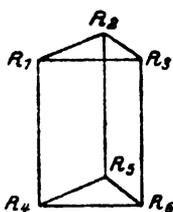


Fig. 1.

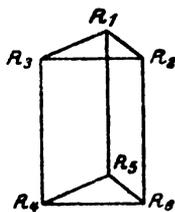


Fig. 2.

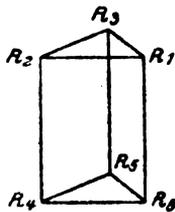


Fig. 3.

Daß für die Existenz solcher weiteren nach van't Hoff denkbaren Modifikationen bisher kaum Anhaltspunkte aufgefunden wurden, wird darin seinen Grund haben, daß solche isomere Modifikationen in den gewöhnlich bestimmten Eigenschaften, wie Schmelzpunkt und wohl auch in der Krystallform, sehr geringe Verschiedenheit zeigen und deshalb durch Bildung von Mischkrystallisationen der Auffindung leicht entgehen können.

Immerhin möchte ich die folgenden Beobachtungen anführen, die die Existenz solcher Isomeren wahrscheinlich erscheinen lassen.

1. Nach genauer Feststellung der krystallographischen und optischen Konstanten des aus der Storax- α -zimtsäure hergestellten Dibromids wurde auch von der energiereicheren Storax- β -zimtsäure das Dibromid gewonnen und der krystallographischen Untersuchung unterworfen. Außerlich lassen sich die beiden Dibromide kaum unterscheiden. Am gleichen Thermometer schmilzt das β -Dibromid 3° tiefer als das α -Dibromid. Die krystallographische Untersuchung des Herrn Dr. Richarz ergab in den äußeren Winkeln nur sehr geringe Unterschiede, der Winkel β war bei den β -Dibromidkrystallen nur etwas über 1° , der optische Achsenwinkel um mehr als 7° größer als bei dem Dibromid der Storax- α -zimtsäure.

2. Die schon früher bekannten Tatsachen, daß das Dibromid der Zimtsäure nicht einheitlich beim Erhitzen mit Wasser zersetzt wird, sondern gegen gleiche Teile einerseits in Phenylbrommilchsäure, andererseits in CO_2 und Bromstyrol, und ferner, daß das phenylglycoisaurische Natrium bei der Zersetzung mit verdünnter Schwefelsäure zum Teil in Phenylglycerinsäure, zum Teil in CO_2 und Phenyläthylaldehyd übergeht, ganz besonders aber die bei der Reduktion von Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol von uns aufgefundene Tatsache, daß hierbei die Hälfte in Zimtsäure, die andere Hälfte in Phenylmilchsäure übergeht; diese Tatsachen lassen sich vielleicht am besten auf das gleichzeitige Vorhandensein verschieden rasch reagierender isomerer Modifikationen der besprochenen Art in den zersetzten asymmetrischen Zimtsäurederivaten zurückführen.

Unter der Voraussetzung, daß die zu den Versuchen verwendete Phenylbrommilchsäure ein einheitlich krystallisierendes Gemisch zweier derartiger Modifikationen vorstellt, muß die in erster Reaktionsphase entstehende Phenylmilchsäure gleichfalls aus zwei verschieden leicht reagierenden und energieverchiedenen Modifikationen bestehen, von denen nur die eine, nicht aber die andere leicht Wasser abspaltet, die sich durch die beiden Modelle (Fig. 4 u. 5) darstellen lassen.

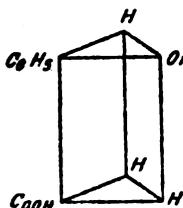


Fig. 4.

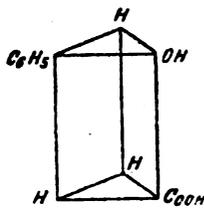


Fig. 5.

3. Die Existenz von zwei verschiedenen Apfelsäuren, nämlich der gewöhnlichen und einer zweiten von A. Mayer¹⁾ und Aberson²⁾ beschriebenen in den Crassulaceen vorkommenden Apfelsäure. Über die Resultate der Untersuchung von Aberson

¹⁾ Landwirtschaftliche Versuchsstationen 21, 277; ebenda 30, 217 und 51, 335.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 1432.

hat seinerzeit van't Hoff, dem die Präparate zugeschiedt worden waren, in der Deutschen chemischen Gesellschaft berichtet. Existiert eine zweite isomere Äpfelsäure, so kann deren Existenz, wie dies auch Mayer und Aberson getan haben, nur durch Modelle, die denen der beiden Phenylmilchsäuren analog sind, erklärt werden.

4. Bezeichnet man die durch Drehung um die gemeinschaftliche Achse auseinander hervorgehenden Modifikationen als α - β - γ -Modifikationen, so kann man nicht im Zweifel sein, daß den in den α - β - γ -Modifikationen vorhandenen verschiedenen Stellungen der Radikale auch ein verschiedener Drehwert entsprechen muß, so daß solche Modifikationen natürlich auch rechts- oder linksdrehend sein können.

Die überaus merkwürdige Beobachtung Waldens¹⁾, daß l-Chlorbernsteinsäure bei der Behandlung mit KOH d-Äpfelsäure, mit AgOH dagegen l-Äpfelsäure geben soll, erscheint mir dann verständlich, wenn die durch die verschiedenen Basen erhaltenen Äpfelsäuren solche durch Drehung aus der gleichen Äpfelsäure hervorgegangene je nach der Stellung durch die Buchstaben α , β , γ zu bezeichnende Modifikationen vorstellen. Ich beabsichtige, die Stichhaltigkeit dieser meiner Vermutung in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Hilgendorff durch das Experiment zu prüfen.

Diese Betrachtungen wurden angestellt, um zu zeigen, daß die stereochemische Theorie sehr wohl imstande ist, durch weiteren Ausbau noch weitere subtilere Isomeriefälle zu erklären, und zwar ganz entsprechend dem in der theoretischen Einleitung der ersten Abhandlung skizzierten Sinne.

Die soeben für die mögliche Existenz solcher Isomeren angeführten Argumente sind zwar noch unzureichend, ich hoffe jedoch, durch weitere Untersuchungen neues Beweismaterial beibringen zu können.

2. Isomere Äthylenderivate.

Die van't Hoff'sche geometrische Auffassung der Äthylenderivate läßt für diese unter keinen Umständen mehr als zwei Isomere zu. Durch den Nachweis von drei labilen Zimtsäuren der Isoreihe und die Auffindung von vier isomeren

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 1841, 1899.

Modifikationen der Zimtsäurereihe ist der Beweis geliefert, daß die geometrische Auffassung nicht haltbar ist, daß man vielmehr in Übereinstimmung mit Le Bel auch bei Äthylenderivaten eine verschiedene räumliche Anordnung der Teile des Moleküls zulassen muß.

Die in der ersten Abhandlung über labile Isomerie mitgeteilte Arbeitshypothese, die das Verhältnis der beiden Iso- und der Allozimtsäure zueinander erklären sollte und die an der Hand der damals bekannten Tatsachen aufgestellt worden war, konnte durch unsere späteren Untersuchungen nicht bestätigt werden. Diese Hypothese war in engem Anschluß an die van't Hoff'sche Anschauung geometrisch-isomerer Äthylenderivate aufgestellt worden und ließ neben den geometrischen auch zwei enantiomorphe, räumliche Isomere erwarten. Durch unseren Nachweis, daß die Liebermann'sche Isozimtsäure nicht eine Komponente der Allozimtsäure ist, mußte die Hypothese in dieser Form fallen gelassen werden.

Trotzdem war ich nie im Zweifel, daß die labilen Zimtsäuren der Isoreihe nur durch eine räumliche Betrachtungsweise erklärt werden können.

Nachdem in der voranstehenden Abhandlung eine genügende Menge von Anzeichen aufgefunden worden sind, die eine räumliche Auffassung vollauf gerechtfertigt erscheinen lassen, will ich im folgenden die, nach Wiederlegung der geometrisch-räumlichen Auffassung der Äthylenderivate, meines Erachtens allein mehr übrigbleibende rein räumliche Auffassung entwickeln.

Diese ergibt sich ganz leicht und folgerichtig, wenn wir uns von der in keiner Weise bewiesenen und auch nicht beweisbaren Vorstellung frei machen, daß in den Äthylenderivaten und anderen Verbindungen mit sogenannter Doppelbindung zwei mehrwertige Elemente durch zwei völlig gleichberechtigte Bindungen, deren Kraftrichtungen nach dem van't Hoff'schen Modell einen Winkel bilden sollen, miteinander verknüpft seien, und zu der früheren Auffassung von unbesetzten Affinitätsstellen, wie auch Hinrichsen¹⁾ kürzlich vorgeschlagen hat, zurückkehren.

¹⁾ Liebigs Annalen 336, 168, 1906.

Die bisherige Doppelbindung hätte man dann zu schreiben:



die Zimtsäure z. B.:



Für die bisherigen als geometrisch isomer betrachteten Zimtsäuren erhält man dann die beiden folgenden Modelle: (Fig. 6 u. 7).

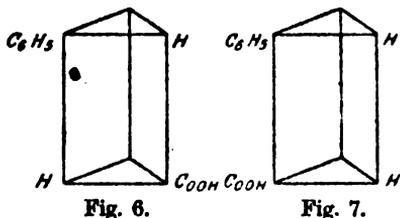


Fig. 6.

Fig. 7.

Bei diesen Modellen liegen die 4 Gruppen, wie bei den früheren geometrischen, in einer Ebene. Zum Unterschied von diesen liegen jedoch die 4 Gruppen in einer anderen Ebene, als die beiden Kohlenstoffatome. Die Modelle haben also einen räumlichen Sinn und müssen in Spiegelbildern auftreten können.

Nimmt man nun weiter an, daß so wie bei den gesättigten Verbindungen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen, auch hier durch Drehung um die gemeinschaftliche Achse, der verschiedenen Anziehung der Radikale entsprechend, neue Ruhelagen zu erwarten sind, so ergeben sich für jede der obigen Modifikationen noch je zwei weitere lageverschiedene Modifikationen, also im ganzen 6, wie die folgenden Modelle (Fig. 8 bis 13) zeigen.

Diese 6 Modifikationen müssen sich entsprechend den in den verschiedenen Stellungen wirksamen, anziehenden resp. abstoßenden Kräften, die die verschiedenen Radikale aufeinander ausüben, durch verschiedene Stabilität und durch einen verschiedenen Gehalt an potentieller Energie auszeichnen. Der labilste Gleichgewichtszustand muß natürlich den größten, der stabilste den geringsten Energieinhalt besitzen. Durch Wärmezufuhr werden die stabileren Modifikationen unter Aufnahme von Energie zunächst in die weniger stabile und dann in die labilste Modifikation überführbar sein. Kommen die Atome

des Körpers in der labilsten Lage zur Ruhe, so wird es möglich sein, den Körper in dieser Lage so lange zu erhalten, bis ein Anstoß die Veranlassung zu stärkeren Oszillationen um die labile Gleichgewichtslage gibt, die dann schließlich zu einer Rückkehr zunächst in die stabilere und endlich in die stabilste Gleichgewichtslage führt.

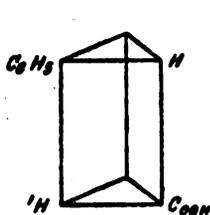


Fig. 8.

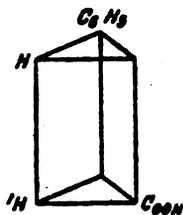


Fig. 9.

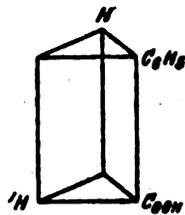


Fig. 10.

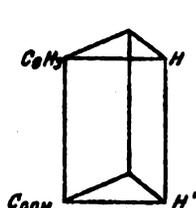


Fig. 11.

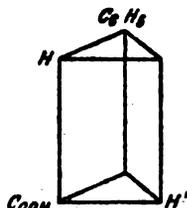


Fig. 12.

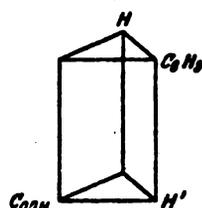


Fig. 13.

Das eben geschilderte Verhalten derartiger Moleküle läßt sich aus den Modellen folgern; wie man sieht, stimmt es sehr genau mit den bei den labilen Zimtsäuren der Isoreihe gemachten Erfahrungen überein.

Da auch die Modelle 9, 10, 12, 13 räumlich sind, so müssen sie gleichfalls im spiegelbildlichen Modifikationen auftreten können. Bei den zuletzt bezeichneten Modellen liegen die 4 Radikale auf den Ecken asymmetrischer Tetraeder. Sieht man von den unbesetzten Affinitäten ab und bildet sich die Modelle mit, gleichsam dreiwertigen, Kohlenstoff, für dessen Darstellung das gewöhnlich für Stickstoff benutzte Modell verwendet werden kann, so stellen sich die enantiomorphen Modifikationen in der folgenden Weise dar (Fig. 14 bis 21).

Man hat also, wie bei den Verbindungen mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen 12 räumlich verschiedene Modifikationen zu erwarten.

Die Modelle 14, 15 und 20, 21 sind in der räumlichen Verteilung der 4 Radikale und der beiden Kohlenstoffatome den räumlich dargestellten Stickstoffverbindungen, bei denen, wie in der Hippursäure, z. B. 3 verschiedene Radikale an das dreiwertige Stickstoffatom gebunden sind, analog.

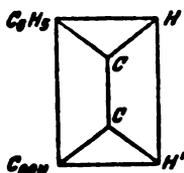


Fig. 14.

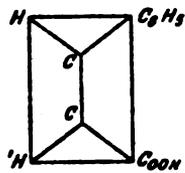


Fig. 15.

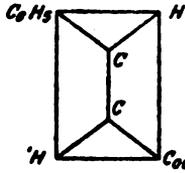


Fig. 20.

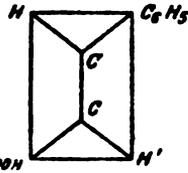


Fig. 21.

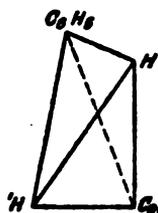


Fig. 16.

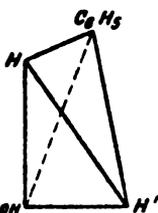


Fig. 17.

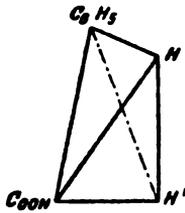


Fig. 22.

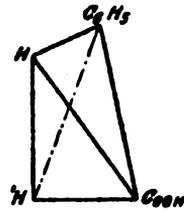


Fig. 23.

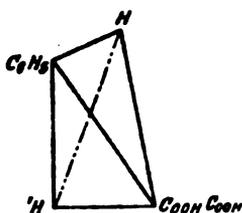


Fig. 18.

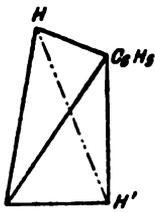


Fig. 19.

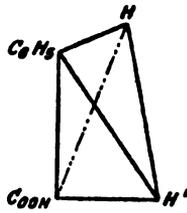


Fig. 24.

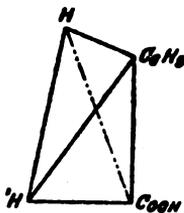


Fig. 25.

Da bei diesen unzweifelhaft auch räumlich aufzufassenden Stickstoffverbindungen optische Aktivität noch niemals aufgefunden wurde, kann es zweifelhaft sein, ob die diesen Modellen entsprechenden asymmetrischen Moleküle Aktivität und Enantio-morphie der Krystalle besitzen werden.

Dagegen hat man anzunehmen, daß bei den den Modellen 16 bis 19 und 22 bis 25 entsprechenden Modifikationen mit der Asymmetrie der Moleküle, entgegengesetzte Hemiedrie und sehr wahrscheinlich auch Aktivität, verbunden ist. Bei den

bisher bekannten optisch aktiven Verbindungen liegen der Theorie nach 4 unter sich verschiedene Radikale auf den Ecken eines an sich als regulär gedachten Tetraeders, wodurch dieses in Verbindung mit den 4 verschiedenen Radikalen asymmetrisch wird. Bei den hier entwickelten räumlich asymmetrischen Athylenverbindungen dagegen ist das durch die Lage der 4 Radikale gegebene Tetraeder als solches asymmetrisch, von den 4 Radikalen aber sind 2 einander gleich, die bei Besetzung eines regulären Tetraeders Symmetrie und damit auch Inaktivität zur Folge haben würde.

Soweit die Theorie; nun handelt es sich darum zu zeigen, was sie gegenüber den bei den Zimtsäuren aufgefundenen Tatsachen zu leisten vermag.

Betrachtet man die prismatischen Modelle 8 bis 13, so erkennt man leicht, daß die Cis-trans-Konfiguration, die man der stabilen Zimtsäure zuerteilt hat, in dem Modell 8 zum Ausdruck kommt.

Da von allen Zimtsäuren die Storax- α -zimtsäure die stabilste ist, so muß man, wenn das Modell 8 dieser Säure entspricht, folgern, daß die größte Stabilität bei den Zimtsäuren erreicht wird, wenn die negativen Gruppen C_6H_5 bzw. COOH über oder unter je einem Wasserstoffatom stehen und alle 4 Gruppen in einer Ebene liegen. In Modell 9 haben sich die beiden Wasserstoffatome von den beiden negativen Gruppen entfernt, in diesem Modell sind die Verbindungslinien C_6H_5 , H' und H , COOH länger als in dem Modell 8.

Von den 4 Radikalen liegen nur mehr drei in einer Ebene das vierte jedoch in einer anderen Ebene. Bei Modell 10 zeigen die beiden Wasserstoffatome die gleiche Entfernung von den negativen Radikalen, diese selbst aber die größte, mögliche Annäherung. Diesem Modell muß die labilste Modifikation entsprechen, die nur durch Energieaufwand aus den anderen zu erhalten sein wird, da die verschiedene Stabilität von der verschiedenen gegenseitigen Lage der gleichen Radikale abhängen muß.

Wenn Modell 8 der Storax- α -zimtsäure entspricht, müssen natürlich die Modelle 11 bis 13 den labilen Zimtsäuren der Isoreihe entsprechen.

Wenn die Labilität und Stabilität von der gegenseitigen Entfernung der 4 Gruppen abhängt, so muß auch unter diesen Modellen dasjenige, in dem die beiden negativen Gruppen

einander am nächsten stehen, d. i. Modell 11 der labilsten Modifikation, der Isosäure (E.) entsprechen, während das Modell 13, in dem die negativen Gruppen die gleiche Lage wie in Modell 1 aufweisen, der stabilsten, unter den labilen Isomeren der Isoreihe, nämlich der Allozimtsäure entsprechen, das Modell 12 stellt dann die in der Isosäure Liebermann vorhandene Gruppierung dar, die, da hier COOH und H übereinander stehen, stabiler als 11, aber labiler als 13 sein muß.

Keht man zu den Modellen 8 bis 10 zurück, so wird man das Modell 9 als den Ausdruck der labileren Storax- β -säure ansprechen dürfen, die aus der α -Säure durch Erhitzen, d. h. durch Wärmezufuhr, unter Energieaufnahme, entsteht. Das Modell 10 endlich, das 3 Gruppen in der Stellung der Isosäure (E.) enthält, muß die labilste Modifikation dieser Reihe vorstellen.

Da die triklone Zimtsäure, die allerdings bisher nur zweimal erhalten werden konnte, einen höheren etwa bei 80° liegenden Schmelzpunkt besitzt, so halte ich es für wahrscheinlich, daß die triklone Zimtsäure, die bis auf die Stellung eines Wasserstoffatoms mit der Isosäure (E.) übereinstimmt und neben dieser und der Isosäure (L.) aufgefunden wurde, so daß sie sich aus der Isosäure (E.) gebildet haben kann, durch das Modell 10 ihren Ausdruck findet. Die asymmetrische Lage der 4 Gruppen in diesem Modell könnte sehr wohl durch die triklone Ausbildung der Krystalle angedeutet sein.

Weiter ist die Theorie imstande, uns die bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure erhaltenen Resultate verständlich zu machen.

Wie schon erwähnt, läßt sich die Tatsache, daß nur die Hälfte der Phenylbrommilchsäure unter denselben Bedingungen in Zimtsäure verwandelt wird, die andere Hälfte dagegen bei der Bildung der Phenylmilchsäure stehen bleibt, durch die primäre Bildung von zwei verschiedenen leicht Wasser abspaltenden Phenylmilchsäuren erklären.

Die außerordentlich starke Drehung der alkoholischen Lösungen nach der Reduktion, die, wie gezeigt, nicht durch die bei der Reduktion neben der Zimtsäure gebildete aktive Phenylmilchsäure erklärt werden kann, der Umstand ferner, daß das durch Wasser abgeschiedene Zinksalz der β -Zimtsäure, wie die Erfahrung gelehrt hat, in Alkohol nicht mehr löslich ist, und

endlich die Erfahrung, daß die aus dem Zinksalz abgeschiedene Storax- β -zimtsäure direkt nach der Abscheidung eine deutliche Aktivität besitzt, die aber ziemlich rasch, besonders nach der Umwandlung in die Storax- α -zimtsäure, sehr viel geringer wird, läßt sich verstehen, wenn man annimmt, daß in dem alkohol-löslichen Zinksalz die dem Modell 10 entsprechende Zimtsäure enthalten ist, die dann die stärkste Drehung besitzen muß. Bei der Abscheidung des Zinksalzes durch Wasser hat man dann einen Rückgang dieser labilsten Form in die zweitlabilste Form, die Storax- β -zimtsäure, die, der veränderten Stellung der für die Größe der Drehung wichtigsten Radikale entsprechend, weniger stark dreht und endlich durch Krystallisation aus absolutem Alkohol in die stabilste, der Stellung der Radikale nach am schwächsten drehende Storax- α -säure übergeht.

Endlich ist vorauszusehen, daß sich die molekular asymmetrischen Zimtsäuren durch einfachen Wechsel der die Bindung herstellenden Affinitäten mit den unbesetzten Affinitäten, wie nebenstehende Zeichnung erkennen läßt (Fig. 26 u. 27), sehr leicht racemisieren können, weshalb man wohl nie asymmetrische Zimtsäuren, die frei von der Racemverbindung sind, erwarten darf.



Fig. 26.

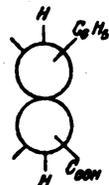


Fig. 27.

Die aus der Theorie sich ergebenden Betrachtungen sind also sehr wohl imstande, die bei den Zimtsäuren aufgefundenen Isomeren dem Verständnis näher zu bringen.

Es wird durch die Theorie nicht nur die Existenz der 6 aufgefundenen Zimtsäuren:

Storax- α - und β - und trikline Zimtsäure,
Isosäure E. und L. und Allozimtsäure,

sondern auch das Auftreten hemiedrischer Formen, wie sie bisher bei der Isosäure (L.), der Allosäure und der Storaxsäure beobachtet worden sind, erklärt.

3. Acetylderivate.

Nimmt man bei den Äthylenderivaten statt der doppelten Bindung unbesetzte Affinitäten und räumliche Anordnung an, so muß man dies folgerichtig auch bei den Acetylderivaten tun.

Die Phenylpropionsäure ist daher zu schreiben:

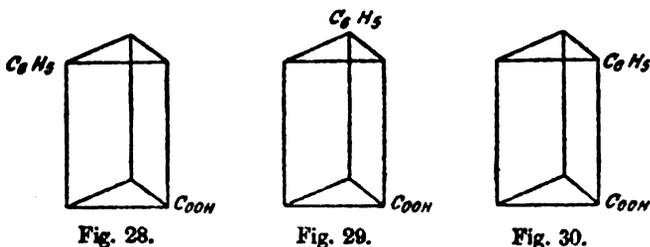


Im Modell betrachtet, ist es wahrscheinlich, daß sich das Phenylpropionsäuremolekül nur in einer Ruhelage der Anziehungskraft von C_6H_5 und COOH entsprechend einstellt.

Während die van't Hoff'sche Auffassung der Phenylpropionsäure bei dem Übergang in Zimtsäure oder deren Derivate durch Addition von H_2 , HBr und Br_2 unter keinen Umständen mehr als 1 Additionsprodukt, und zwar nur das der Isozimtsäurereihe angehörende, zuläßt, hat die Erfahrung bei diesen Additionen gelehrt, daß entweder unter gleichen oder unter verschiedenen Reaktionsbedingungen 2 der Zimtsäure und der Isozimtsäure entsprechende Isomere entstehen.

Mit der Annahme freier Affinitäten lassen sich diese nach dem van't Hoff'schen Modell unerklärlichen Tatsachen leicht verständlich machen.

Ob bei der Phenylpropionsäure auch asymmetrische Lagen existieren können, entsprechend den folgenden Modellen (Fig. 28 bis 30), muß durch das Experiment entschieden werden.



4. Benzolderivate.

Die Untersuchungen über die Storax- und Heterozimtsäure haben den einwandfreien Beweis geliefert, daß die Ursache der Isomerie der beiden Säuren und der ihnen entsprechenden Benzaldehyde in der Fähigkeit des Benzolkerns, in verschiedenen Zuständen zu existieren, zu suchen ist.

Auf die Existenz verschiedener Zustände bei Benzolderivaten hat zuerst v. Baeyer hingewiesen (Ges. Schriften 2, 100 u. 257). Seitdem sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, die gleichfalls

nur durch die Existenz labiler, ineinander umwandelbarer Benzolderivate erklärbar sind¹⁾).

Einen besonders weitgehenden Einblick in die bei solchen zustandsisomeren Benzolderivaten, von denen ich bisher zwei Reihen deutlich unterscheiden konnte, die ich als Storax- und Heteroreihe bezeichne, auftretenden Erscheinungen haben die in der 2. bis 5. Abhandlung mitgeteilten Beobachtungen ermöglicht.

Die Untersuchung hat ferner gelehrt, daß die der Storax- und die der Heteroreihe angehörenden Modifikationen in Mischungen, von wahrscheinlich gleichen Teilen, auftreten, die ihres einheitlichen Verhaltens wegen nur zu häufig als Mischungen nicht erkannt werden dürften.

Soviel steht fest, daß die neue Auffassung der Athylen-derivate auch eine neue Auffassung des Benzols zur Folge haben wird und auch bei Benzolderivaten subtilere Isomere, die nicht durch die bisher geltende Benzolformel erklärt werden können, erwarten läßt.

Wie an der Hand der Modelle leicht zu sehen ist, können bei Annahme unbesetzter Affinitäten 8 verschiedene Benzole existieren. Außerdem muß man aber auch die Benzolformeln mit diagonalen Bindungen und die Formel von Sachse in der ihr von Bloch gegebenen Form berücksichtigen.

Das bisher vorliegende Material ist jedoch nicht ausreichend, um schon heute in eine ausführlichere Besprechung der Isomeriemöglichkeiten einzutreten.

Durch Kombination mehrerer Doppelbindungen oder von Benzolkernen mit Doppelbindungen steigt natürlich die Anzahl der denkbaren, durch geringe Lageverschiedenheit ihrer Teile ausgezeichneten Modifikationen außerordentlich rasch. Je geringer die Lageverschiedenheit, um so geringer die Eigenschaftsunterschiede. Je größer die Anzahl der in ihrer Lage

¹⁾ H. Kauffmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 1725, 1900; 34, 682, 1901; 35, 473, 1902; 40, 508, 1908; 41, 4396 u. 4412, 1909. — D. Vorländer, ebenda 39, 808, 1907; 46, 1415, 1906, 1970, 4527, 1908; 41, 2033, 1909); 42, 3930, 1910; 43, 3120, 1911. — Hantzsch, ebenda 43, 1661 u. 1662, 1911. — Hantzsch und Lister, ebenda 43, 1665, 1911. — Knoevenagel, ebenda 40, 508, 1908. — Stobbe, ebenda 44, 1481, 1911. — Schaum, Chem.-Zeitg. 34, 417, 1910.

variablen Gruppen in einem Molekül wird, um so unmöglicher wird die Unterscheidung und Trennung derartiger lageverschiebender Modifikationen sein.

Bei dem Eiweißmolekül darf man, der großen Menge lagerungsvariabler Gruppen entsprechend, annehmen, daß es in jedem Zeitmoment und unter den verschiedenen Bedingungen aus verschiedenen Gemischen solch labiler isomerer Modifikation besteht. An die Abscheidung einer einzelnen, in bezug auf die Lage sämtlicher Atome übereinstimmenden Modifikation ist nicht mehr zu denken. Der Begriff, den wir uns von einem einfachen chemischen Individuum gebildet haben, trifft bei Molekülen wie dem Eiweiß nicht mehr zu, kommt vielmehr dem, den wir uns von einem lebenden Organismus zu machen haben, näher.

5. Schluß.

Die Annahme von der Energieaufnahme bei dem Übergang der stabilen Zimtsäuren in die labilen ist nicht etwa eine Hypothese, sondern stellt eine aus dem einzig denkbaren Erklärungsprinzip für Isomerie sich ergebende, unabweisbare Folgerung dar.

Wenn die Isomerie auf die verschiedene Lagerung der Teile des Moleküls zurückzuführen ist, so versteht es sich ganz von selbst, daß der Übergang aus dem stabilen in den labilen Gleichgewichtszustand, so wie dies bei den Zimtsäuren beobachtet wurde, nur durch Energiezufuhr möglich ist, und daß die aufgewandte Energie als potentielle Energie in das labile Molekül mit übergehen muß.

An dem Modell betrachtet, findet der Übergang der labilen in die stabile Modifikation durch Drehung um die die beiden Kohlenstoffatome verbindende gemeinschaftliche Achse statt. Der Vorgang läßt sich vergleichen mit dem Aufziehen eines Uhrwerkes; bei diesem wird die Uhrfeder durch Verwendung der Muskelkraft, bei asymmetrischen ungesättigten und sehr wahrscheinlich auch allen asymmetrischen gesättigten Molekülen findet durch Wärmestöße die Überführung in den energiereicheren Zustand statt.

Solche asymmetrischen Moleküle, die in labilen und stabilen energieverchiedenen Modifikationen existieren können, müssen für das Leben der Pflanze, die ja die meisten solcher asymmetrischen Moleküle enthält, von großer ökonomischer Bedeutung

sein. Die der Pflanze durch das Sonnenlicht, wahrscheinlich auch noch in anderer Form zugeführte Energie wird zum Teil für die in der Pflanze sich abspielenden chemischen Prozesse verwendet, der Überschuß dagegen wird zur Folge haben, daß alle in der Pflanze vorhandenen asymmetrischen Moleküle und Molekülverbände in den labilsten, aber energiereichsten Zustand übergehen. Die Pflanze erhält dadurch eine innere Energiequelle, deren gelegentlicher teilweiser Verbrauch meist sofort durch von außen zugeführte Energie ersetzt wird, deren völliger Verbrauch aber vermutlich ernste Störungen im Leben der Pflanze zur Folge haben dürfte.

Bei der Beurteilung des normalen bzw. krankhaften Zustandes lebender Organismen wird man daher in Zukunft nicht mehr allein den Stoffwechsel, sondern auch den Energiewechsel der den Organismus aufbauenden asymmetrischen Moleküle berücksichtigen müssen.

Indem ich diese theoretischen Betrachtungen über die Isomerie bei ungesättigten und wahrscheinlich auch gesättigten asymmetrischen Verbindungen der wohlwollenden Beurteilung der Fachgenossen unterbreite, bin ich mir wohl bewußt, daß, wie dies naturgemäß nicht anders möglich ist, die Theorie in vielen Punkten den Tatsachen vorseilt. Sie wird, wie eingangs angeführt wurde, als Skizze zu betrachten sein, aus der durch Einfügen der feineren Züge erst allmählich das vollständige Bild entsteht.

Wer aber meine Ausführungen vorurteilsfrei studiert, wird zu der Überzeugung kommen, daß es sich hier nicht etwa um gewagte Spekulationen handelt, sondern ganz im Gegenteil um die einzig denkbare, folgerichtige Weiterentwicklung unserer bisherigen Isomerieauffassung, die den Zweck hat, die bereits sehr zahlreichen Fälle von den nach der bisherigen Form der Isomerielehre nicht erklärbaren Isomeren nach dem einzig möglichen, bewährten Prinzip, der Lageverschiedenheit, zu erklären.

Außer der verschiedenen Zusammensetzung kommt allein die verschiedene gegenseitige Lage der Teile des Moleküls als eigenschaftsbestimmender Faktor in Betracht. Verschiedener Energiegehalt ist ohne verschiedene Stellung der Atome zueinander nicht denkbar, daher von dieser abhängig. Verschiedene Bewegung zur Erklärung von Isomerie heranzuziehen, ist ohne

die Annahme von Lageverschiebungen und der davon abhängigen Eigenschaftsverschiebungen nicht möglich.

Auch die früher öfter versuchte Zurückführung der Isomerie auf die verschiedene sog. Wertigkeit bestimmter Affinitäten ist abhängig von der Lage, da es einleuchtend ist, daß alle symmetrisch zueinander liegenden Affinitäten gleich-, die unsymmetrisch im Molekül verteilten Affinitäten dagegen verschiedenwertig sind.

Wenn diese Mitteilung den Erfolg hat, daß auch von anderer Seite dem Studium kleiner Eigenschaftsunterschiede, zwecks Feststellung subtilerer Isomeren, eine größere Beachtung geschenkt wird und diese Eigenschaftsunterschiede nicht mehr, ohne Untersuchung, durch die Verunreinigungshypothese erklärt werden, so wird meine Bemühung, auf diesem äußerst schwierigen Gebiet vorzudringen, reichlich belohnt sein.

Das Studium der isomeren Zimtsäuren und ihrer Derivate jedoch bitte ich mir auch weiterhin zu überlassen.

Sobald die Untersuchung noch weiter geführt sein wird, behalte ich mir vor, eine ausführliche Darlegung der im Sinne von Pasteur und Le Bel erweiterten Theorie zu geben.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes kleinster Milchmengen.

Von

Alois Kreidl (Wien) und Emil Lenk (Wien).

(Eingegangen am 25. Juli 1911.)

Es ist bekannt, daß durch Äther allein der Kuhmilch kein Fett entzogen werden kann. Der eine (Kreidl) von uns hat in Gemeinschaft mit A. Neumann¹⁾ der Vermutung Ausdruck gegeben, daß das Fett sich deshalb nicht löst, weil es von Caseinultrateilchen umgeben ist.

Für diese Vermutung sprach auch die Tatsache, daß das Fett der Frauenmilch, in der keine Ultrateilchen erkennbar sind, ohne weiteres in Äther löslich ist. Liesegang²⁾ meint nun, daß man trotz dieser Feststellungen nicht anzunehmen braucht, daß in der Milch schon vor deren Behandlung mit Äther die Caseinteilchen in geschlossener Form die Fetttropfen umhüllen, sondern daß der Äther eine Agglutination des Caseins bedingen kann und erst so einen Abschluß gegenüber dem Fett herbeiführt. Tatsächlich fällt der Äther das in kolloidaler Emulsion befindliche Casein, wie dies schon früher ultramikroskopisch gesehen wurde.

Die Bemerkung Liesegangs²⁾ hat uns veranlaßt, neuerdings dieser Frage nachzugehen und das Verhalten einer Reihe fettlösender Mittel zum Casein zu versuchen. Zunächst konnten wir feststellen, daß der Äther das Casein nur dann fällt, wenn es sich in einer Emulsion befindet, dies aber nicht tut, wenn dasselbe entweder durch Lauge oder durch Säure gelöst

¹⁾ A. Kreidl und A. Neumann, Über die ultramikroskopischen Teilchen der Milch. Sitzungsber. d. Wien. Akad. 117, 113, 1908.

²⁾ Liesegang, Körniger Membranzerfall und seine Folgen für deren Substanzdurchlässigkeit. Zeitschr. f. Biol. 55, 1/2, 53, 1910.

ist. Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol usw., die Butter und andere Fette leicht lösen, wirken weder fällend auf Casein-
emulsionen noch auf Caseinlösungen. Wenn man nun Kuhmilch mit einem dieser fettlösenden Mittel schüttelt, so geht kein Fett in das Fettlösungsmittel über. Es tritt aber eine andere Erscheinung ein. Das Chloroform usw. emulgiert sich mit der Caseinemulsion und kann aus diesem Grunde zum Fette nicht zu. Man sieht also, daß das Casein für das Fett ein Schutzkolloid darstellt und von den Fettlösungsmitteln derart verändert wird, daß es diese an dem Zutritt zum Fette hindert, indem das Casein entweder gefällt (Äther) oder emulgiert wird (Benzol, Chloroform usw.).

Da wir auf die Frage von der Existenz einer Membran um die Fettkügelchen auf Grund dieser hier skizzierten und weiterer Beobachtungen an anderen Orten ausführlich eingehen, so wollen wir uns hier mit der Feststellung der Tatsache begnügen, daß das Fett in der Milch mit keinem der üblichen Fettlösungsmittel zu extrahieren ist.

Damit ist die Möglichkeit gegeben, das spezifische Gewicht der Milch in Mischungen dieser Lösungsmittel, ähnlich wie es Hammerschlag¹⁾ für das Blut getan hat, zu bestimmen.

Stellt man ein Gemisch von Benzol-Chloroform, Benzol-Tetrachlorkohlenstoff oder Cumol-Bromoform usw. her, dessen spezifisches Gewicht genau dem der Milch gleichkommt, und bringt einen Milchtropfen in die Flüssigkeit, so schwebt dieser darin. Ein Tropfen einer Milch von einem anderen spezifischen Gewicht steigt entweder an die Oberfläche oder er fällt zu Boden, je nachdem die Milch ein kleineres oder größeres spezifisches Gewicht besitzt, als dasjenige, auf welches das Flüssigkeitgemisch geeicht ist. Der Tropfen bleibt durch stundenlanges Aufbewahren in dem Lösungsmittel erhalten, schwebt stets in derselben Höhe, falls die Temperatur des Flüssigkeitgemisches konstant bleibt, und gibt kein Fett an das Flüssigkeitgemisch ab. Ebenso kann man das spezifische Gewicht einer saueren Milch, Frauenmilch und einer Milch verschiedener Tierspezies mit je einem Tropfen ausführen; die

¹⁾ A. Hammerschlag, Eine neue Methode zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Blutes. Zeitschr. f. klin. Med. 20, Heft 4 bis 6.

Bestimmung stimmt mit jener, die mit einem Aräometer vorgenommen wird, gut überein.

Diese Methode der spezifischen Gewichtsbestimmung der Milch ist besonders dann verwendbar, wenn nur wenige Tropfen derselben zur Verfügung stehen, so insbesondere bei der Bestimmung des spezifischen Gewichtes der Frauenmilch. Sie eignet sich zu Massenbestimmungen am Markt bei süßer und saurer Milch, wo das spezifische Gewicht einer großen Anzahl von Milchproben mit einer und derselben Stammlösung in der kürzesten Zeit bestimmt werden kann.

Druckfehlerberichtigung

zum Beitrag

F. Verzá: Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern.

(Bd. 34, S. 92, Zeile 13.)

Statt „Fettsubstanz“ lies Kittsubstanz.

Bestimmung der Kohlenhydrate durch Oxydation mittels Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung.

Von

W. Greifenhagen, J. König und A. Scholl.

(Aus der Landwirtschaftlichen Versuchstation in Münster i. W.)

(Eingegangen am 14. Juli 1911.)

Als einer der ersten, die sich eingehender mit der Oxydation organischer Stoffe durch Kaliumpermanganat befaßt haben, ist Berthelot¹⁾ zu nennen. Hauptsächlich beschäftigte er sich mit der Oxydation der Fettsäuren und fand, daß die durch ein gegebenes Gewicht übermangansauren Kaliums in stark saurer Flüssigkeit entwickelte Wärmemenge größer ist als die in stark alkalischer Flüssigkeit gebildete, dagegen diejenige Wärmemenge, die durch die Fixierung desselben Gewichtes Sauerstoff auf die oxydierende Substanz entwickelt wird, größer in alkalischer als in saurer Lösung ist. Donath und Dietz²⁾ begründen dies damit, daß die entstehenden oxydartigen oder sauren Produkte infolge der Neutralisation mit dem vorhandenen Alkali abermals eine Quelle von Wärmeentwicklung sind. Die in saurer Lösung entstehenden Erzeugnisse von vorzugsweise saurer Natur werden erst bei höherer Temperatur bzw. längerem Kochen und bei stärkerer Konzentration des Permanganates unter sehr weitgehendem Zerfall der betreffenden organischen Substanz in den meisten Fällen schließlich bis zur Bildung der letzten Oxydationsprodukte, Kohlensäure und Wasser, oxydiert.

Smolka³⁾ hat das Verfahren auf die Zuckerarten angewendet. Er fand, daß Glucose in der Siedehitze mit Kaliumperman-

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., VI. Suppl. 181.

²⁾ Journ. f. prakt. Chem. 169. 566, 1899.

³⁾ Monatsh. f. Chem. 8, 1, 1887.

ganat und Schwefelsäure vollständig zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wird, in der Kälte beobachtete er dagegen eine kleine Menge Oxalsäure. Dieses Verhalten suchte Karez¹⁾ praktisch zu verwerten, indem er Zuckerarten mit eingestellter Kaliumpermanganatlösung durch Erhitzen mit Schwefelsäure titrimetrisch bestimmte. Obgleich wohl nicht daran zu zweifeln ist, daß sämtliche Kohlenhydrate bei anhaltendem Kochen mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure schließlich zu den beiden Endprodukten Kohlensäure und Wasser verbrannt werden, so ist doch von vornherein anzunehmen, daß infolge der langsamen Oxydation und der ziemlich konzentrierten Permanganatlösung eine titrimetrische Bestimmung bei Gegenwart von Schwefelsäure nicht einwandfrei sein kann. Zweifellos geht ein Teil Sauerstoff durch längeres Kochen verloren, welche Möglichkeit auch Vaubel in seinem Werk: Die physikalischen und chemischen Methoden zur quantitativen Bestimmung organischer Verbindungen, 2, 410, zugibt. Derartige Versuche haben wir mit Milchsucker unternommen, aber keine günstigen Ergebnisse erhalten. Diese könnten auch dann nicht genau sein, wenn gleichzeitig ein blinder Versuch ohne reduzierende Substanz ausgeführt würde, wie es allgemein bei der Oxydation der organischen Substanzen im Wasser zu geschehen pflegt. Als Beleg hierfür möge folgender Oxydationsversuch einer Zuckerlösung mit überschüssigem Kaliumpermanganat in 20%iger Schwefelsäure gelten. Die Lösung wurde 15 Minuten lang gekocht, darauf nach Beendigung der Oxydation mit einem Überschuß von Oxalsäure versetzt und schließlich mit Kaliumpermanganat zurücktitriert. Es ergab sich, daß der Sauerstoffverbrauch beim Kochen mit Schwefelsäure keinerlei Gesetzmäßigkeiten aufwies und auch ohne Anwesenheit reduzierender Substanzen stattfand.

J. Hetper²⁾ hat in einer neuen Arbeit, die erst nach Beendigung unserer Untersuchungen und der vorläufigen Veröffentlichung in dieser Zeitschrift 30, 1 und 2, 1910, erschienen ist, ebenfalls gefunden, daß die Kaliumpermanganatlösung beim Kochen mit Schwefelsäure zersetzt wird. Er teilt mit, daß er bei seinen Oxydationen mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung ein Kochen vermeiden mußte, weil dabei der

¹⁾ Österr. Zeitschr. f. Zuckerindustrie 20, 698, 1891.

²⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. 50, 343, 1911.

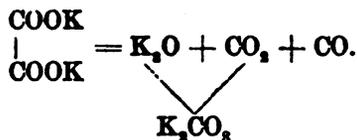
Titer des Reagenzes ganz merklich verändert wurde und der mit ihm gekochte Körper sich zu schnell oxydierte, und zwar unter Ausscheidung der Oxyde und Peroxyde, die vermutlich öfters mit der ausgeschiedenen Kohle vermischt waren. Diese Kohle wird dann sehr schwierig oxydiert, so daß die Bestimmung zu niedrige Ergebnisse liefert. Sollten dieselben jedoch höher als die theoretischen ausfallen, so liegt das nach Hetper in der Hauptsache an der Zersetzung der Peroxyde am Boden des Gefäßes infolge des Überhitzens, wobei Explosionen entstehen, die ein Verspritzen der Flüssigkeit sogar bei Anwendung von Glasperlen und Capillaren verursachen können. Hetper hat daher die Oxydation bei einer konstanten Temperatur von 92 bis 93° im Wasserbade 1 $\frac{1}{2}$ Stunden lang durchgeführt. Schwefelsäure wurde ebenfalls als unzweckmäßig angesehen wegen der zersetzenden Wirkung auf Kaliumpermanganat, und statt dessen Phosphorsäure verwendet. Die auf diese Weise bei einer großen Anzahl organischer Stoffe erhaltenen Ergebnisse können als befriedigend angesehen werden; immerhin dürfte es sich empfehlen, den Verlauf der Oxydation weniger indirekt aus dem Sauerstoffverbrauch der angewendeten Permanganatlösung zu ermessen, als vielmehr direkt durch Wägung der entwickelten Kohlensäuremenge. Man kann dann ruhig einen großen Überschuß Kaliumpermanganat und Schwefelsäure anwenden, ohne darauf achtzugeben, ob sich das Oxydationsmittel zersetzt oder nicht. Auch kann man die Versuche in alkalischer Lösung vornehmen, wie wir sie im folgenden ausgeführt haben.

Über die Oxydation organischer Stoffe mit Permanganat in alkalischer Lösung ist schon mehrfach gearbeitet worden. Insbesondere verdienen Donath und Dietz¹⁾ genannt zu werden, die folgendes nachwiesen:

Schon bei größerer Verdünnung und bei gewöhnlicher Temperatur erfolgt eine Reduktion des Permanganats ohne eine weitere Spaltung des Moleküls der angewendeten organischen Substanz, wobei zumeist die Methylgruppe oder irgendeine andere Kohlenwasserstoffkette des betreffenden Körpers zu Carboxyl oxydiert wird. Bei größerer Konzentration des Oxydationsmittels und unter Erwärmen der Lösung findet neben diesem Vorgang ein Zerfall des Moleküls in einfachere Bestand-

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. 168, 566, 1899.

teile mit meist sauren Eigenschaften statt. Findet die Oxydation mit alkalischem Permanganat bei stärkerer Konzentration sowohl hinsichtlich des Alkalis als des Permanganats und bei höherer Temperatur bzw. anhaltender Koohhitze statt, so wird man fast immer einen weitgehenden Abbau des organischen Moleküls und dabei in der weitaus größten Anzahl von Fällen die Bildung von relativ größeren Mengen von Oxalsäure neben anderen Substanzen feststellen können. Verfolgt man die veröffentlichten, einschlägigen Beobachtungen, so ist die Oxalsäure als häufigstes und meist auch in vorwiegender Menge vorkommendes Oxydationserzeugnis unter diesen Umständen anzutreffen, und geht die Oxydation in alkalischer Lösung über die Bildung von Oxalsäure in der Regel nicht hinaus. Als Grund für die Bildung von Oxalsäure nimmt man entsprechend dem Grundsatz von Berthelot an, daß die Oxalsäure von allen bekannten organischen Säuren bei der Verbindung mit den Alkalien die größte Wärmetönung hat, während in saurer Lösung die Verbrennung meist zu Kohlensäure und Wasser führt. Die Oxalsäure, in alkalischer Lösung als oxalsaures Alkali vorhanden, müßte bei der Oxydation primär nach folgendem Schema zerfallen:



Sekundär könnte erst dann die weitere Oxydation von Kohlenoxyd zu Kohlensäure stattfinden. Es würde also bei dem Zerfall der Oxalsäure in alkalischer Lösung zu Kohlensäure und Wasser bzw. Kaliumoxyd sich primär Kohlenoxyd bilden müssen, das naturgemäß eine geringere Verbrennungswärme haben sollte als das Ausgangserzeugnis, die Oxalsäure. Da aber das Kohlenoxyd im Gegenteil eine größere Verbrennungswärme besitzt (680 Cal.) als die Oxalsäure (602 Cal.), so wäre seine Bildung nach dem vorhergehenden Schema mit einer nicht unbeträchtlichen Wärmeaufnahme verbunden, kann also unter normalen Verhältnissen nicht eintreten, da bekanntlich nach W. Ostwald¹⁾ die mit einigermassen erheblichem Wärmeverbrauch verknüpften

¹⁾ Allgem. Chem. II, 1, 106.

chemischen Vorgänge entweder gar nicht oder nur unter besonderen Verhältnissen stattfinden. — Zum Beweise dafür geben Donath und Dietz die Glycerinbestimmung von Benedict und Zeigmondy¹⁾, die Milchsäurebestimmung von Ulzer und Seidel²⁾ und die Acetonbestimmung von Cochenhausen³⁾ an. Ferner erwähnen sie die Arbeiten von Berthelot⁴⁾ über Fettsäuren, die Veröffentlichungen von Campman und Smith⁵⁾ über Athylalkohol und ihre eigenen Versuche mit Weinsäure, Milchzucker und Rohrzucker, wobei sie das Auftreten von Oxalsäure beobachteten. Infolgedessen gelangen sie am Schluß ihrer Untersuchungen zu der Ansicht, daß sämtliche organischen Substanzen mit mindestens zwei benachbarten Kohlenwasserstoffketten, sei es nun CH_2 , OH , oder CH , nebst anderem immer Oxalsäure liefern, ausgenommen die aromatischen Substanzen.

Besonders mit der Oxydation der Aldehyde, Ketone und Alkohole hat sich Fräulein Denis⁶⁾ beschäftigt. Sie führte die Versuche in alkalischer Lösung aus und hat bei der Oxydation von Acetaldehyd mit Kaliumpermanganat Oxalsäure neben Kohlensäure und Essigsäure gefunden. Die große Menge Kohlensäure hielt sie für das Oxydationserzeugnis der intermediär gebildeten Ameisensäure, obgleich sie die letztere nicht hat beobachten können. Die Oxalsäure denkt sie auf folgende Weise entstanden:

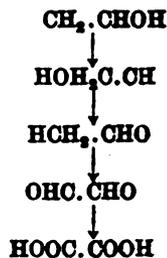
Bei der ersten Oxydation bildet sich aus Acetaldehyd
Vinylalkohol

aus Vinylalkohol entsteht Glykolaldehyd

aus Glykolaldehyd Athylenoxyd

daraus Glyoxal

und schließlich Oxalsäure



Obgleich diese Ansicht auch von anderen geteilt wird, so beruht sie doch auf unrichtigen Voraussetzungen. Diese

¹⁾ Chem.-Ztg. 9, 975, 1885.

²⁾ Monatsh. f. Chem. 18, 138.

³⁾ Journ. f. prakt. Chem. 59, 451 (2. Folge).

⁴⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., VI. Suppl. 181.

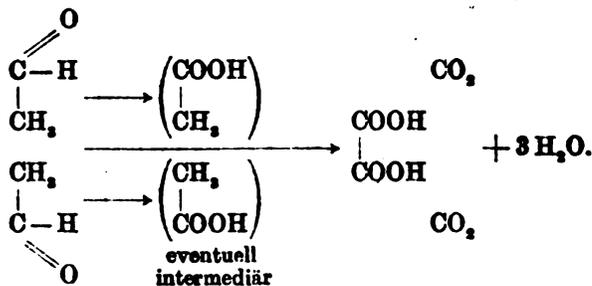
⁵⁾ Jahresber. d. Chem. 1867, 337.

⁶⁾ Americ. Journ. 88, 1907.

ganze Theorie ist nämlich darauf begründet, daß Essigsäure durch alkalisches Permanganat nicht angegriffen wird; Frl. Denis schreibt: „So gut wie gar nicht“. Diese Ansicht ist aber irrtümlich. Berthelot hat nach 10stündigem Erhitzen Oxalsäure nachgewiesen, doch tritt die Bildung der Oxalsäure viel früher ein, und man kann schon nach wenigen Minuten beim Kochen eines größeren Überschusses von Essigsäure mit alkalischem Permanganat diese ausfällen. Also ist Essigsäure sicherlich oxydierbar und besonders dann, wenn sie sich im statu nascendi befindet. Die Reaktion könnte daher auch sehr wohl folgenden Verlauf nehmen:



Nicht im Einklang damit stände die große Menge Kohlensäure, die Frl. Denis gleichzeitig beobachtet hat. Man könnte dann vielleicht an die Eigenschaft der Aldehyde, sich zu polymerisieren, denken, und dann wäre die Möglichkeit folgenden Verlaufes der Reaktion nicht ausgeschlossen, wie später gezeigt werden soll.



Eine intermediäre Bildung von Essigsäure ist hier ebenfalls möglich. Regelmäßigkeiten in den Mengenverhältnissen der Oxalsäure, Essigsäure und Kohlensäure hat Frl. Denis nicht nachweisen können, auch ist sie nicht bis zur Oxydation der eigentlichen Kohlenhydrate vorgedrungen.

Weiter haben Geo Heimrod und P. A. Levene¹⁾ bei der Oxydation von Acetaldehyd mit alkalischem Permanganat ebenfalls keine Oxalsäure, dagegen große Mengen von Ameisensäure gefunden. Dieser Widerspruch erklärt sich vielleicht dadurch, daß die Oxydation etwas zu vorsichtig vorgenommen worden ist; denn

¹⁾ Diese Zeitschr. 29, 1910.

die Bildung der Oxalsäure pflegt erst nach dem Kochen einzutreten. Bemerkenswert bleibt aber immerhin die Bildung der Ameisensäure. Leider ist in der Abhandlung nicht angegeben, wie der Nachweis dafür geliefert wurde, so daß eine Nachprüfung im gleichen Sinne nicht möglich war. Zweifellos sicher ist aber das Auftreten von Ameisensäure bei Verwendung schwächerer Oxydationsmittel, wie z. B. Wasserstoffsuperoxyd, Silberoxyd, Bleisuperoxyd in alkalischer Lösung. Man könnte daher glauben, daß Ameisensäure die Zwischenstufe der bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat und starkem Alkali auftretenden Kohlensäure sei. Diese Ansicht bietet manches Wahrscheinliche, und doch glauben wir, daß sie unrichtig ist, denn Gläser und Morawski¹⁾ sowie A. Jolles²⁾ haben mit Wasserstoffsuperoxyd überall da Ameisensäure beobachtet, wo wir mit alkalischem Permanganat Oxalsäure gefunden hatten. Wir nehmen deshalb an, daß sich zuerst Kaliumformiat bildet und dieses dann weiter in oxalsaures Kalium übergeht, eine Umsetzung, die man beim trockenen Erhitzen von ameisen-saurem Natrium schon längst beobachtet hat.

Bei den Oxydationen verfahren wir nun folgendermaßen: Verschiedene Zuckerarten, desgleichen Stärke wurden mit Kalilauge und Kaliumpermanganatlösung von bestimmtem Gehalt gekocht, die Lösung wurde dann sauer gemacht, mit $\frac{1}{2}$ -Oxalsäure-Lösung, deren Titer ebenfalls bekannt war, im Überschuß versetzt und darauf mit Kaliumpermanganat zurücktitriert. Es ergab sich daraus, daß der Zucker und die Stärke, weil die durch Zusatz von Schwefelsäure frei gemachte Oxalsäure weiter oxydiert wurde, vollkommen zu Kohlensäure und Wasser verbrannten, und daß die Einzelwerte sehr gut übereinstimmten, so daß sich aus dem Verbrauch an Permanganatlösung der Gehalt der Zuckerlösung berechnen ließ. Andererseits ergab sich aber auch, daß die Oxydation in alkalischer Lösung zu einem bestimmten Endergebnis führte, und es bestand lediglich die Aufgabe, die Zwischenprodukte festzustellen und zu bestimmen. Die Vermutung, daß auch hier eine Bildung von Oxalsäure stattfinden würde, lag nahe und wurde be-

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 4217, 1906.

²⁾ Diese Zeitschr. 29, 152, 1910.

stätigt, daneben wurde aber auch regelmäßig das Auftreten von Kohlensäure beobachtet. Da die Bildung stets eine quantitative war und ihre Menge abhängig zu sein schien von den vorhandenen Hydroxylgruppen einerseits und den Alkohol- und Ketongruppen andererseits, so sind im Anfang dieser Arbeit die Ergebnisse mitgeteilt worden, die zur vollständigen Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser führten. Später wurden aber alle diese Bestimmungen wiederholt mit dem Unterschied, daß der Versuch jedesmal nach der Oxydation in alkalischer Lösung unterbrochen und genau die gebildete Kohlensäure und Oxalsäure festgestellt wurde. Die Ergebnisse darüber finden sich im zweiten Teil dieses Abschnittes.

Ausführung des Verfahrens: Eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter der Zuckerlösungen wurde in einen Erlenmeyerkolben gebracht und mit einer bestimmten Menge $\frac{2}{5}$ -Kaliumpermanganatlösung und 10%iger Kalilauge 10 Minuten lang gekocht. Um einen Siedeverzug zu vermeiden, wurden Glasperlen als Siedekugeln hinzugefügt. Der Kolben war mit einem Gummistöpel verschlossen, der mit einer Bohrung versehen war und in dem sich ein Glasrohr von etwa 20 cm Länge als Steigrohr befand. Letztere Vorrichtung hatte lediglich den Zweck, ein Überschäumen zu verhindern. Nach dem Kochen wurde die Flüssigkeit auf etwa 70° abgekühlt, mit 20%iger Schwefelsäure sauer gemacht, mit einem gemessenen Überschuß von $\frac{2}{5}$ -Oxalsäure versetzt und der Überschuß mit $\frac{2}{5}$ -Kaliumpermanganat zurücktitriert. Der Umschlag von farblos auf rosa war stets sehr leicht und sicher zu erkennen.

A. Bestimmung der Zuckerarten durch Ermittlung der verbrauchten Menge Kaliumpermanganat bzw. Sauerstoff.

1. Bestimmung der Laktose.

Der kristallisierte, angewendete Milchzucker, von der Firma Kahlbaum bezogen, wurde in heißem Wasser im Verhältnis von etwa 1:1 gelöst, die Lösung filtriert und dann heiß mit etwa dem 5fachen Volumen absoluten Alkohols ausgefällt. Es bildet sich dann Milchzucker von der Formel: $5C_{12}H_{22}O_{11} + 2H_2O$ ¹⁾. Erhitzt man diesen Zucker eine Zeit-

¹⁾ Stohmann, Journ. f. prakt. Chem. 31 (neue Folge), 288.

lang im Trockenschrank auf 127 bis 130°, so erhält man wasserfreien Milchzucker mit geringen hygroskopischen Eigenschaften. Dieser wasserfreie Zucker wurde dann noch einmal in Wasser gelöst, ein wenig eingedampft und der Krystallisation überlassen. Der sich dann ausscheidende Zucker hat die Formel: $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Dieser wurde mit Alkohol gewaschen und bei 40 bis 50° getrocknet. Davon wurden 1,4905 g in 100 ccm Wasser gelöst und mit dieser Lösung folgende Versuche ausgeführt:

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{2}{5}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{2}{5}$ -KMnO ₄	Verbrauch $\frac{2}{5}$ -KMnO ₄ für 1 ccm Lösung	Wasserfreie Galaktose enthalten in d. angewandt. ccm Lösung
Milchzuckerlösung	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{2}{5}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{2}{5}$ -Oxalsäure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	
10	50	15	20	15	15,05	5,02	9,97	0,997	0,014 099
20	50	30	40	30	30,15	10,30	20,15	1,008	0,028 198
30	50	45	60	45	40,25	10,20	29,95	0,998	0,042 297
40	—	60	80	60	50,70	10,70	40,00	1,000	0,056 396
50	—	75	100	75	53,53	3,60	50,07	1,001	0,070 495

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Gesamtverbrauch an Sauerstoff (KMnO₄) für 1 ccm Lösung bei fünf verschiedenen Milchzuckermengen mit großer Annäherung derselbe ist.

Berechnet man den Sauerstoffverbrauch auf molekulare Mengen, so ergibt sich folgende Beziehung:

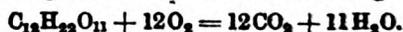
$$1 \text{ ccm Lösung enthält } 0,0014905 \text{ g } C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \\ = 0,0014099 \text{ g } C_{12}H_{22}O_{11}$$

$$1 \text{ ccm Lösung verbraucht im Mittel } 1,00 \text{ ccm } \frac{2}{5}\text{-KMnO}_4 \\ = 1,00 \times 0,0016 \text{ g Sauerstoff.}$$

$$\frac{0,0014099}{342,167} \text{ g-Mol. } C_{12}H_{22}O_{11} = \frac{1,00 \times 0,0016}{16} \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

$$1 \text{ g-Mol. } C_{12}H_{22}O_{11} = \frac{0,0001 \times 342,167}{0,0014099} \text{ g-Mol. O} \\ = 24,27 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Die Verbrennung findet also nach der Gleichung statt:



In derselben Weise wurden noch folgende Zuckerlösungen untersucht:

2. Bestimmung der Saccharose. Ausgangsprodukt war Kahlbaums „Saccharose“. Dieselbe wurde aus einer Lösung mit absolutem Alkohol in einer großen Reibschale gefällt. Der Niederschlag war zuerst kleisterartig, wurde jedoch durch ständiges Rühren mit dem Pistill krystallinisch. Nach dem Absetzen wurde der Niederschlag abfiltriert, mit Alkohol und Ather gewaschen und bei etwa 40° getrocknet. Der Zucker hat dann die Formel: $C_{12}H_{22}O_{11}$. Von demselben wurden 0,6749 g in 250 ccm Wasser gelöst und mit dieser Lösung folgende Versuche ausgeführt:

Saccharose- lösung	Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht			Nach d. Kochen hinzugefügt		KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch KMnO ₄	Gesamtverbrauch umgerechnet auf $\frac{1}{5}$ -Lösung	Verbrauch $\frac{1}{5}$ -KMnO ₄ für 1 ccm Lösung	Saccharose ent- halten in d. an- gewendeten ccm Lösung
	Wasser	10%ige Kalilauge	KMnO ₄	20%ige Schwefel- säure	Oxalsäure					
3	50	20	18,0	20	14,02	1,5	5,48	5,74	1,91	0,0081
6	50	40	20,0	40	10,47	1,4	10,93	11,44	1,91	0,0162
9	25	60	30,0	60	17,20	3,5	16,30	17,06	1,895	0,0243
12	25	80	40,0	80	25,95	7,65	21,70	22,72	1,89	0,0324
15	—	100	50,0	100	34,60	11,9	27,30	28,58	1,91	0,0405

1 ccm Lösung enthält 0,0027 g Saccharose.

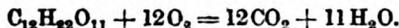
1 ccm Lösung verbraucht 1,90 ccm $\frac{1}{5}$ -KMnO₄
= 1,90 × 0,0016 g O.

$$\frac{0,0027}{342,22} \text{ g-Mol. Saccharose} = \frac{0,0016 \times 1,90}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Saccharose} = \frac{0,00019 \times 342,22}{0,0027} \text{ g-Mol. O.}$$

$$= 24,08 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Der Rohrzucker (Saccharose) läßt sich also nach der Gleichung titrieren:



3. Bestimmung der Glucose (angewendet 0,8076 g in 250 ccm). Ausgangsprodukt war Kahlbaums „Traubenzucker“. Derselbe wurde fein zerrieben mittels des Soxhletschen Extraktionsapparates in absolutem Methylalkohol gelöst. Die Lösung zeigte nach 24stündigem Stehen reichliche Krystallbildung. Die abgeschiedenen Krystalle wurden abfiltriert, mit Ather gewaschen und bei 60° getrocknet. Der Zucker hat die Formel: $C_6H_{12}O_6$.

Mit diesem Zucker wurden folgende Versuche ausgeführt:

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		KMnO ₄ zurücktitriert	KMnO ₄ umgerechnet auf $\frac{1}{5}$ -Lösung	Gesamtverbrauch KMnO ₄ abzüglich H ₂ C ₂ O ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glucose, enthalten in d. angewendeten ccm Lösung
Glucose-lösung	Wasser	10%ige Kalilauge	KMnO ₄	20%ige Schwefelsäure	$\frac{1}{5}$ -Oxalsäure					
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
4	50	20	15,0	20	10,0	3,35	18,54	8,54	2,14	0,012 92
6	50	40	20,0	40	15,15	7,70	27,98	12,83	2,14	0,019 38
8	25	60	30,0	60	16,3	3,10	33,43	17,13	2,14	0,025 84
10	25	60	35,0	60	20,0	6,02	41,43	21,43	2,14	0,032 3
12	—	60	40,0	60	20,0	5,10	45,56	25,56	2,13	0,038 76

1 ccm Lösung enthält 0,00323 g Glucose.

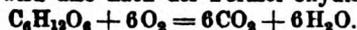
1 ccm Lösung verbraucht 2,14 ccm $\frac{1}{5}$ -KMnO₄
 $= 2,14 \times 0,0016$ g Sauerstoff.

$$\frac{0,00323}{180,091} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{2,14 \times 0,0015}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,000214 \times 180,091}{0,00323} \text{ g-Mol. O.}$$

= 11,9 g-Mol. Sauerstoff.

Die Glucose wird also nach der Formel oxydiert:



4. Bestimmung der Raffinose (angewendet 0,3609 g in 250 ccm). Die angewendete Raffinose, von der Firma Kahlbaum bezogen, wurde in soviel Methylalkohol aufgelöst, als zur Lösung in der Siedehitze nötig war. Nach Hinzufügung von wenig Wasser bildeten sich im Eisschrank sehr bald Krystalle. Die Ausbeute war beinahe quantitativ. Die Raffinose, die man auf diese Weise erhält, hat die Formel: C₁₈H₃₂O₁₆ + 5H₂O. Nach dem Trocknen bei etwa 40° wurden mit derselben folgende Versuche ausgeführt:

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	Verbrauch $\frac{1}{5}$ -KMnO ₄ für 1 ccm Lösung	Raffinose, enthalten in d. angew. ccm Lösung
Raffinose-lösung	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{5}$ -Oxalsäure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
5	25	25	12	25	10,6	2,95	4,35	0,87	0,007 2180
10	25	25	20	25	15,4	4,20	8,80	0,88	0,014 436
15	25	25	30	25	19,15	2,25	13,10	0,87	0,021 654
20	25	25	40	25	25,8	3,20	17,35	0,88	0,028 872
25	25	25	50	25	30,7	2,10	21,40	0,87	0,036 09

1 ccm Lösung enthält 0,0014436 g Raffinose.

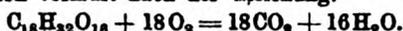
1 ccm Lösung verbraucht 0,874 ccm $\frac{1}{5}$ -KMnO₄
 $= 0,874 \times 0,0016$ g-Mol. O.

$$\frac{0,0014436}{594,92} \text{ g-Mol. C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16} + 5\text{H}_2\text{O} = \frac{0,874 \times 0,0016}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16} + 5\text{H}_2\text{O} = \frac{0,000874 \times 594,42}{0,0014436} \text{ g-Mol. O.}$$

$$= 36,07 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:



5. Bestimmung der Glucose in verschiedener Konzentration. a) In einer konzentrierten Lösung (2,2761 g Glucose in 100 ccm Wasser).

Glucose- lösung	Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht			Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glucose, enthalten in der Lösung
	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{5}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
5	25	25	25	25	17,2	7,45	15,25	3,05	0,113805
10	25	25	60	25	34,85	5,35	30,50	3,05	0,22761

Auf molekulare Mengen umgerechnet, ergibt sich folgendes:

1 ccm Lösung enthält 0,022761 g Glucose.

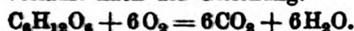
1 ccm Lösung verbraucht 3,05 ccm $\frac{1}{5}$ -KMnO₄
 $= 3,05 \times 0,008$ g O.

$$\frac{0,022761}{180,12} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{3,05 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{1,525 \times 0,001 \times 180,12}{0,022761} \text{ g-Mol. Sauerstoff}$$

$$= 12,07 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:



b) Bestimmung der Glucose in einer Lösung, die in 100 ccm 1,1381 g Glucose enthält.

Glucose- lösung	Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht			Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glucose, enthalten in der Lösung
	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{5}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{5}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
5	25	25	20,0	25	15,4	3,1	7,7	1,54	0,056905
10	25	25	30,2	25	20,3	5,4	15,3	1,53	0,11381

Auf molekulare Mengen umgerechnet, ergeben sich wiederum folgende Beziehungen:

1 ccm Lösung enthält 0,011381 g Glucose.

1 ccm Lösung verbraucht $1,54 \times 0,008$ g Sauerstoff.

$$\frac{0,011381}{180,12} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{1,535 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,7675 \times 0,001 \times 180,12}{0,011381} \text{ g-Mol. O} \\ = 12,15 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Der Sauerstoffverbrauch entspricht der Gleichung:



c) Bestimmung der Glucose in einer verdünnten Lösung von 0,56905 g Glucose in 100 ccm Wasser.

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		1/10-KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch 1/10-KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glucose, enthalten in der Lösung
Glucose-Lösung	Wasser	10%ige Kalilauge	1/10-KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	1/10-Oxal-säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
5	25	25	15,0	25	14,25	3,1	3,85	0,77	0,033452
10	25	25	15,0	25	11,0	3,6	7,6	0,76	0,056905

Auf molekulare Mengen umgerechnet, ergibt sich folgendes:

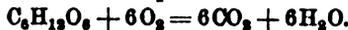
1 ccm Lösung enthält 0,0056905 g Glucose

1 ccm Lösung verbraucht 0,765 ccm 1/10-KMnO₄
= $0,765 \times 0,008$ g O.

$$\frac{0,0056905}{180,12} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,765 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,3825 \times 0,001 \times 180,12}{0,0056905} \text{ g-Mol. O} \\ = 12,11 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Der Sauerstoffverbrauch entspricht der Gleichung:



d) Bestimmung der Glucose in einer Lösung, die in 100 ccm Wasser 0,2845 g Glucose enthält.

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		1/10-KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch 1/10-KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glucose, enthalten in der Lösung
Glucose-Lösung	Wasser	10%ige Kalilauge	1/10-KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	1/10-Oxal-säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
10	25	25	10,0	25	6,9	0,7	3,8	0,38	0,02845
20	25	25	15,0	25	9,85	2,5	7,65	0,38	0,05691

Auf molekulare Mengen umgerechnet, ergibt sich folgendes:

1 ccm Lösung enthält 0,002845 g Glucose.

1 ccm Lösung verbraucht 0,38 ccm $\frac{1}{10}$ -KMnO₄
= 0,38 × 0,008 g O.

$$\frac{0,002845}{180,12} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,38 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,19 \times 0,001 \times 180,12}{0,002845} \text{ g-Mol. O.}$$

$$= 12,03 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Der Sauerstoffverbrauch entspricht der Gleichung:



e) Bestimmung der Glucose in einer Lösung, die in 100 ccm Wasser 0,1423 g Glucose enthält.

Glucose- lösung ccm	Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht			Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{10}$ -KMnO ₄ zurücktitriert ccm	Gesamtverbrauch $\frac{1}{10}$ -KMnO ₄ ccm	Verbrauch für 1 ccm Lösung ccm	Glucose, in der Lösung enthalten g
	Wasser ccm	10% ige Kalilauge ccm	$\frac{1}{10}$ -KMnO ₄ ccm	20% ige H ₂ SO ₄ ccm	$\frac{1}{10}$ -Oxal- säure ccm				
20	25	25	10,0	25	15,1	8,90	3,8	0,19	0,02845
40	25	25	15,0	25	10,0	2,6	7,6	0,19	0,05691

Auf molekulare Mengen umgerechnet, ergibt sich folgende
Beziehung:

1 ccm Lösung enthält 0,001423 g Glucose.

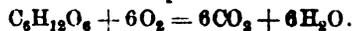
1 ccm Lösung verbraucht 0,19 $\frac{1}{10}$ -KMnO₄
= 0,19 × 0,008 g O.

$$\frac{0,001423}{180,12} \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,19 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glucose} = \frac{0,095 \times 0,001 \times 180,12}{0,001423} \text{ g-Mol. O.}$$

$$= 12,02 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Der Sauerstoffverbrauch entspricht der Gleichung:



Aus den Tabellen 5a, b, c, d, e ersieht man, daß die Oxydation mit Kaliumpermanganat nicht abhängig ist von der Konzentration der Zuckerlösung, und daß die Genauigkeit trotz der verschiedenen Zuckermenge nichts zu wünschen übrig läßt. Um jedoch die Verhältnisse zu vervollständigen, wurden noch Maltose und Mannit mittels Kaliumpermanganat oxydiert.

6. Oxydation der Maltose (angewendet 0,9395 g in 100 ccm Wasser).

Die Maltose war von der Firma Kahlbaum bezogen. Dieselbe wurde bei 70° getrocknet und als Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ angenommen.

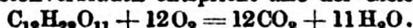
Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		Gesamtverbrauch $\frac{1}{10}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 cem Lösung	Maltose, in der Lösung enthalten	
Maltose- lösung	Wasser	10% ige Kalilauge	$\frac{1}{10}$ -KMnO ₄	20% ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{10}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g	
3	25	25	15	25	12,4	1,15	3,75	1,25	0,028 19
6	25	25	25	25	20,85	3,35	7,50	1,25	0,056 37
9	25	25	20	25	11,1	2,25	11,15	1,24	0,084 56
12	25	25	30	25	16,2	1,5	14,85	1,24	0,112 7
15	25	25	40	25	26,0	4,55	18,55	1,24	0,140 9

Der Sauerstoffverbrauch, auf molekulare Mengen umgerechnet, ergibt folgende Beziehungen:

$$\begin{aligned}
 1 \text{ cem Lösung enthält} & \quad 0,009\,395 \text{ g Maltose.} \\
 1 \text{ cem Lösung verbraucht} & \quad 1,244 \text{ cem } \frac{1}{10}\text{-KMnO}_4 \\
 & \quad = 1,244 \times 0,008 \text{ g O.} \\
 \frac{0,009\,395}{360,24} \text{ g-Mol. Maltose} & = \frac{1,244 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 1 \text{ g-Mol. Maltose} & = \frac{0,622 \times 0,001 \times 360,24}{0,009\,395} \text{ g-Mol. O} \\
 & = 23,85 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}
 \end{aligned}$$

Der Sauerstoffverbrauch entspricht also der Gleichung:



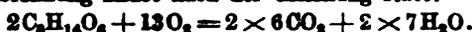
7. Bestimmung des Mannits (angewendet 0,9791 g in 100 cem Wasser). Der Mannit wurde im Soxhletschen Extraktionsapparat durch absoluten Alkohol gelöst und dann der Krystallisation überlassen. Die nach 12stündigem Stehen abgeschiedenen Krystalle wurden mit Äther gewaschen und bei etwa 50° getrocknet. Dieser wasserfreie Mannit wurde zu folgenden Versuchen verwendet:

Dieses Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		Gesamtverbrauch $\frac{1}{10}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 cem Lösung	Mannit, in der Lösung enthalten	
Mannit- lösung	Wasser	10% ige Kalilauge	$\frac{1}{10}$ -KMnO ₄	20% ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{10}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g	
5	25	25	20	25	14,95	2,0	7,05	1,41	0,048 96
10	25	25	30	25	17,4	1,4	14,0	1,40	0,097 91
15	25	25	40	25	26,5	7,45	20,95	1,40	0,146 87
20	25	25	50	25	25,1	2,7	27,6	1,38	0,195 8
25	25	25	60	25	29,85	4,55	34,7	1,39	0,244 8

Der Sauerstoffverbrauch, auf molekulare Mengen berechnet, ergibt folgendes:

$$\begin{aligned}
 1 \text{ ccm Lösung enthält} & \quad 0,009791 \text{ g Mannit.} \\
 1 \text{ ccm Lösung verbraucht} & \quad 1,396 \text{ ccm } \frac{1}{1}\text{-KMnO}_4 \\
 & \quad = 1,396 \times 0,008 \text{ g O.} \\
 \frac{0,009791}{82,14} \text{ g-Mol. Mannit} & = \frac{1,396 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.} \\
 1 \text{ g-Mol. Mannit} & = \frac{0,008 \times 0,001 \times 162,14}{0,009791} \text{ g-Mol. O} \\
 & = 12,98 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}
 \end{aligned}$$

Die Verbrennung findet nach der Gleichung statt:



8. Bestimmung der Stärke (1,2416 g in 100 ccm Wasser). Angewendet wurde lösliche Stärke (Kahlbaum). Dieselbe wurde 12 Stunden im Exsiccator bei einer Temperatur von 40° getrocknet. Dieses Verfahren ist nicht einwandfrei; wir haben bei den späteren Versuchen die Stärke mittels Inversion bestimmt und den Nichtstärkegehalt durch Bestimmung von Wasser, Asche, Protein, Fett und Pentosanen festgestellt. Wir wollen aber im folgenden die Versuche mit obengenannter Stärke mitteilen.

Stärke- lösung	Das Gemisch wurde 10 Min. gekocht			Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Stärke, in der Lösung enthalten
	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{1}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
2,5	25	25	10,0	25	7,5	1,85	4,35	1,74	0,03104
5,0	25	25	27,0	25	21,05	2,8	8,75	1,75	0,06208
7,5	25	25	25,0	25	13,15	1,25	13,10	1,75	0,09312
10,0	25	25	30,0	25	16,95	4,35	17,40	1,74	0,12416
12,5	25	25	35,0	25	18,15	4,50	21,40	1,72	0,1862

1 ccm Lösung enthält 0,012416 g Stärke.

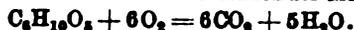
1 ccm Lösung verbraucht 1,74 ccm $\frac{1}{1}$ -KMnO₄
= 1,74 × 0,008 g O.

$$\frac{0,012416}{162,10} \text{ g-Mol. Stärke} = \frac{0,008 \times 1,74}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Stärke} = \frac{0,87 \times 0,001 \times 162,10}{0,012416} = 11,36 \text{ g-Mol. O.}$$

Dieser Wert entspricht annähernd 12 g-Mol. O.

Dementsufolge würde der Sauerstoffverbrauch der Gleichung entsprechen:



9. Oxydation des Methylalkohols (1,9263 g in 250 ccm Wasser). Die Versuche wurden ausgeführt mit einem

Methylalkohol, der längere Zeit mit wasserfreiem Natriumsulfat am Rückflußkühler erhitzt und später überdestilliert worden war.

Das Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Methyl- alkohol, in der Lösung enthalten
Methyl- alkohol	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{1}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
2,5	25	25	10	25	13,5	6,95	3,45	1,38	0,01926
5,0	25	25	20	25	14,4	2,4	7,0	1,40	0,03853
7,5	25	25	20	25	11,55	1,85	10,25	1,37	0,05779
10,0	25	25	27	25	15,0	1,85	13,85	1,39	0,07705
12,5	25	25	31	25	16,0	2,30	17,3	1,38	0,09632

1 ccm Lösung enthält 0,0077052 g Methylalkohol.

1 ccm Lösung verbraucht 1,383 ccm $\frac{1}{1}$ -KMnO₄
= 1,383 × 0,008 g O.

$$\frac{0,0077052}{32,03} \text{ g-Mol. Methylalkohol} = \frac{1,383 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Methylalkohol} = \frac{0,6915 \times 0,001 \times 32,03}{0,0077052} \text{ g-Mol. O.}$$

$$= 2,88 \text{ g-Mol. Sauerstoff.}$$

Die Reaktion verläuft infolgedessen nach der Gleichung:



10. Oxydation von Glycerin (5,1536 g in 100 ccm Wasser).
Verwendung fand ein Glycerin, das von der Firma Kahlbaum
als garantiert rein geliefert worden war.

Das Gemisch wurde 10 Min. gekocht				Nach d. Kochen hinzugefügt		$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄ zurücktitriert	Gesamtverbrauch $\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	Verbrauch für 1 ccm Lösung	Glycerin, in der Lösung enthalten
Glycerin- lösung	Wasser	10%ige Kalilauge	$\frac{1}{1}$ -KMnO ₄	20%ige H ₂ SO ₄	$\frac{1}{1}$ -Oxal- säure				
ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	g
1,0	25	25	10,0	25	8,55	6,60	8,05	8,05	0,06154
1,5	25	25	17,0	25	10,0	4,95	11,95	7,97	0,07730
2,0	25	25	20,2	25	5,8	1,7	15,9	7,95	0,10307
2,5	25	25	30,0	25	11,65	1,35	20,2	8,08	0,12884
3,0	25	25	45,0	25	29,05	8,1	24,05	8,02	0,15461

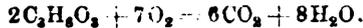
1 ccm Lösung enthält 0,061536 g Glycerin.

1 ccm Lösung verbraucht 8,01 ccm $\frac{1}{1}$ -KMnO₄
= 8,01 × 0,008 g O.

$$\frac{0,051536}{92,08} \text{ g-Mol. Glycerin} = \frac{8,01 \times 0,008}{16} \text{ g-Mol. O.}$$

$$1 \text{ g-Mol. Glycerin} = \frac{8,01 \times 0,001 \times 92,08}{2 \times 0,051536} = 7,15 \text{ g-Mol. O.}$$

Die Reaktion erfolgt infolgedessen nach der Gleichung:



B. Bestimmung der Zuckerarten durch Ermittlung der entstehenden Menge Oxalsäure und Kohlensäure.

Um festzustellen, welche Zwischenprodukte bei der Verbrennung des Zuckers mittels Kaliumpermanganats nach dem vorhergehenden Verfahren sich bilden, sind folgende Versuche ausgeführt worden: Einige Kubikzentimeter einer Zuckerlösung von bestimmtem Gehalt wurden in alkalischer Lösung mit $\frac{1}{1}$ -KMnO₄ 10 Minuten lang gekocht. Zu der heißen Lösung wurde dann so viel Ameisensaures Natrium hinzugefügt, bis die überstehende Flüssigkeit nach dem Absitzen vollkommen farblos war. Das gebildete Mangandioxyd wurde abfiltriert und das Filtrat qualitativ untersucht. Dabei wurde Oxalsäure gefunden. Von dem Natriumformiat konnte diese nicht gebildet sein, denn es ist bekannt, daß Ameisensäure mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung leicht zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wird. Auch konnte Oxalsäure nicht beobachtet werden, als derselbe Versuch ohne Zucker wiederholt wurde. Weitere Versuche führten zu dem gleichen Ergebnis. Infolgedessen mußte die Oxalsäure ein Zwischenprodukt bei der Verbrennung des Zuckers sein. Auch stellte sich heraus, daß die Bildung der Oxalsäure stets die gleiche war bei Anwendung derselben Zuckermenge, daß jedoch immer noch ein Rest übrigblieb, dessen Umwandlungserzeugnis weiter festzustellen war. Es lag nahe, diesen Rest in gleichzeitig gebildeter Kohlensäure zu suchen. Die quantitative Bestimmung derselben bot aber, da die Kalilauge stets Kohlensäure enthält, Bariumhydroxyd zur Entfernung derselben und ebenso Natriumformiat und schweflig- bzw. unterschwefligsaures Natrium zur Zerstörung des überschüssigen Kaliumpermanganats nicht angewendet werden konnten, große Schwierigkeiten, die schließlich auf folgende Weise überwunden wurden: Zunächst wurde in blinden Versuchen durch gleiches Kochen von Kaliumpermanganat

und Alkali die vorhandene Kohlensäure bestimmt, indem das Kaliumpermanganat durch chemisch reines Wasserstoffsperoxyd (30%iges Perhydrol Merck) zerstört, die Kohlensäure durch Essigsäure ausgetrieben und durch Natronkalk aufgefangen wurde; dann wurde bei den einzelnen Zuckerarten in derselben Weise verfahren und das Mehr an Kohlensäure als auf die Zuckerarten entfallend angesehen. Das gebildete Mangandioxyd wurde schnell bei bedecktem Nickeltiegel heiß mittels der Saugpumpe abfiltriert und das Filtrat schnell in einen Kolben gebracht. Nachdem die Lösung essigsauer gemacht worden war, wurde sie längere Zeit gekocht, wozu wir einen Apparat verwendeten, wie er in J. Königs Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe 1906, 866 und in Treadwells Lehrbuch der analytischen Chemie 1903, II, 258 beschrieben ist. Nach der Austreibung der Kohlensäure wurde in der essigsauen Lösung die Oxalsäure mit Chlorcalcium gefällt, das Calciumoxalat durch Glühen in Calciumoxyd übergeführt, letzteres gewogen und durch Multiplikation mit 1,6034 auf Oxalsäure berechnet. Es ergab sich, daß bei der Verbrennung in alkalischer Lösung außer Oxalsäure nur noch Kohlensäure gebildet wurde.

Die hierzu verwendeten Zuckerarten waren als chemisch rein von der Firma Dr. Theodor Schuchardt in Görlitz bezogen worden. Die Monosaccharide, Glucose, Galaktose und Fructose, wurden indes noch besonders auf Reinheit untersucht.

Glucose prüften wir mittels Polarisation auf ihre Reinheit. Eine 1%ige Glucoselösung drehte im 200 mm-Rohr $+1,04^\circ$ nach 20 Stunden, welche Drehung nach der Formel $c = \frac{a \cdot V}{l \cdot a_D} = \frac{1,04 \times 100}{2 \times 52,518} = 0,99\%$ Glucose entspricht, während nach dem Eindampfen von 25 ccm der 1%igen Lösung und Trocknen bei 105° 0,2505 g Rückstand erhalten wurden.

Für die Prüfung der Fructose wurde der von Ost angegebene molekulare Drehungswinkel $a_D = -(91,9^\circ + 0,111 p)$ zugrunde gelegt, worin p die Prozente Fructose in der Lösung bezeichnet. Eine Lösung, die in 100 ccm 1,8913 g Fructose enthielt, hatte eine Drehung von $-3,26^\circ$, die nach der Formel $c = \frac{a \cdot V}{l \cdot a_D} = \frac{3,26 \times 100}{2 \times 92,1} = 1,767$ g Fructose in 100 ccm Wasser

entsprechen. Wir haben deshalb das Molekulargewicht zu 189,13 angenommen, entsprechend der Formel $C_6H_{12}O_6 + \frac{1}{2}H_2O^1$.

Bei Galaktose wurde nur auf den Wassergehalt geprüft, der aber gleich Null gefunden wurde.

Von den Zuckerarten verwendeten wir $\frac{1}{10}$ - (Monosaccharide-) oder $\frac{1}{20}$ - (Disaccharide-) oder $\frac{1}{30}$ - (Trisaccharide-) Lösungen, und von diesen soviel Kubikzentimeter, daß durchweg nicht mehr als 0,20 g oder die Hälfte zur Oxydation gelangten. Auf je 10 oder 5 ccm dieser Lösungen wurden 40 ccm 20% ige Kalilauge und 50 ccm oder 25 ccm $\frac{1}{1}$ -Lösung von Kaliumpermanganat zugesetzt. Später prüften wir auch das Verhalten anderer organischer Stoffe gegen Kaliumpermanganat und Alkali. Die Ergebnisse sind in nebenstehender Tabelle enthalten (vgl. S. 189).

Hiernach liefern die Disaccharide, Saccharose, Lactose und Maltose, die zuerst untersucht wurden, auf je 1 Molekül Zucker 4 Moleküle Kohlensäure und 4 Moleküle Oxalsäure, so daß der Verlauf der Reaktion folgender Gleichung entsprechen mußte:



Unter Zugrundelegung dieser Gleichung ist der theoretische Wert, der hätte erhalten werden müssen, berechnet und in der Tabelle angegeben. Die berechneten und gefundenen Werte stimmen so nahe überein, daß die drei Disaccharide in der Tat nach obiger Gleichung bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung zu 4 Oxalsäure- und 4 Kohlensäure-Molekülen oxydiert werden.

Entsprechend den Disacchariden, die aus 1 Molekül 4 Moleküle Kohlensäure und 4 Moleküle Oxalsäure bei der Oxydation in alkalischer Lösung liefern, mußten die Hexosen aus 1 Molekül 2 Moleküle Kohlensäure und 2 Moleküle Oxalsäure bilden. Dieses stimmt auch mit den gefundenen Werten überein. Der Verlauf der Reaktion bei den Monosacchariden entspricht also folgender Gleichung:



Als Trisaccharid untersuchten wir chemisch reine Raffinose, bei der, entsprechend den Mono- und Disacchariden, die Bildung von 6 Molekülen Kohlensäure und 6 Molekülen Oxalsäure aus 1 Molekül Raffinose erwartet werden konnte. Aus

¹⁾ Beilstein, Organ. Chem. 1, 3. Aufl., S. 1053.

den gefundenen Werten geht die Bestätigung dafür hervor. Die Verbrennung in der alkalischen Lösung findet infolgedessen nach der Gleichung statt:



Zuckerart	An- gewendete Menge	Kohlensäure		Oxaläure	
		Ge- funden mg	Be- rechnet mg	Ge- funden mg	Be- rechnet mg
Saccharose }	0,1711	90,5	88	180,4	180,04
$\frac{1}{20}$ -Lösung }	0,0856	45,6	44	89,6	90,02
Lactose }	0,1801	90,6	88	178,5	180,04
$\frac{1}{20}$ -Lösung }	0,0901	42,0	44	90,3	90,02
Maltose }	0,1801	86,5	88	179,6	180,04
$\frac{1}{20}$ -Lösung }	0,0901	46,5	44	92,2	90,02
Glucose }	0,1801	92,2	88	181,9	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0901	44,7	44	91,9	90,02
Fructose }	0,1891	87,2	88	179,0	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0946	43,6	44	91,8	90,02
Galaktose }	0,1801	87,0	88	181,2	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0901	42,5	44	88,2	90,02
Raffinose }	0,1981	87,0	88	182,0	180,04
$\frac{1}{20}$ -Lösung }	0,0991	44,5	44	88,2	90,02
Erythrit }	0,1221	47,5	44	129,6	135,09
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0611	22,0	22	68,9	67,5
Glykoll (Näheres in spä- terer Tabelle)	Berechn. auf 0,06206	21,0	22	72,0	68
Glycerin }	0,0921	45,5	44	88,2	90,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0460	23,0	22	46,5	45,02
Arabinose }	0,1501	46,0	44	172,4	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0751	23,0	22	89,8	90,02
Xylose }	0,1501	51,5	44	162,8	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0751	26,0	22	80,2	90,02
Reisstärke }	0,1781	86,0	88	177,7	180,04
Tapiokastärke }	0,1781	83,5	88	176,4	180,04
Mannit }	0,1821	86,0	88	182,0	180,04
$\frac{1}{10}$ -Lösung }	0,0911	42,5	44	88,2	90,02
Dulcit	0,1821	90,0	88	177,2	180,04

Nach diesen Feststellungen war anzunehmen, daß die Pentosen, Arabinose und Xylose, aus 1 Molekül 2 Moleküle Oxaläure und 1 Molekül Kohlensäure liefern würden nach der Gleichung:



Die Untersuchung ergab jedoch für die Xylose Abweichungen, obgleich dieselbe nach den Angaben der Lehrbücher sich ebenso

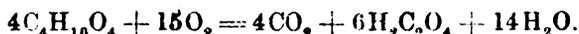
wie die Arabinose als rein erwiesen hatte. Eine Erklärung dafür kann einstweilen nicht gegeben werden.

Nach vorstehenden Ergebnissen erscheint die Annahme, daß die endständigen (Aldehyd- oder Alkohol-) Gruppen zu Kohlensäure, die inneren Gruppen soviel als möglich zu Oxalsäure oxydiert werden, am wahrscheinlichsten. Dafür spricht auch, daß der 6wertige Alkohol Mannit und ebenso Dulcitol die gleiche Anzahl Moleküle Kohlensäure und Oxalsäure liefern wie die entsprechenden Hexosen.

Dementsprechend müßte man wiederum beim Erythrit



2 Moleküle Kohlensäure und 1 Molekül Oxalsäure erwarten. In Wirklichkeit aber bilden sich hier auf 1 Molekül Kohlensäure $1\frac{1}{2}$ Moleküle Oxalsäure. Da der Erythrit¹⁾ rein war und andererseits die Bildung von $1\frac{1}{2}$ Molekülen Oxalsäure aus 1 Molekül Erythrit nicht anzunehmen ist, so deutet der Befund darauf hin, daß der Erythrit beim Kochen mit starker Kalilauge polymerisiert und nach folgender Gleichung zerlegt wird:



Der gleiche Vorgang muß bei der Oxydation des Glykols angenommen werden. Bei ihm sollte man glatt die Bildung von nur Oxalsäure erwarten, in Wirklichkeit bilden sich aber aus 1 Molekül Glykol $\frac{1}{2}$ Molekül Kohlensäure und $\frac{3}{4}$ Moleküle Oxalsäure. Man muß daher auch hier eine Polymerisation von 4 Molekülen Glykol annehmen.

Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, daß wir zuerst den Kohlenstoffgehalt des Glykols feststellten. Dies geschah ebenfalls durch Verbrennung mit Kaliumpermanganat, aber nicht wie sonst in alkalischer, sondern in schwefelsaurer Lösung nach dem von J. König²⁾ angegebenen Verfahren. Bei

¹⁾ Die Gefrierpunktniedrigung τ wurde zu 0,29 gefunden; da die Konstante für Wasser $G = 1,85$ ist und in 1000 ccm Lösung $p = 17,8$ g enthalten waren, so ist infolgedessen das Molekulargewicht

$$M = \frac{G \times p}{\tau} = \frac{17,8 \times 1,85}{0,29} = 112,0.$$

Da das wirkliche Molekulargewicht von Erythrit 122 ist und der gefundene Wert ungefähr diesem entspricht, so lag hier tatsächlich ein 4wertiger Alkohol vor.

²⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 5, 193, 1901.

dieser Art Verbrennung erhält man keine Oxalsäure, sondern nur Kohlensäure, die in Natronkalkröhrchen aufgefangen und bestimmt wird 0,3415 g Substanz ergaben 0,4255 g Kohlensäure, und bei einem zweiten Versuch aus 0,2700 g 0,3360 g Kohlensäure, was einem Kohlensäuregehalt von 33,98% bzw. 33,94% entspricht. Da aber der wirkliche Kohlenstoffgehalt von Glykol 38,67% beträgt, so berechnet sich daraus ein Gehalt an Glykol von 87,87% bzw. ein Wassergehalt von 12,13%. Zur Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung, wie bei vorstehenden Versuchen, verwendeten wir einmal 0,2415 g Substanz, entsprechend einem Glykolgehalt von 0,2122 g, ein andermal 0,1097 g = 0,09639 g Glykol. Die Ergebnisse, die wir schon vorher, auf eine dem Molekulargewicht entsprechende Menge berechnet, angegeben haben, sind in ihren Einzelwerten in folgender Tabelle enthalten:

Angewendete Menge	Gehalt an Glykol	Gefundene Kohlensäure	Gefundene Oxalsäure	Berechnet auf 0,06206 g angewendete Menge = $\frac{1}{1000}$ Molekulargewicht			
				Kohlensäure		Oxalsäure	
				Aus gefundenen Werten	Theoretisch	Aus gefundenen Werten	Theoretisch
g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg
0,2415	0,2122	72,0	245,4	21,0	22	72,0	68
0,1097	0,09639	32,5	112,3	21,0	22	72,0	68

Hiernach würde also die Oxydation der Gleichung entsprechen:



Oxydationsversuche von Glycerin mit alkalischem Permanganat sind schon verschiedentlich vorgenommen worden. Ein Molekül Glycerin liefert 1 Molekül Oxalsäure und 1 Molekül Kohlensäure. Dies ist ein Grund, weshalb u. a. Donath und Dietz¹⁾ die Behauptung aufgestellt haben, daß das Endprodukt der Oxydation von organischen Substanzen, in denen mindestens zwei benachbarte Kohlenstoffketten, sei es nun CH₃, CH₂ oder CH, enthalten sind, mit alkalischem Permanganat in der Regel der Hauptsache nach Oxalsäure ist. Diese Ansicht ist

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. 168, 566, 1899.

aber nicht mehr voll und ganz richtig, denn wie wir gesehen haben, findet sich auch da Kohlensäure, wo man nur Oxalsäure erwarten müßte, nämlich bei Glykol und Erythrit. Zur Oxydation des Glycerins verwendeten wir eine Flüssigkeit, die in 100 Teilen 86,8 Teile Glycerin und 13,2 Teile Wasser enthielt. Die Versuche wurden dann in einer Lösung ausgeführt, die entsprechend $\frac{1}{10}$ in 100 ccm Wasser 0,9208 g Glycerin enthielt. Nach den vorher angeführten Ergebnissen verläuft die Reaktion, wie schon angenommen ist, nach der Gleichung:



Man kann aber auch hier eine vorherige Polymerisation annehmen, so daß die Reaktion nach der Gleichung verläuft:



Zum Schluß prüften wir noch das Verhalten der Stärke gegen das Oxydationsmittel. Als Ausgangsprodukt benutzten wir zwei Stärkeproben, die nur wenig Verunreinigungen enthielten. Ihre Zusammensetzung war folgende:

Stärkeart	Wasser	Protein	Fett	Pentose	Asche	Stärke durch Inversion	Stärke durch Differenz [100 - (Asche, Protein, Wasser, Fett, Pentose)]
	%	%	%	%	%	%	%
Reis . .	10,47	1,10	0,14	2,07	0,86	84,36	85,36
Tapioka .	12,23	0,00 oder Spuren	0,00	1,94	0,34	84,00	85,49

Wir nahmen den durch Inversion erhaltenen Stärkegehalt für richtig an und verwendeten eine dem Molekulargewicht entsprechende Menge Stärke zur Oxydation, bei Reisstärke also 0,1922 g = 0,1781 g Stärke und bei Tapioka 0,1930 g = 0,1781 g Stärke. Aus den erhaltenen Ergebnissen ersehen wir einmal, daß die bei zwei verschiedenen Stärkesorten gefundenen Werte übereinstimmen, und zweitens, daß aus 1 Molekül Stärke 2 Moleküle Kohlensäure und 2 Moleküle Oxalsäure gebildet werden. Die Oxydation findet also ganz ähnlich wie bei den Monosacchariden statt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die vorstehenden Ergebnisse lassen sich kurz wie folgt zusammenfassen:

1. Sämtliche Zuckerarten, desgleichen mehrwertige Alkohole, deren Aldehyde und Ketone, sowie Polysaccharide lassen sich mit Kaliumpermanganat und Alkali quantitativ zu Oxalsäure und Kohlensäure verbrennen.

2. Hat man eine eingestellte Permanganatlösung benutzt und macht man nach der Oxydation die Lösung sauer, so kann man auch durch den Verbrauch des Sauerstoffs die Menge der angewendeten Substanz feststellen.

3. Die eine oder die zwei endständigen Gruppen werden, ähnlich wie bei der Bildung der Mono- und Dicarbonsäure der Zuckerarten, zu Kohlensäure, die inneren zu Oxalsäure oxydiert, indem sich stets ein Maximum von Oxalsäure bildet.

4. Beim Glykol und Erythrit läßt sich das Verhältnis von Kohlensäure zu Oxalsäure nur so erklären, daß bei oder vor der Oxydation in der stark alkalischen Flüssigkeit eine Polymerisation statthat.

5. Ameisensäure ließ sich unter den Oxydationserzeugnissen nicht nachweisen.

Bestimmung der Stärke.

Von

W. Greifenhagen, J. König und A. Scholl.

(Aus der Landwirtschaftlichen Versuchstation in Münster i. W.).

(Eingegangen am 14. Juli 1911.)

Unter den vielen Verfahren zur Bestimmung der Stärke verdient das polarimetrische, das in der letzten Zeit von C. J. Lintner¹⁾ und E. Ewers²⁾ ausgebildet worden ist, wegen seiner einfachen und schnellen Ausführbarkeit eine besondere Beachtung.

Die allgemeine Anwendbarkeit dieses Verfahrens wird aber davon abhängen, ob 1. alle Stärkearten bei derselben Behandlung einen mehr oder weniger gleichen molekularen Drehungswinkel besitzen und 2. ob auch noch andere Stoffe als Stärke die Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes beeinflussen. Zur Beantwortung dieser Fragen ist behufs Vergleiches der Ergebnisse ein auf anderem Grundsatz beruhendes, aber sicheres Verfahren zur Bestimmung der Stärke erforderlich. Als solches kann unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Pentosane bzw. Pentosen das Lintnersche Inversionsverfahren durch Kochen mit 2%iger Salzsäure angesehen werden.

Dieses läßt sich bei den reinen Stärkesorten des Handels noch weiter durch Differenzbestimmungen nachprüfen, indem man die Differenz von 100 — (Protein + Fett + Pentosane + Faser + Asche) fast ganz als Stärke ansehen kann. In den

¹⁾ G. Belschner, Bestimmung der Stärke in Cerealien durch Polarisation. Dissert., München 1907.

²⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 16, 599, 1908.

Futter- und Nahrungsmitteln sind aber neben der Stärke noch andere Stoffe, z. B. Hemicellulosen, in solcher Menge vorhanden, daß die Differenzbestimmung viel zu hohe Stärkewerte liefert. Andererseits können durch 2 $\frac{1}{2}$ - bis 3stündiges Kochen der Futter- und Nahrungsmittel mit 2%iger Salzsäure die Hemicellulosen in reduzierenden Zucker übergeführt werden und deshalb die Richtigkeit der durch Polarisation und der durch Inversion erhaltenen Stärkewerte beeinträchtigen. Unter den leicht invertierbaren Hemicellulosen können wir aber die Pentosane nach B. Tollens durch ein besonderes Verfahren bestimmen, und handelt es sich zunächst darum, in welcher Weise und Höhe sich die Pentosen, als die hier vorwiegend Xylose und Arabinose in Betracht kommen, neben der Glucose an der Reduktion des Kupfers beteiligen. Die Angaben darüber sind teilweise widersprechend. Nach Stone¹⁾ ist das Reduktionsvermögen der Xylose ein größeres als das der Glucose. Die gleiche Beobachtung haben auch Weiser und Zaitschek²⁾ gemacht, dagegen sind die Meinungen über die Arabinose verschieden. Während Bauer³⁾ fand, daß Arabinose weniger Kupfer reduziere als Glucose und diese Beobachtung auch von Weiser und Zaitschek bestätigt wird, hat Stone⁴⁾ das Gegenteil gefunden. Zweifellos sind diese unterschiedlichen Angaben zum Teil durch die angewendete verschiedene Kochdauer bedingt. Die Versuchsreihe von Stone bezieht sich auf eine Kochzeit von 4 Minuten, die von Weiser und Zaitschek nach dem Vorschlag von Pflüger⁵⁾ auf 2 und 30 Minuten. Dabei hat Stone auch andere Kupfermengen angewendet, als allgemein üblich ist. Infolgedessen haben wir weitere Untersuchungen in der Weise angestellt, daß 1%ige, 0,75%ige, 0,50%ige und 0,25%ige Lösungen von Glucose, Xylose, Arabinose für sich und im Gemisch 2 und 30 Minuten mit der üblichen Fehlingschen Lösung gekocht und die ausgeschiedenen Mengen Kupferoxydul als Kupferoxyd gewogen wurden. Dabei sind folgende Ergebnisse erhalten worden:

1) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23. 3796, 1896.

2) Landwirtsch. Versuchsst. 58, 219, 1905.

3) Landwirtsch. Versuchsst. 36, 304, 1899.

4) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 371, 1895.

5) Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 399, 1897.

I.

a) Durch 2 Minuten langes Kochen reduzieren 100 mg Zucker Milligramm Kupfer:

Zuckerart	Gehalt der Lösung			
	1% mg	0,75% mg	0,50% mg	0,25% mg
Glucose	182,4	185,9	190,0	194,8
Xylose	185,4	189,2	188,9	196,4
Arabinose	192,5	194,4	193,2	200,4
Zu gleichen Teilen Glucose und Arabinose	189,4	190,1	191,2	196,8
Zu gleichen Teilen Glucose und Xylose	183,6	186,8	191,1	194,4

b) Durch 2 Minuten langes Kochen werden 100 mg Kupfer reduziert durch:

Zuckerart	Gehalt der Lösung			
	1% mg	0,75% mg	0,50% mg	0,25% mg
Glucose	54,8	53,8	52,6	51,3
Xylose	53,9	52,8	52,9	50,9
Arabinose	52,0	51,5	51,8	49,9
Zu gleichen Teilen Glucose und Arabinose	52,8	52,6	52,3	50,8
Zu gleichen Teilen Glucose und Xylose	54,5	53,5	52,3	51,4

II.

a) Durch 30 Minuten langes Erhitzen reduzieren 100 mg Zucker Milligramm Kupfer:

Zuckerart	Gehalt der Lösung			
	1% mg	0,75% mg	0,50% mg	0,25% mg
Glucose	184,8	197,8	203,0	218,4
Xylose	189,2	193,2	198,0	214,6
Arabinose	198,5	206,0	212,8	224,6
Zu gleichen Teilen Glucose und Arabinose	196,5	203,7	213,2	221,2
Zu gleichen Teilen Glucose und Xylose	188,2	193,5	199,6	217,2

b) Durch 30 Minuten langes Erhitzen werden 100 mg Kupfer reduziert durch:

Zuckerart	Gehalt der Lösung			
	1% mg	0,75% mg	0,50% mg	0,25% mg
Glucose	54,1	50,6	49,3	45,8
Xylose	52,9	51,7	50,5	46,4
Arabinose	50,4	48,5	47,0	44,5
Zu gleichen Teilen Glucose und Arabinose	50,9	49,1	46,9	45,2
Zu gleichen Teilen Glucose und Xylose	53,0	51,7	50,1	46,0

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß die reduzierende Wirkung der Xylose und Arabinose etwas größer ist als die der Glucose. Aber die Differenzen sind für die Praxis wohl belanglos und kommen wenigstens bei der Glucose und Xylose nicht in Betracht. Mit diesen Ergebnissen stimmen auch die von Stone im wesentlichen überein. Er fand, daß je 100 mg Xylose und Arabinose mit 70 ccm Fehlingscher Lösung nach 4 Minuten Kochzeit folgende Mengen Kupfer reduzieren:

Zuckerart	Gehalt der Lösung			
	1% mg	0,75% mg	0,50% mg	0,25% mg
Xylose	186,4	184,1	190,0	195,9
Arabinose	194,5	192,9	195,8	200,0

Es wird damit gleichzeitig bewiesen, daß die Bestimmung bei einer Kochzeit von 2 Minuten durchaus einwandfreie Ergebnisse liefert. Die höheren Werte, die durch 30 Minuten langes Erhitzen erhalten werden, stehen bei den Pentosen in dem gleichen Verhältnisse wie bei der Glucose, und es ist fraglich, ob sie mehr durch äußere Einflüsse verursacht worden sind, als durch das wirkliche Reduktionsvermögen. Ferner ist beachtenswert, daß bei 2 Minuten langem Kochen der Kupferwert in den verschiedenen Konzentrationen sich weniger verändert, als bei 30 Minuten langem Erhitzen. Daß nach 2 Minuten langem Kochen ungefähr dieselben Zahlen erhalten wurden, als

von Stone nach 4 Minuten, ist einerseits ein Beweis dafür, daß die Reduktion nach 2 Minuten praktisch beendet ist, und andererseits zeigt es, daß der Gehalt der Fehlingschen Lösung an Kupfer, sofern er in mäßigem Überschuß vorhanden ist, nur von geringem Einfluß auf die gewichtsanalytische Zuckerbestimmung sein kann. Ganz ebenso ist es mit der Xylose der Fall gewesen. Auch da stimmt der Reduktionsfaktor von Stone mit dem von uns gefundenen gut überein. Den Grund, weswegen Weiser und Zaitschek zu anderen Ergebnissen gelangt sind, glauben wir hauptsächlich in der Verschiedenheit des angewendeten Versuchsmaterials zu erblicken. Die von uns benutzte Arabinose stammte aus der Fabrik von Dr. Schuchardt in Görlitz. Ihrer Reinheit versicherten wir uns durch die Polarisation der Lösung, wobei wir die Mitteilungen von B. Tollens¹⁾, der für Arabinose einen spezifischen Drehungswinkel von $+108,2 - 0,4p + 0,04p^2$ angibt, benutzten. Für Xylose gibt B. Tollens einen Drehungswinkel von $+18,1 + 0,07p$, für Glucose einen solchen von $+52,5 + 0,018796p + 0,000517p^2$ an. Hierbei bedeutet p den Prozentgehalt der Lösung. Ferner kontrollierten wir den Gehalt einer bestimmten Menge Lösung durch Eindampfen und Trocknen. Die Polarisation einer 1%igen Arabinoselösung ergab nach 24 Stunden eine Drehung von $+2,15^\circ$ im 200 mm-Rohr, was nach der Formel $c = \frac{a \cdot V}{l \cdot a_D}$ genau einem Gehalt von 1,00% entspricht. 25 ccm dieser Lösung in einer Platinschale eingedampft und bei 105° 3 Stunden getrocknet, ergaben 0,2498 g Rückstand.

Die 1%ige Glucoselösung drehte im 200 mm-Rohr $+1,04^\circ$ nach 20 Stunden, was nach der Formel $c = \frac{a \cdot V}{l \cdot a_D} = 0,9902$ g Glucose in 100 ccm Wasser entspricht, während durch Eindampfen und Trocknen von 25 ccm Lösung bei 105° 0,2505 g Rückstand erhalten wurden. Die 1%ige Xyloselösung drehte nach etwa 20 stündigem Stehen im 200 mm-Rohr $+0,38^\circ$, also nach der Formel $c = \frac{a \cdot V}{l \cdot a_D}$ entsprechend einem Gehalt von 1,04%. 25 ccm dieser Lösung eingedampft, ergaben nach dem Trocknen bei 105° einen Rückstand von 0,2515 g Xylose.

¹⁾ B. Tollens, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 1909, 123.

Der Aschengehalt der Arabinose-, Xylose- und Glucoselösung war gleich Null. Wenn von Weiser und Zaitschek zur Begründung des Pflügerschen Verfahrens angeführt wird, daß bei dem 2 Minuten langen Kochen die Beurteilung des ersten Aufkoochens eine individuelle und dieser Umstand von der Größe der Flamme und der Wandstärke der Kochschale abhängig ist, so muß dem entgegenet werden, daß auch bei dem Erhitzen innerhalb 30 Minuten im siedenden Wasserbade mancherlei äußere Umstände in Betracht kommen, die das Analyseergebnis beeinflussen können, so z. B. die Wasserverdunstung und die dabei eintretende Konzentrationsänderung, Zutritt¹⁾ von Luft und Heizgasen usw. Daß diese äußeren Umstände bei 2 Minuten langem Kochen nicht so störend sind, ergibt sich aus den Doppelbestimmungen, die selten mehr als 2 bis 3 mg Unterschied zeigten. Einer größeren Genauigkeit bedarf es für die Praxis wohl nicht, und daher wäre es empfehlenswert, diese Art der Zuckerbestimmung auch bei Berücksichtigung der Pentosen beizubehalten, zumal fast in allen Laboratorien nach dem Allihn-Meißlschen Verfahren mit 2 Min.-Kochzeit gearbeitet wird.

Bei der oben angeführten Glucosetabelle sei noch erwähnt, daß nach Allihn-Meißl 100 mg Kupfer 50,9 mg Glucose entsprechen, während in obiger Tabelle je nach der angewendeten Konzentration 100 mg Kupfer einen Wert von 54,8; 53,8; 52,6; 51,3 mg Glucose ergeben. Aber auch die Allihn-Meißl-Tabelle ist nach der Konzentration berechnet, und wenn man die von uns gefundenen Kupfermengen nach derselben auf die angewendeten Glucosemengen umrechnet, so erhält man gut übereinstimmende Ergebnisse. In nachfolgender Tabelle ist eine Zusammenstellung angegeben, die zeigen soll, in welchem Verhältnis die angegebene Menge zur gefundenen steht. Aus den Kupferwerten derselben sind die Zahlen in der früheren Tabelle für 100 mg umgerechnet. Verwendet wurden stets 20 ccm Zuckerlösung, 60 ccm Fehlingsche Lösung und 65 ccm Wasser. Dieses Gemisch wurde 2 Minuten im Sieden erhalten.

¹⁾ Die störenden Einflüsse dieser Art haben J. Kjeldahl (Zeitschr. f. anal. Chem. 35, 345, 1896) zu dem Vorschlage veranlaßt, die Reduktionen in einem Ströme von Wasserstoff vorzunehmen.

Gefunden	In 100 ccm Lösung sind enthalten			
	1,00 g	0,75 g	0,50 g	0,25 g
Reduziertes Kupfer für 20 ccm Lösung	364,8	278,9	190,0	97,4
Daraus berechnet Glucose nach Allihn-Meißl	192,8	144,9	97,3	49,6
In 100 ccm Lösung Gramm Glucose	0,96	0,72	0,47	0,25
Reduktionswert von 100 mg Kupfer, nach obigen Werten berechnet	54,8	53,8	52,6	51,3
Reduktionswert für 100 mg Kupfer nach Allihn-Meißl	52,9	51,9	51,2	50,9

Daraus ergibt sich, daß die Stärkebestimmung durch Inversion für die Praxis genügend gute Ergebnisse liefern wird, wenn man den Reduktionswert der Glucose nach der Allihn-Meißlschen Tabelle unter Abzug der Pentosen durch Multiplikation mit 0,9 für Stärke berechnet. Bei den Versuchen mit reiner Stärke, auf die es uns vor allem ankam, haben wir auf die geringe Menge Pentosen in der Zuckerlösung keine Rücksicht genommen, zumal bei dem 2¹/₂- bis 3stündigen Kochen mit 2% iger Salzsäure stets eine kleine Menge Glucose zerstört wird. Dagegen sind bei Kleien und anderen Futtermitteln die bei der Inversion in Lösung gegangenen Mengen von Pentosen so groß, daß sie mit in Betracht gezogen werden müssen. Wir bestimmten die Pentosen für sich nach der Vorschrift von B. Tollens¹⁾ durch Destillation eines aliquoten Teiles der durch Inversion mit Salzsäure erhaltenen Lösung. Aus dem gefundenen Phlorogluzid wurde die entsprechende Menge Xylose und daraus die entsprechende Menge Kupfer berechnet²⁾, um durch Subtraktion der letzteren von der Gesamtmenge Kupfer die der Glucose, bzw. der Stärke entsprechende Menge Kupfer zu erhalten. Man kann aber auch ohne merklichen Fehler die gefundene Xylose von der aus der Gesamtreduktion berechneten Glucose abziehen, da, wie wir aus dem Vorhergehenden gesehen haben, der Reduktionsfaktor der Xylose nur wenig von dem

¹⁾ J. König, Untersuchung landw. u. gewerbl. wichtiger Stoffe, 1906, 243.

²⁾ Daselbst, 1906, 231.

der Glucose abweicht und wir es in den Futter- und Nahrungsmitteln vorwiegend mit ihr und weniger mit Arabinose zu tun haben.

1. Polarisationswert verschiedener Stärkesorten.

Nach diesen Vorprüfungen kam es weiter darauf an, das polarimetrische Verfahren bei einer größeren Anzahl reiner Stärkesorten zu prüfen, da C. J. Lintner und E. Ewers nur bei einigen wenigen Sorten die spezifische Drehung ermittelten. Im ganzen gelang es uns, 19 Stärkearten zu gewinnen, von denen 10 bis jetzt noch nicht auf ihr polarimetrisches Verhalten untersucht worden waren. Außer Wasser, Protein, Asche, Pentosanen — in einzelnen Fällen Fett — wurde die Stärke auch direkt durch Inversion mit 2%iger Salzsäure in oben angegebener Weise bestimmt. Das Verfahren von E. Ewers¹⁾ wurde in folgender Weise ausgeführt:

5 g Substanz werden mit 25 ccm verdünnter Salzsäure, die für Getreidestärke 1,125% und für Kartoffel- und Marantastärke 0,4215% Salzsäure enthält, in einem 100 ccm-Kolben geschüttelt und mit weiteren 25 ccm der Salzsäure nachgespült. Der Kolben wird genau 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt. Während der ersten 3 Minuten ist mehrmals umzuschwenken. Nach der Erhitzung wird mit kaltem Wasser auf etwa 90 ccm aufgefüllt, auf 20° abgekühlt, je nach der Trübung mit 0,5 bis 3,0 ccm molybdänsaurem Natrium (120 g MoO₃ in 1 l) geklärt, auf 100 ccm aufgefüllt, filtriert und polarisiert.

C. J. Lintner²⁾ schreibt folgendes Verfahren vor: 2,5 g Substanz werden mit 10 ccm Wasser verrieben, der Brei wird mit 15 bis 20 ccm konzentrierter Salzsäure vermischt und genau $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen. Dann spült man die Masse mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,125 in ein 100 ccm-Kölbchen, setzt 5 ccm 4%ige Phosphorwolframsäurelösung zu, füllt mit der verdünnten Salzsäure auf, filtriert und polarisiert.

Die hiernach erhaltenen Werte waren folgende:

¹⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 16, 509, 1908.

²⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 14, 205, 1907.

Stärkesorten	In der ursprünglichen Substanz					Stärke aus der		Drehung nach		Molekularer Drehungswinkel			
	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	Pentosane	Asche	Differenz ¹⁾	Inversion	Lintner	Ewers	Lintner		Ewers	
										Differenz ¹⁾	Inversion	Differenz ¹⁾	Inversion
%	%	%	%	%	%	%	°	°	°	°	°	°	
1. Kartoffel	13,94	0,74	0,12	2,10	0,30	82,80	81,45	8,33	15,88	201,2	204,5	191,8	195,0
2. Mais	10,51	1,06	0,09	2,34	0,10	85,90	84,20	8,64	15,68	201,2	205,2	182,5	186,2
3. Reis	10,47	1,10	0,14	2,07	0,86	85,36	84,36	8,57	15,86	200,8	203,2	185,8	188,0
4. Weizen	11,29	0,44	0,18	2,63	0,20	85,26	83,80	8,54	15,58	200,3	203,8	182,7	185,9
5. Roggen	9,10	0,70	—	2,03	0,74	87,43	85,14	9,76	15,57	200,4	205,8	—	182,9
6. Gerste	12,41	1,63	—	1,75	0,33	83,88	80,86	8,31	15,10	198,2	205,5	180,0	186,7
7. Hafer	12,11	1,31	—	1,93	1,31	83,34	79,80	8,05	14,36	193,2	201,8	—	180,0
8. Hirse	10,63	2,50	—	2,33	2,43	82,11	74,94	7,54	12,24	183,7	201,2	—	165,5
9. Bohnen	14,97	3,94	—	2,48	0,61	78,00	76,62	7,98	13,21	204,6	208,3	169,4	172,4
10. Linsen	9,13	1,36	—	2,16	1,35	86,00	82,20	8,42	7,62 ²⁾	195,8	204,8	181,3	185,4
11. Erbsen	14,34	1,01	—	2,17	0,35	82,13	80,88	8,13	15,19	198,0	201,0	185,0	187,8
12. Buchweizen	14,56	1,30	—	1,89	0,48	80,77	79,98	8,06	13,73	199,6	201,6	170,0	171,7
13. Arow-Root	11,95	0,31	—	2,20	0,14	85,40	84,00	8,48	15,62	198,6	201,9	182,9	185,9
14. Maranta	14,04	0,47	—	1,78	0,09	83,62	80,48	8,56	15,18	204,7	212,7	177,4	184,3
15. Palmensago	11,38	1,16	—	1,73	0,34	85,39	82,56	8,65	15,40	202,6	209,6	180,3	186,5
16. Sago, Bot. Institut Hamburg	12,43	0,11	—	1,90	0,15	85,41	83,30	8,63	14,90	202,1	207,2	174,5	178,9
17. Tapioka	11,45	1,18	—	1,67	0,07	85,73	82,88	8,74	15,56	203,9	210,9	181,5	187,7
18. Tapioka, Bot. Institut Hamburg	12,23	Spur	—	1,94	0,34	85,49	84,00	8,70	15,27	203,5	207,2	178,6	181,8
19. Pfeffer	11,29	1,08	—	2,85	0,57	84,21	81,80	8,50	15,09	201,9	207,8	179,2	184,5
Mittel	12,01	1,13	0,14	2,09	0,56	84,28	81,75	8,39	15,02	199,97	205,5	178,0	182,9

Wie sich aus dieser Zusammenstellung ergibt, ist der molekulare Drehungswinkel je nach dem angewendeten Verfahren bei den einzelnen Stärkesorten verschieden. Stets ist er nach dem Ewerschen Verfahren niedriger als nach dem von C. J. Lintner. Der Grund liegt zweifellos darin, daß durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure ein stärkerer Abbau der Glucose stattfindet, als durch die $\frac{1}{2}$ stündige Einwirkung von konzentrierter Salzsäure in der Kälte auf die Stärke.

Da der aus der Differenz berechnete Stärkewert stets 2—3%, höher ist als der durch die Inversion gefundene, so ist der molekulare Drehungswinkel bei jeder Stärke, wenn er aus der Differenz berechnet wurde, niedriger, als wenn man die durch Inversion gefundenen Werte zugrunde legt. Wir halten jedoch

¹⁾ D. h. 100 — (Wasser + Protein + Fett + Pentosane + Asche).

²⁾ Polarisiert im 100 mm-Rohr.

letztere für richtiger, weil ohne Zweifel in jeder Stärke noch „sonstige stickstofffreie Stoffe“ enthalten sind, deren Ermittlung noch nicht gelungen ist.

C. J. Lintner hat für alle Stärkesorten einen mittleren Polarisationswinkel, nämlich 202° , angegeben, wobei er zu seinen Versuchen Gersten-, Roggen-, Weizen-, Mais-, Reis- und Kartoffelstärke verwendete, die er rein dargestellt oder als bestes Handelsprodukt bezogen hatte. Er bestimmte den Nichtstärkegehalt und nahm als Grundlage für seine Untersuchungen die Differenz aus $100 - \text{Nichtstärke}$. Etwa denselben mittleren Polarisationswinkel würden wir erhalten, wenn wir ebenfalls die Differenzbestimmung zugrunde legten, nämlich im Mittel $200,4^\circ$; nach dem Stärkegehalt aus der direkten Bestimmung ergibt sich jedoch ein mittlerer Wert von $204,7^\circ$.

Von Ewers ist kein mittlerer Polarisationswinkel angegeben worden. Seine Versuche beziehen sich auf acht verschiedene Stärkesorten, für die er folgende Werte angegeben hat:

Weizen 182,7	Hafer 181,3	Maranta	193,8
Roggen 184,0	Reis 185,9	Kartoffel	195,4
Gerste 181,5	Mais 184,5	Kartoffel (mit stärkerer	
		Säure	185,7

Die von uns für Weizen-, Gersten-, Mais- und Reisstärke gefundenen Werte stimmen mit denen von Ewers annähernd überein. Die Aufstellung eines mittleren Wertes für alle Stärkesorten halten wir ebenfalls für nicht empfehlenswert, denn Kartoffelstärke mit $195,0^\circ$ und Hirsestärke mit $165,5^\circ$ bilden einen zu großen Unterschied. Zieht man jedoch nur die im Handel vorwiegend vorkommenden Getreidestärken in Betracht, so wäre auch hier die Aufstellung eines mittleren Drehungswinkels möglich, denn derselbe schwankt in ziemlich engen Grenzen und beträgt für Mais, Reis, Weizen, Roggen, Gerste und Hafer nach Ewers im Mittel $183,3^\circ$, nach vorstehenden Versuchen $183,7^\circ$, berechnet nach dem Stärkegehalt aus der indirekten Bestimmung, und $184,9^\circ$, berechnet aus der direkten Bestimmung der Stärke.

Zu der Ausführung des Verfahrens von C. J. Lintner und Ewers ist noch folgendes zu sagen.

Bei reinen Stärkesorten genügt die angegebene Vorschrift, dagegen bedarf es bei anderen Stärken, die noch einige Ver-

unreinigungen aufweisen, einiger Abänderungen. Das Filtrat ist oft trübe und läßt sich nicht polarisieren, auch wenn größere Mengen der Klärungsflüssigkeit verwendet werden. In solchen Fällen erweist sich das vorhergehende Auswaschen der Stärke mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther als ein vorzügliches Hilfsmittel. 5 g der Substanz werden nach Ewers in einen Nickeltiegel mit Asbesteinlage gebracht und darauf wird erst mehrmals kaltes Wasser, zuletzt Alkohol und Äther gegeben. Die Stärke wird dann mit dem Asbest in das 100 cm-Kölbchen gebracht und nach der angegebenen Vorschrift weiter behandelt. Auf diese Weise erhält man stets gute Filtrate. Bei dem Verfahren von C. J. Lintner ist auch Vorsicht bei der Anwendung der Fällungsflüssigkeit geboten. Für reine Stärkesorten genügen einige Tropfen, um sämtliche Verunreinigungen abzuscheiden und eine klare Lösung zu erzielen. Zuviel Phosphorwolframsäurelösung verursacht ein trübes, unbrauchbares Filtrat und gleichzeitig Abscheidung von Stärke, so daß also unrichtige Ergebnisse erhalten werden. Am besten läßt man nach dem Zusatz des Fällungsmittels die Flüssigkeit ein wenig absitzen und beobachtet die darüber stehende Lösung. Bei einiger Übung erkennt man sofort, ob die Klärung eine vollständige war oder nicht.

Im allgemeinen liefert das Ewerssche Verfahren bessere Filtrate wie das Lintnersche. Dieselben sind fast alle farblos, während die Lintnerschen fast stets eine gelbe Färbung aufweisen. Nur bei Linsenstärke, bei welcher das Filtrat blaugrün gefärbt war, und bei Hirsestärke, von der man eine grüngelbe Lösung erhält, empfiehlt es sich, ausschließlich das Lintnersche Verfahren anzuwenden. Jedenfalls aber geht aus den Untersuchungen hervor, daß das Ewerssche wie das Lintnersche Verfahren für alle Stärkesorten gleich gut brauchbar sind.

2. Bestimmung der Stärke in Futter- und Nahrungsmitteln.

Von größter Bedeutung war die weitere Frage, ob und wie das polarimetrische Verfahren für die Stärkebestimmungen in den Futter- und Nahrungsmitteln sich anwenden ließe. Den ersten Versuch nach dieser Richtung haben J. König und W. Sutthoff¹⁾ gemacht, indem sie die durch das Lintner-

¹⁾ Landw. Versuchsstationen 70, 343, 76, 1909.

sche polarimetrische Verfahren bei Kleien, Pfeffer, Treber, Kakao erhaltenen Ergebnisse mit den durch Inversion für die Stärke erhaltenen Ergebnissen verglichen. A. Scholl¹⁾ hat weitere Untersuchungen bei Kartoffeln angestellt und in folgender Weise ausgeführt:

20 g des gut durchmischten homogenen Kartoffelbreies — genaue Vorschriften darüber befinden sich in der unten angegebenen Abhandlung — werden auf eine mit stärkedichter Asbestlage versehene Filterplatte gebracht, nachdem die Saugpumpe angesetzt worden ist. Der Rückstand wird dreimal mit je 5 bis 10 ccm Wasser, dreimal mit je etwa 5 ccm 96%igem Alkohol und endlich mit wenig Äther ausgewaschen. Alsdann bringt man den Rückstand mit dem Asbest in die zum Abwägen des Breies benutzte Schale zurück, verteilt ihn mit 20 ccm Wasser, fügt 40 ccm konz. Salzsäure (1,19) hinzu und verrührt die Masse möglichst gleichmäßig. Nach etwa $\frac{1}{4}$ stündigem Stehen rührt man nochmals gut durch, läßt noch weitere 15 Minuten stehen, spült die Masse alsdann mit Wasser in einen 200 ccm-Kolben und füllt unter Beachtung der Normaltemperatur des Kolbens mit Wasser zur Marke auf, nachdem man vorher 6 ccm Lintnersche Phosphorwolframsäurelösung als Klärflüssigkeit zugefügt hat. Für die in der Flüssigkeit suspendierten festen Stoffe kann eine Korrektur angebracht werden, die rund 0,9 ccm betragen würde. Nach dem Durchmischen wird filtriert und das Filtrat bei der Normaltemperatur polarisiert.

Die auf diese Weise erzielten Werte stimmen mit den durch das Lintnersche Kochverfahren erhaltenen gut überein, so daß man das polarimetrische Verfahren zur Bestimmung der Stärke in den Kartoffeln wohl empfehlen kann.

A. Scholl hat dann auch verschiedene Futtermittel (Getreideabfälle) untersucht und die Stärke im Pfeffer polarimetrisch bestimmt. Da aber diese Untersuchungen nicht als abgeschlossen gelten sollten und in einzelnen Fällen, namentlich bei grobkörnigem Material, Differenzen lieferten, so haben wir sie von neuem aufgenommen und ergänzt.

Zuerst haben wir eine große Anzahl Futtermittel untersucht, wie sie im Handel häufig vorkommen, und zwar Weizenkleie,

¹⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 18, 1 u. 2, 1909.

Reismehl, Roggenkleie, Gerstenschrot, Gerstenmehl und Hafer-
schrot.

Festgestellt wurde der Gehalt an Wasser, Stickstoffsubstanz, Fett, Pentosanen und Asche, ferner der Gehalt an Rohfaser, der bekanntlich bei Futtermitteln eine ziemliche Höhe erreichen kann. Aus der Differenz wurden die sonstigen stickstofffreien Extraktstoffe berechnet. Ferner wurde der Stärkegehalt durch Kochen mit etwa 2%iger Salzsäure festgestellt, wobei die in der invertierten Lösung befindlichen Pentosen berücksichtigt wurden. Am Schluß wurden die Proben polarimetrisch untersucht und sowohl das Verfahren von Ewers wie das von C. J. Lintner angewendet. Die erhaltenen Werte befinden sich in nachstehender Tabelle:

Futtermittel	In der ursprünglichen Substanz							Inversion			Polarisation				
	Wasser	Stickstoff- substanz	Fett	Pentosane	Sonstige stickstofffreie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche	Pentosen	Glucose	Stärke	Drehung		Stärke		
											°/o	°/o	°/o	°/o	°/o
Griekleie															
(Weizen)	9,68	17,71	3,58	20,63	37,63	6,37	4,40	17,15	48,60	28,30	2,82	5,06	27,67	27,22	
Grandkleie															
(Weizen)	9,48	18,11	4,67	22,72	31,65	8,55	4,82	22,66	42,40	17,77	1,80	3,20	17,67	17,21	
Schalenkleie															
(Weizen)	9,78	15,89	3,70	28,61	25,16	11,23	5,63	27,25	41,40	12,74	1,30	2,20	12,50	11,84	
Flugkleie															
(Weizen)	9,28	7,72	1,25	30,66	34,51	14,60	1,98	28,19	52,48	21,86	1,08 ¹⁾	2,05 ¹⁾	21,20	22,05	
Reismehl. . .	11,52	10,87	12,36	10,47	33,49	11,28	10,01	8,60	34,90	23,67	2,60	4,60	25,59	24,47	
Reismehl. . .	9,86	12,06	11,53	9,67	39,58	7,59	9,71	7,10	43,00	32,31	3,45	6,15	33,96	32,71	
Reismehl. . .	9,53	11,33	11,79	10,64	33,09	9,94	13,68	8,70	31,10	20,16	2,25	4,18	22,14	22,24	
Reismehl. . .	9,44	11,47	11,58	10,02	34,20	8,38	14,91	8,05	33,45	22,86	2,55	4,70	25,10	25,00	
Roggenkleie .	9,79	16,48	3,74	21,55	35,80	7,19	5,45	20,19	44,50	21,96	2,25	4,00	21,87	21,87	
Roggenkleie .	11,93	15,14	3,46	—	—	6,36	4,96	20,75	46,10	22,82	2,15	3,76	20,90	20,66	
Roggenkleie .	13,08	14,49	3,55	—	—	6,41	5,68	20,05	45,20	22,63	2,20	3,78	21,38	20,67	
Roggenkleie .	12,89	14,34	3,30	—	—	7,06	5,63	20,05	45,70	23,08	2,25	3,90	21,87	21,32	
Gerstenschrot	14,68	11,81	2,08	13,06	51,31	4,40	2,66	9,45	59,55	45,09	4,75	8,15	46,23	43,66	
Gerstenschrot	11,65	13,50	2,49	11,49	52,33	5,04	3,50	9,55	59,70	45,13	4,48	8,16	43,60	43,71	
Gerstenmehl .	12,13	13,10	2,49	10,85	54,54	4,31	2,58	9,40	59,80	45,36	4,65	8,15	45,26	43,66	
Hafer- schrot .	14,84	12,60	4,03	14,13	39,32	10,68	4,49	14,00	47,15	29,84	3,00	5,50	29,73	30,55	
Schrotgries .	13,49	16,41	2,86	9,93	52,15	2,78	2,38	8,90	55,45	41,90	4,40	8,10	43,18	43,57	
Schrotgries .	13,27	17,75	3,88	13,97	42,60	4,73	3,80	12,05	48,65	32,94	3,38	6,09	33,17	32,76	

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man, daß die durch
Polarisation gefundenen Werte sowohl nach dem Lintnerschen
wie nach dem Ewersschen Verfahren im Vergleich zu der Be-

stimmung mittels Inversion durchgängig gut sind. Notwendig jedoch ist es, hier noch mehr als bei den Stärkesorten, daß bei allen Bestimmungen ein sorgfältiges Auswaschen mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther vorangeht, wie es schon bei den reinen Stärkesorten angegeben ist. Die bei dem Auswaschen in Lösung gehenden Stoffe sind insbesondere Mono- und Polysaccharide, die wenigstens das gewichtsanalytische Ergebnis wesentlich beeinflussen würden. Um zu zeigen, wie wichtig das Auswaschen ist und welche Fehler man durch seine Unterlassung begehen würde, haben wir bei den vier ersten Proben den Gehalt der in kaltem Wasser löslichen und Fehlingsche Lösung reduzierenden Substanzen festgestellt. Auf Glucose berechnet, ergibt sich bei Grieskleie ein Gehalt von 4,88%, bei Grandkleie 4,80%, bei Schalenkleie 9,00% und bei Flugkleie 6,08% derartiger Stoffe, die also keine Stärke sind, aber trotzdem in der invertierten Lösung eine Reduktion von Kupfer bewirken. Die Substanz wird, wie vorher, abgewogen und in einen Nickeltiegel mit Asbesteinlage gebracht, dann saugt man rasch 2 bis 3mal kaltes Wasser hindurch und hierauf 1 bis 2mal Alkohol und Äther. Die letzten Mittel sollen vorwiegend bewirken, daß die Substanz leichter aus dem Tiegel herausgebracht werden kann. Allerdings werden durch Alkohol und Äther auch andere organische Stoffe, insbesondere Fette, gelöst, doch können diese den Drehungsgrad nicht beeinflussen. Dies gilt allerdings nur bei den fettarmen Futtermitteln, bei anderen stärkehaltigen Produkten, wie z. B. Zimt, Kakao, Pfeffer, ist ein sorgfältiges Auswaschen mit Alkohol und Äther gerade auch behufs Fettlösung notwendig. Fein gepulverte Proben werden bei dieser Behandlung meist genügend gereinigt. Grieskleie, Reis- und Gerstenmehle ballen sich meistens beim ersten Übergießen mit kaltem Wasser zusammen und verhindern auf diese Weise die Beseitigung sämtlicher löslichen Stoffe. Man hilft sich dann dadurch, daß man vorsichtig mit einem kleinen Glasstab den Tiegelinhalt umrührt, wobei man das Absaugen natürlich nicht unterbrechen darf und eine Berührung der Asbestschicht möglichst vermeiden muß, oder man saugt vorher Alkohol durch. Das letztere hat allerdings den Nachteil, daß dadurch das spätere Durchsaugen von Wasser erschwert wird. Die Substanz vorher in ein Becherglas zu bringen, mit kaltem Wasser zu übergießen

und solange stehen zu lassen, bis sich die Flüssigkeit klar abgesetzt hat, und dann dekantierend den oberen Teil durch das Asbestfilter abzugießen, bis die ganze Masse sich auf dem Filter befindet, bringt nach hiesiger Erfahrung wenig Vorteil. Meist setzt sich die Masse kleisterartig an das Gefäß fest, und man braucht große Wassermengen, um sie vollständig überzuspülen. Da aber das Absaugen am Schluß auch hier Schwierigkeiten verursacht, so können Stunden vergehen, ehe man die ganze Substanz in den Tiegel gebracht hat. Vorteilhaft hat es sich erwiesen für den Fall, daß das Absaugen absolut keine Fortschritte machen sollte, die Substanz mit der Flüssigkeit über Nacht ohne zu saugen ruhig stehen zu lassen. Meist tropft dann die Flüssigkeit schon allein durch, und der letzte Rest läßt sich mit der Saugpumpe leicht beseitigen.

Nachdem man die Reinigung der Proben in dieser Weise vollendet hat, bringt man den Tiegelinhalt, wenn man das Lintnersche Verfahren anwenden will, in eine Porzellanschale. Bleiben noch Reste an der Tiegelwand hängen, so schabt man sie mit einem Spatel heraus und putzt mit einem Pinsel nach. Mittels eines Spatels und einer Pinzette zerzupft man die Masse und übergießt sie mit 15 ccm Wasser, das man mit einem Glasstab unter die Masse gleichmäßig verreibt. Dann fügt man 20 ccm der konz. Salzsäure (1,19) hinzu, verrührt hiermit und wiederholt dieses letztere öfters, damit sich sämtliche Stärketeilchen lösen. Nach Verlauf von $\frac{1}{3}$ Stunde — die Zeit muß möglichst genau eingehalten werden — wird die ganze Masse in ein 100 ccm-Kölbchen gebracht und mit Salzsäure (1,125) nachgespült, bis das Volumen etwa 80 ccm beträgt. Dann werden einige Tropfen Phosphorwolframsäurelösung zugefügt, der Inhalt umgeschüttelt und wenige Minuten stehen gelassen. — Der anfangs auftretende weiße Niederschlag, der teilweise mit ausgefällte Stärke enthält, löst sich beim Umschütteln wieder auf. — Nach dieser Zeit sieht man meist eine klare Flüssigkeit durchschiimmern. Ist dies nicht der Fall, so fügt man noch einige Tropfen Fällungsflüssigkeit zu, wobei man aber immer vor Augen haben muß, daß eine zu große Menge derselben nachteilig ist, da Stärke mit niedrigerissen werden kann und die Filtrate getrübt werden. Bei Futtermitteln und wohl auch bei anderen stärkehaltigen Nahrungs- und Genußmitteln tritt auf Zusatz dieser Klärflüssig-

keit auch ein Farbumschlag ein, so daß man dadurch einen Anhaltspunkt für die zuzusetzende Menge hat. Dann füllt man bis zur Marke mit der Salzsäure (1,125) auf und filtriert durch ein doppeltes oder dreifaches Papierfilter. Faltenfilter sind nicht zweckdienlich, weil das Filtrat möglichst tropfenweise abfließen soll. Die so gewonnenen Lösungen sind fast immer ganz klar und gut polarisierbar.

Will man das Ewerssche Verfahren anwenden, so ist es unbedingt notwendig, den in der Porzellanschale zerkleinerten Tiegelinhalt im Trockenschrank eine kurze Zeit zu erwärmen. Versäumt man dies, so bleiben Äther und Alkohol in der Masse und der Kölbcheninhalt beginnt beim Erhitzen im Wasserbade zu schäumen und leicht überzusteigen, so daß man den Versuch unterbrechen muß. Die getrocknete Masse bringt man auf einen Einfülltrichter und mittels eines dünnen Glasstabes in ein 100 ccm-Kölbchen. Mit 50 ccm der vorgeschriebenen Salzsäure bringt man dann die letzten Reste vom Trichter und vom Kölbchenhals in das Kölbchen. Ebenso wie das Rühren mit dem Glasstab bei dem Lintnerschen Verfahren, solange die Salzsäure auf die Masse einwirkt, äußerst wichtig ist, so ist auch das Umschütteln der erhitzten Lösung im Wasserbad bei dem Ewersschen Verfahren unbedingt notwendig, sonst ballen sich Stärketeilchen zusammen, die auch durch wiederholtes Umschwenken nicht wieder in Lösung gebracht werden können.

Flugkleie und andere voluminöse Stoffe verdrängen in einem 100 ccm-Kölbchen prozentual zuviel Flüssigkeit, so daß die Drehung zu hohe Werte ergibt. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich, bei ihnen ein 200 ccm-Kölbchen anzuwenden, indem man das Ergebnis mit 2 multipliziert. Das Filtrat war bei den Futtermitteln nach dem Verfahren von C. J. Lintner durchgängig klarer, als nach dem von Ewers. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu dem bei reinen Stärkesorten. Die Ewersschen Filtrate sind zwar auch alle klar, doch oft gefärbt. Durch das Erhitzen mit verdünnter Säure werden offenbar färbende Stoffe gebildet. Diese Färbung der Ewersschen Filtrate rührt auch zum großen Teil von der Molybdänsäurelösung her, die mit den in Lösung gegangenen Stoffen farbige Verbindungen bildet, da durch einen größeren Zusatz

des Klärungsmittels die Färbung nur verschlimmert wird. In einzelnen Fällen ist dann eine Polarisation unmöglich. Wichtig für die Stärkebestimmung in Futtermitteln mittels Polarisation ist auch die Zerkleinerung der Proben. Grobkörnige Schrote müssen erst fein gemahlen werden. A. Scholl beobachtete bei verschiedenen Proben, daß für ungemahlene Schrotgriese das Lintnersche Verfahren zu niedrige Ergebnisse lieferte und führte als Grund dafür an, daß bei den körnigen Sorten die konz. Salzsäure nicht sämtliche Stärke zu lösen imstande sei. Wir haben dieselbe Beobachtung gemacht, doch konnten wir diesen Fehler meistens durch fleißiges Umrühren mit dem Glasstab und Zerdrücken der Masse in der salzsauren Lösung beseitigen.

Um ferner festzustellen, ob die bei den Futtermitteln in mehr oder weniger großer Menge vorhandenen Pentosane einen Einfluß auf die optische Drehung haben, stellten wir aus der vorstehend untersuchten Schalen- und Flugkleie 2 Proben her, deren Pentosanmenge die Höhe von 40,7% bzw. 36,35% erreichte. Wir bewerkstelligten dies dadurch, daß wir die Kleien mit kaltem und warmem Wasser in einem Sieb ausschüttelten, um die Stärke in möglichst großer Menge zu entfernen. Das ist zwar nicht vollständig gelungen, aber der Gehalt an Stärke ist doch wesentlich verringert und der an Pentosanen wesentlich erhöht worden, wie folgende Analysen zeigen:

Nähere Bezeichnung	In der ursprünglichen Substanz							Inversion			Polarisation			
	Wasser %	Stickstoff- substanz %	Fett %	Pentosane %	Sonstige stickstoff- freie Stoffe %	Rohfaser %	Asche %	Pentosan %	Glucose %	Stärke %	Drehung		Stärke	
											Lintner	Ewers	Lintner	Ewers
Schalenkleie . . .	9,78	15,89	3,70	28,61	25,16	11,23	5,63	27,25	41,40	12,74	1,30	2,20	12,50	11,84
Dieselbe, mit kalt. u. warm. Wasser ausgewaschen . . .	—	—	—	—	—	—	—	40,70	49,30	7,74	0,72	—	7,07	—
Flugkleie . . .	9,28	7,72	1,25	30,56	34,51	14,60	1,98	28,16	52,48	21,86	1,08 ¹⁾	2,05 ¹⁾	21,20	22,05
Dieselbe, nach d. Auswaschen mit kalt. und warm. Wasser	—	—	—	—	—	—	—	36,35	50,55	12,78	0,60 ¹⁾	—	11,78	—

¹⁾ Aufgefüllt auf 200 ccm.

Trotz der Erhöhung der Pentosane läßt das durch Polarisation erzielte Ergebnis nichts zu wünschen übrig, ein Beweis dafür, daß die Pentosen keinerlei Einfluß auf die optische Drehung haben. In diesem Falle waren übrigens alle nach Ewers angestellten Versuche ergebnislos. Das Filtrat, das man von diesen beiden Proben erhielt, war braun gefärbt, und dieser Farbton ließ sich auch durch häufiges Auswaschen des Materials nicht entfernen. Als Grund dafür haben wir angenommen, daß sich durch das Trocknen der Proben nach dem Auswaschen humusartige Stoffe gebildet haben, die sich beim Erhitzen mit verdünnter Säure leicht lösen, sich aber durch Auswaschen mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther nicht vollkommen entfernen lassen.

Um den Nachweis zu erbringen, daß auch Cellulose keine Drehung des polarisierten Lichtstrahles hervorzurufen imstande ist, untersuchten wir auch zwei Reincellulosen, nämlich eine Jute-cellulose, die nach Königs Verfahren, und eine solche, die nach dem Verfahren von Tollens-Domochowski erhalten worden war. Die Zusammensetzung der beiden Cellulosen war folgende:

Nähere Bezeichnung	In der ursprüngl. Substanz		In der wasser- und aschenfreien Substanz				Polarisation			
	Wasser	Asche	Pentosane	Elementaranalyse			Drehung		Stärke	
				C	H	O	Lintner	Ewers	Lintner	Ewers
	%	%	%	%	%	%	°	°	%	%
Jute-cellulose nach König	6,11	0,49	0,51	44,51	6,00	49,40	0,00	0,00	0,00	0,00
Cellulose nach Tollens-Domochowski . . .	7,33	0,10	5,37	44,93	6,14	48,93	0,00	0,00	0,00	0,00

Daraus ergibt sich, daß Cellulose, nach den Verfahren von C. J. Lintner und Ewers behandelt, in keiner Weise eine optische Drehung des polarisierten Lichtstrahls bewerkstelligen kann. Auch nach 24stündigem Stehen konnte eine Veränderung der Lösung nicht beobachtet werden, jedenfalls aus dem einfachen Grunde nicht, weil sowohl in der konz. Salzsäurelösung, wie beim Erhitzen mit verdünnter Salzsäure keinerlei Substanz in Lösung gegangen war. Das gleiche Verhalten

zeigten auch Hemicellulosen enthaltende Stoffe, und zwar Tannenholz und Hanf. Dieselben waren mit kaltem und dann mit heißem Wasser, schließlich mit einem Gemisch von Benzol und absolutem Alkohol behandelt worden, enthielten aber trotzdem noch viele beim Kochen mit Säuren lösliche Stoffe. Über ihre nähere Zusammensetzung und die durch Polarisation erhaltenen Werte gibt nachfolgende Tabelle Aufschluß:

Nähere Bezeichnung	In der ursprüngl. Substanz		In der wasser- und aschenfreien Substanz					Polarisation			
	Wasser %	Asche %	Pentosane %	Rohfaser %	Cellulose %	Protein %	Kohlenstoff durch Elementaranalyse %	Drehung		Stärke	
								Lintner °	Ewers °	Lintner %	Ewers %
Hant	7,48	0,60	4,66	74,90	72,99	2,05	44,06	0,00	0,00	0,00	0,00
Tannenholz . . .	8,31	0,30	13,72	54,90	34,81	1,42	49,85	0,00	0,00	0,00	0,00

Ferner prüften wir das Verfahren auch bei einigen Nahrungs- und Genußmitteln, und außer Kakao und Pfeffer, die bereits von J. König und W. Sutthoff, sowie A. Scholl nach dieser Richtung hin untersucht waren, wurde auch Zimt mit herangezogen.

Die Zusammensetzung dieser war folgende:

Nähere Bezeichnung	In der ursprünglichen Substanz							Inversion			Polarisation			
	Wasser %	Stickstoffsub- stanz %	Fett %	Pentosane %	Sonstige stickstoff- freie Stoffe %	Rohfaser %	Asche %	Pentosen %	Glucose %	Stärke %	Drehung		Stärke	
											Lintner °	Ewers °	Lintner %	Ewers %
Kakao (van Houten)	2,78	21,87	29,56	2,77	—	—	8,77	2,75	13,20	9,40	0,90	—	8,79	—
Haferkakao . . .	7,54	15,51	17,67	3,65	48,24	3,17	4,22	2,80	43,00	36,18	3,60	—	35,17	—
Schwarzer Pfeffer .	13,88	12,60	7,47	7,18	42,59	10,28	6,00	3,50	40,05	32,90	—	6,40	—	34,62
Weißer Pfeffer . .	12,62	11,94	8,41	6,11	51,64	6,28	3,00	2,65	53,95	46,17	4,90	8,82	47,16	47,72
Zimt	11,96	3,79	2,02	13,42	36,90	27,60	4,31	10,25	20,85	9,54	1,10	2,20	10,75	11,90

Wir sehen daraus, daß auch bei stärkereichen Nahrungsmitteln das polarimetrische Bestimmungsverfahren angewendet werden kann. Als molekularen Drehungswinkel für Kakao haben wir 204,7°, den Mittelwert aus den Getreidestärken (vgl. S. 203) angenommen. Bei Kakao und Zimt kann nur das

Verfahren von C. J. Lintner in Frage kommen, während für Pfeffer das Ewerssche das richtigere zu sein scheint.

Bei Zimt ist ein tüchtiges Auswaschen besonders notwendig, da er noch einen anderen optisch-aktiven Körper, den Zimtaldehyd, enthält. Dieser löst sich aber leicht in heißem Alkohol und Äther. Als molekularen Drehungswinkel haben wir bei Anwendung des Lintnerschen Verfahrens wieder wie bei Kakao $204,7^\circ$ angenommen, für die Ewerssche Bestimmung $184,9^\circ$, ebenfalls einen Mittelwert.

Um zu zeigen, daß man auch Verfälschungen von Kakao und Zimt durch Zusatz von Mehl oder Stärke feststellen und quantitativ bestimmen kann, wurden Kakao und Zimt mit einer nicht bekannt gegebenen Menge Reisstärke zur Untersuchung übergeben. Für die Mischungen wurden folgende Werte gefunden:

Nähere Bezeichnung	Inversion			Polarisation nach Lintner		Gefunden		In Wirklich- keit zugesetzt	
	Pentosen %	Glucose %	Stärke %	Drehung °	Stärke %	Reis- stärke %	Kakao bzw. Zimt %	Reis- stärke %	Kakao bzw. Zimt %
Kakao mit Reis- stärke	3,00	39,95	33,25	3,30	32,24	32,37	67,63	33,00	67,00
Zimt mit Reis- stärke	9,32	33,65	21,90	2,57	25,15	19,57	80,44	21,00	79,00

Eine bessere Übereinstimmung zwischen den gefundenen und wirklich zugesetzten Mengen Stärke ließ sich nicht erwarten.

Die Berechnung der zugemischten Stärke ergibt sich aus folgender Formel:

Nennt man k = Prozentgehalt Stärke im Kakao,
 s = Prozentgehalt Stärke in der Reisstärke,
 p = Gesamtstärke und
 x = % Kakao,

dann ist

$$\frac{(100-x)s}{100} + \frac{k \cdot x}{100} = p$$

oder

$$\frac{(100-x) 84,36}{100} + \frac{8,79 x}{100} = 33,25$$

$$75,57 x = 5111$$

$$x = \frac{5111}{75,57} = 67,63\%$$

Für Zimt lautete die Formel folgendermaßen:

$$\frac{(100 - x) 84,36}{100} + \frac{10,75 x}{100} = 25,15$$

$$73,61 x = 5921$$

$$x = \frac{5921}{73,61} = 80,44\%$$

Nimmt man also als mittleren Wert für die Stärke im Kakao 9% an und für Zimt 11%, so kann man, namentlich wenn man auch die anderen Werte Protein-, Fett-, Rohfaser- und Pentosengehalt berücksichtigt, mit ziemlicher Genauigkeit die Höhe eines Mehl- oder Stärkezusatzes feststellen.

Wie wichtig oft die Bestimmung des Stärkegehaltes sein kann, hat hier erst vor kurzem ein Fall gezeigt, in dem die Identität dreier Kleiesorten angezweifelt wurde. Probe I stellte das Offertmuster dar, auf Grund dessen ein Landwirt eine bestimmte Menge Roggenkleie bezogen hatte. Probe II und III waren Muster der gelieferten Ware. Die drei Proben waren äußerlich sehr verschieden, zeigten auch geringe Unterschiede im Gehalt an Protein, Rohfaser und Mineralstoffen, dagegen fast gleichen Gehalt an Stärke, wie folgende Ergebnisse zeigen:

Nähere Bezeichnung	In der ursprünglichen Substanz					Inversion			Polarisation			
	Wasser %	Stärke- substanz %	Fett %	Rohfaser %	Asche %	Pentosen %	Glucose %	Stärke %	Drehung		Stärke	
									Lint- ner °	Ewers °	Lint- ner %	Ewers %
I. Roggenkleie (Muster) . .	11,93	15,14	3,46	6,36	4,96	20,75	46,10	22,82	2,15	3,76	20,90	20,56
II. Roggenkleie .	13,08	14,49	3,55	6,41	5,68	20,05	45,20	22,63	2,20	3,78	21,38	20,67
III. Roggenkleie .	12,89	14,34	3,30	7,06	5,63	20,05	45,70	23,08	2,25	3,90	21,87	21,32

Auf Grund gerade des Gehaltes an Stärke konnte hier trotz der äußeren Verschiedenheit behauptet werden, daß die drei Proben als gleichartig bzw. gleichwertig zu bezeichnen waren.

Zum Schlusse mögen noch einige Untersuchungen angefügt werden, welche angestellt wurden, um zu ermitteln, ob das übliche unsichere zollamtliche Verfahren zur Zollabfertigung der Kleie nicht durch das richtigere, polarimetrische Verfahren ersetzt werden könne. Es wurden für diesen Zweck 13 verschiedene Kleiesorten in der vorher angegebenen Weise unter-

sucht, und zwar 8 Proben vor und nach der Extraktion mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther. Die erhaltenen Werte sind in folgender Tabelle enthalten.

Nähere Bezeichnung	In der ursprünglichen Substanz						Stärke					
	Wasser	Protein	Fett	Stickstoff- freie u. sonst. Stoffe	Rohfaser	Asche	Polarisation				Inversion	
							Linthner		Ewers		direkt	extra- hiert
							direkt	extra- hiert	direkt	extra- hiert		
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
Grobe Schale	13,84	14,22	3,50	50,99	12,13	5,32	11,07 11,56	12,05 11,56	9,30	9,25	10,73	9,92
Übergang vom 3. Schrot . .	15,67	15,74	3,22	52,20	8,80	4,37	20,65	21,54 21,44	20,25	20,36	21,74	19,62
Bollmehl	11,97	17,10	4,22	54,40	8,04	4,27	22,14 22,43	21,54 —	21,62	21,46	23,19	20,60
Übergang von Dunst 1 . .	11,47	16,57	3,27	59,78	5,64	3,27	29,35	29,84 29,94	28,95	29,12	31,03	27,95
Übergang von Dunst 2 . .	9,73	17,89	3,99	60,44	4,94	3,10	30,04	30,14	29,83 30,26	28,57 28,79	30,87	28,17
Übergang vom 2. Schrot . .	15,65	15,37	2,19	56,05	7,01	3,73	32,31 31,52	30,44	30,21	30,32	32,00	30,31
Nachputzgries vom 2. Schrot	14,44	15,15	2,78	60,76	4,27	2,60	41,90 43,58	42,39 42,19	42,86	42,64	43,65	41,13
Übergang vom 2. Gries (fein)	14,32	16,33	2,51	61,92	2,75	2,17	47,23 47,63	46,44 46,74	48,39 48,76	47,73 46,79	49,23 48,89	47,16
Kleie	13,82	14,81	2,72	53,15	9,70	5,80	—	—	17,24	—	—	—
Bollmehl	13,47	17,88	4,76	53,57	6,24	3,98	—	—	26,43	—	—	—
Grober Gries	13,67	15,82	3,52	55,74	7,21	4,04	—	—	27,15	—	—	—
Grober Gries	13,53	17,25	4,11	56,28	4,57	4,26	—	—	24,96	—	—	—
Feiner Gries	13,70	17,20	4,05	57,93	4,10	3,02	—	—	38,70	—	—	—
Dunst	13,59	17,95	2,85	60,61	2,78	2,22	—	—	47,89	—	—	—

Hiernach wird durch das gewichtsanalytische Verfahren, wenn man den Gesamtreduktionswert auf Stärke berechnet, bei Unterlassung der vorherigen Ausziehung mit Wasser, Alkohol und Äther, durchweg erheblich mehr gefunden, als wenn die Kleien und Mehle vorher mit Wasser usw. behandelt werden, ein Befund, der nicht überraschen kann, da Kleien und Mehle, wie schon gesagt, stets mehr oder weniger Zucker und Dextrine enthalten. Bei dem polarimetrischen Verfahren macht sich dieser Umstand nicht in demselben Maße geltend, weil der Polarisationswert der Glucose erheblich geringer als der der Stärke und für die Dextrine fast gleich der Stärke ist. Trotz alledem

empfiehlt es sich doch, das Auswaschen nicht zu unterlassen, weil auf jeden Fall hierdurch besser polarisierbare Filtrate und genauere Ergebnisse erzielt werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die vorstehenden Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die polarimetrischen Bestimmungsverfahren von C. J. Lintner und Ewers lassen sich für alle Stärkesorten anwenden. Das spezifische Drehvermögen ist bei dem Lintnerschen Verfahren für die verschiedenen Stärkesorten ziemlich gleich und beträgt im Mittel rund $+202^{\circ}$. Bei dem Ewersschen Verfahren ist es verschieden, für Mais, Reis, Weizen, Roggen, Gerste und Hafer kann jedoch als mittlerer Drehungswinkel $+183,4^{\circ}$ (oder rund 183°) angenommen werden.

2. Es empfiehlt sich, Futtermittel und andere stärkehaltige Erzeugnisse vor der Aufschließung zur Polarisation mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther auszuwaschen, um tunlichst alle Stoffe, die die Polarisation fehlerhaft beeinflussen können, zu entfernen.

3. Cellulose, Hemicellulose und Pentosane beeinflussen das polarimetrische Ergebnis bei dem Lintnerschen und Ewersschen Verfahren nicht.

4. Auch zur Bestimmung bei stärkehaltigen Nahrungs- und Genußmitteln, wie Kakao, Zimt, Pfeffer, kann das polarimetrische Verfahren Verwendung finden. Bei Zimt empfiehlt sich aber ein sorgfältiges Auswaschen mit heißem Alkohol zur Beseitigung der gleichfalls optisch aktiven Zimtbestandteile. Bei Zimt und Kakao wendet man besser das Lintnersche Verfahren, bei Pfeffer das Ewerssche an.

5. Die auf polarimetrischem Wege erzielten Ergebnisse liefern für die Praxis genügend genaue Werte und stehen den gewichtsanalytischen in keiner Weise nach, sodaß man auch Verfälschungen, wie z. B. Zusätze von Mehl oder Stärke zu Kakao und Zimt, polarimetrisch leicht feststellen und quantitativ bestimmen kann.

Bestimmung des Leimes.

Von

W. Greifenhagen, J. König und A. Scholl.

(Aus der Landwirtschaftlichen Versuchstation in Münster i. W.)

(Eingegangen am 14. Juli 1911.)

Bis jetzt gibt es keine einwandfreie Bestimmung von Leim. C. Karmrodt will seinerzeit im Liebigschen Fleischextrakt 10,40% Leim (mit 1,90% Stickstoff) nachgewiesen haben. E. Kemmerich¹⁾ gibt für ihn ebenfalls 6% Leim und 30% Eiweißstoffe an. Kemmerich verwendete für den Zweck eine fraktionierte Fällung mit verschieden starkem Alkohol sowie die Fällung durch Ammonsulfat und phosphorwolframsaures Natrium und ging von der Annahme aus, daß, wenn auch nicht genau, so doch praktisch ausreichend gefällt werden:

1. Gelatine durch 50 bis 60%igen Alkohol,
2. Albumosen (Proteosen) durch 80%igen Alkohol,
3. Peptone nur durch stärksten, über 90%igen Alkohol.

Die durch Behandlung mit 80 bis 90%igem Alkohol erhaltenen Ergebnisse wurden durch Fällen mit Ammonsulfat und phosphorwolframsaurem Natrium nachgeprüft und die schlechten Übereinstimmungen durch allerlei unmaßgebliche Voraussetzungen zu erklären versucht. Auch A. Stutzer²⁾ hat

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 409, 1894.

²⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. 31, 501, 1892; 34, 372, 568, 1895.
Biochemische Zeitschrift Band 35.

unter Anwendung eines sehr umständlichen Verfahrens (Eiskühlung usw.) Alkohol zum Fällen von Pepton, Albumosen und Leim vorgeschlagen. Wir haben jedoch durch Alkohol-fällung keine richtigen und mit Kemmerichs Angaben keine übereinstimmenden Ergebnisse erhalten, und ebenso wie kein oder nur Spuren von Pepton, so auch kein Albumin und keinen Leim in reinem Fleischextrakt nachweisen können. Da Leim ebenso wie die Proteosen durch Zinksulfat gefällt wird, so müßte die Zinksulfatfällung ihn mit einschließen. Aber auch E. Beckmann¹⁾ konnte im Liebig'schen Fleischextrakt nur höchstens 0,5% Albumin + Leim (d. h. Formalinfällung) feststellen. Das E. Beckmann'sche Verfahren ist bis jetzt das einzige das vielleicht eine Bestimmung des Leims in Fleisch-extrakten ermöglicht. Man bereitet davon eine kalte wässrige Lösung von 5 bis 10 g, bringt auf 200 ccm, bestimmt in 100 ccm, nötigenfalls unter Ansäuern mit Essigsäure, durch Kochen das Albumin, während man die andere Hälfte mit Formalin versetzt und auf dem Wasserbad verdunstet. Nach kurzem Aufkochen des Rückstandes mit Wasser sammelt man den unlöslichen Teil im Gooch'schen Tiegel, wäscht mit Wasser und trocknet bei 100°. Nach Abzug der Menge des etwa gefundenen Albumins erfährt man die Menge der Gelatine.

Es wurden nach diesem Verfahren 4 Versuche angestellt. Beim Versuch 1 wurden die Lösungen von Fleischextrakt, Albumosen, Albumin und Leim, sowie die 3 ersten Lösungen unter Zusatz von Leimlösung nur einmal und direkt mit Formaldehyd eingedunstet; beim Versuch 2 wurde während des Eindunstens mehrmals Formaldehyd zugesetzt; beim Versuch 3 blieben die Lösungen 24 Stunden mit Formaldehyd stehen und wurden erst dann eingedunstet; beim Versuch 4 wurde zu jeder Lösung mehr Formaldehyd gesetzt, nämlich 1 ccm; hiermit blieben die Lösungen 24 Stunden in der Kälte stehen und wurden erst dann wie bei Versuch 3 eingedunstet.

In den Fällungen bzw. in den Rückständen nach dem Aufkochen mit Wasser wurden folgende Mengen Stickstoff erhalten:

¹⁾ Forschungsber. über Lebensm. 1, 423, 1894.

Versuchs-Nr.	Behandlung	20 ccm Liebig'sche Fleischextraktlös.						
		Liebigs Fleisch- extrakt, etwa 10 g auf 200 ccm	Albumosen- lösung	Albumin- lösung	Leimlösung	+ 25 ccm Albumosen- lösung	+ 25 ccm Albumin- lösung	+ 25 ccm Leimlösung
		Stickstoff in 100 ccm Lösung						
		g	g	g	g	g	g	
1	Verwendete Lösung .	0,4840	0,1033	0,0918	0,1501	0,2724	0,2660	0,2984
	Gefällt durch einmal. Eindunsten m. Form- aldehyd	0,0099	0,04608	0,0824	0,0068	0,1914	0,0508	0,0120
2	Verwendete Lösung .	0,4761	0,1346	0,0918	0,0792	0,2364	0,2666	0,2556
	Gefällt durch mehr- maligen Zusatz von Formaldehyd . . .	0,0144	0,0180	0,0824	0,0094	0,0060	0,0504	0,0103
3	Verwendete Lösung .	0,4995	0,1346	0,0918	0,0792	0,2968	0,2730	0,2660
	Gefällt durch 24stdg. Stehen u. Eindunsten mit Formaldehyd .	0,0126	0,00504	0,0821	0,0518	0,0064	0,0504	0,0083
4	Verwendete Lösung .	0,5193	0,1346	0,0601	0,0792	0,3056	0,2842	0,2748
	Wie bei Vers. 3, nur mehr Formaldehyd zugesezt	0,0072	0,0025	0,0554	0,0626	0,0088	0,0336	0,1200

Man ersieht aus diesen Versuchen, daß der Leim erst dann in annähernd quantitativer Menge gefällt wird, wenn die Lösung nach Zusatz von Formaldehyd zunächst längere Zeit in der Kälte stehen bleibt und dann erst eingedunstet wird.

Da G. Heuser¹⁾ die Beobachtung gemacht hatte, daß beim Betropfen eines Wattepfropfens einer Probierröhre, in der sich Fleischpeptongelatine befand, diese letztere nach 24 bis 36stündigem Stehen unlöslich und unschmelzbar gemacht wurde und selbst im siedenden Wasser unverändert blieb, so benutzten wir ebenfalls kleine Wattebausche, tränkten diese mit den Flüssigkeiten und betropften sie dann mit Formalin.

Beim Versuch 1 blieben die mit den Lösungen getränkten und mit Formaldehyd betropften Wattebausche vor dem Eindunsten 30 Stunden, bei den Versuchen 2 und 3 dagegen 3 Tage stehen. Der Wattebausch enthielt je 0,0010% Stickstoff. Die Ergebnisse waren folgende:

¹⁾ G. Heuser, Münch. med. Wochenschr. 40, 567.

Versuchs-Nr.	Behandlung	Stickstoff in 100 ccm Lösung								
		Liebigs Fleisch- extrakt, etwa 10 g auf 200 ccm	Albumosenlösg. 5 g auf 500 ccm	Albuminlösung 1 Eiklar auf 500 ccm	Leimlösung 5 g auf 1000 ccm	Wittes Pepton 5 g auf 500 ccm	10 ccm Fleischextrakt- lösung +			
		g	g	g	g	g	10 ccm Albumosen- lösung	10 ccm Albumin- lösung	10 ccm Leimlösung	10 ccm Wittes Peptonlösg.
1	Angewendete Lösung	0,5193	0,1346	0,0601	0,0792	0,1497	0,3270	0,2898	0,2993	0,3346
	Gefällt durch Form- aldehyd	0,0216	0,0173	0,0561	0,0734	0,0504	0,0198	0,0486	0,0504	0,0333
2	Angewendete Lösung	0,5193	0,1346	0,0601	0,0792	0,1497	0,3270	0,2898	0,2993	0,3346
	Gefällt durch Form- aldehyd	0,0306	0,0158	0,0604	0,0720	0,0540	0,0216	0,0504	0,0504	0,0324
3	Angewendete Lösung	0,5193	0,1433	0,0921	0,0778	0,1497	0,3314	0,3059	0,2886	0,3346
	Gefällt durch Form- aldehyd	0,0324	0,0202	0,0892	0,0727	0,0552	0,0288	0,0738	0,0540	0,0344

Hiernach wird durch Verteilen der Lösungen von Fleischextrakt, Leim usw. in Watte, Beträpfeln mit Formaldehyd und mehrtägiges Stehen der Stickstoff viel unlöslicher, und man erhält beim Albumin und Leim fast genau die angewendete Menge Albumin und Gelatine, jedoch steigen auch die Stickstoffzahlen bei den Proteosen, da offenbar bei dem einfachen Aufkochen sich nicht sämtliche in kochendem Wasser lösliche Stoffe aus dem Wattebausch entfernen lassen.

Nach diesen Ergebnissen dürfte eine quantitative Bestimmung von Leim mittels Formaldehyds kaum möglich sein und sogar der qualitative Nachweis zu Täuschungen führen können, sofern die Gelatine nicht in größerer Menge vorhanden ist. Die gleiche Ansicht teilen auch W. D. Bigelow und F. C. Cook, die in einer Untersuchung über Fleischextrakte und ähnliche Präparate (Washington 1908) ebenfalls das Formaldehydverfahren anwendeten. Sie sprechen sich hierüber also aus: „Die Ergebnisse waren unbefriedigend. Die Gelatine scheint kein unlösliches Formalinderivat zu bilden; die Ergebnisse waren viel zu niedrig. Aus Fleischextrakt und Wittes Pepton erzeugte Formalin N-haltige Fällungen. Aus Gelatosenlösungen fiel so gut wie nichts; bei Mischungen obengenannter Art wurden ganz unbefriedigende Ergebnisse erhalten.“

Wir versuchten deshalb das von Vamvakas¹⁾ vorgeschlagene Verfahren, nämlich die Fällung mit Neßlers Reagens in wein-saurer Lösung, womit eine Gelatinelösung (spez. Gewicht 1,032) in der Kälte nach einiger Zeit, beim Kochen sofort einen glänzenden bleigrauen Niederschlag gibt. In verdünnten Gela-tinelösungen erscheint dieser matt. Der Niederschlag entsteht auch, wenn man der Lösung vorher Weinsäure zugesetzt hat, und zwar unterscheidet sich hierdurch die Gelatine von Gummi, Dextrin, Saccharose, Glucose usw., die alle bei Gegenwart von Weinsäure mit Neßlers Reagens keinen Niederschlag geben. Auf diese Weise kann man nach Vamvakas leicht einen 10%igen Zusatz von Gelatine zu einer Lösung von Gummi, Saccharose und anderen ähnlichen Stoffen erkennen. Letzterer Umstand läßt aber an sich das Verfahren praktisch ziemlich bedeutungslos erscheinen, da man in der Praxis oft noch ge-ringere Zusätze als 1 bis 2% wird nachweisen müssen. Trotz-dem haben wir damit weitere Versuche angestellt, die folgendes ergeben haben:

Nähere Bezeichnung	Neßlers Reagens		Neßlers Reagens mit vorherigem Zusatz von Weinsäure
	in der Kälte	beim Kochen	
Dextrin	Niederschlag langsam entstehend.	Sofort bleigrauer Niederschlag, der sich auf Zusatz v. Weinsäure nicht löst. Gleichzeitig Abscheidung von Weinstein.	Auch beim Kochen kein Niederschlag. Beim Erkalten Abscheidung von Weinstein.
Saccharose	Desgl.	Desgl.	Desgl.
Glucose	Desgl.	Desgl.	Desgl.
Leim	Desgl.	Desgl.	Desgl. Beim Erkalten scheidet sich außerdem ein gelber, leim-artiger Stoff aus, der außer Hg u. Jod noch einen organ. Körper enthält u. beim Erhitzen sich wieder löst.

Um nachzuweisen, daß der mit Neßlers Reagens in wein-saurer Lösung erhaltene gelbe Niederschlag den in der Lösung befindlichen Leim in quantitativer Menge enthält, haben wir in 50 ccm einer Leimlösung, die in 1 l 5 g Gelatine enthielt, den

¹⁾ Ann. chim. analyt. 12, 58—59, 1907.

Stickstoff bestimmt, dann 50 ccm dieser Lösung für sich und unter Zusatz einer Lösung von Apfelgelee und Jams mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung¹⁾ gefällt und in der Fällung ebenfalls den Stickstoff bestimmt. Wir fanden:

Nähere Bezeichnung	Leimlösung	Niederschlag der Leimlösung mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung	Niederschlag mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung von derselben Menge Leim, vermischt mit Apfelgelee	Niederschlag mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung von derselben Menge Leim, vermischt mit Erdbeermarmelade	Niederschlag mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung von derselben Menge Leim, vermischt mit stärkehaltigem Fruchtgelee
g N in 100 ccm	0,0756	0,07416	0,07488	0,07488	0,07488

Daraus geht hervor, daß man auf diese Weise mit großer Genauigkeit den Leim in Fruchtsäften bestimmen kann, selbst in äußerst starker Verdünnung (0,25%).

In Fruchtsäften mit Leimzusatz läßt sich aber der Leim nach A. Bömer²⁾ auch durch Fällen der wässerigen Lösung mit Alkohol und durch Bestimmung des Stickstoffs in der Fällung nachweisen, da die alkoholische Fällung der natürlichen eingedickten Fruchtsäfte bzw. Fruchtrose nur wenig Stickstoff enthält.

Von wesentlicherer Bedeutung aber ist die Bestimmung des Leimes neben den Proteinen, Proteosen und Peptonen in Fleischextrakten und Fleischsäften. Die Proteine und Proteinabkömmlinge geben aber mit Neblers Reagens in weinsaurer Lösung ebenfalls unlösliche Niederschläge, weshalb also hier dieses Fällungsmittel nicht in Frage kommen kann.

Da Leim erst nach Anreicherung mit Neutralsalzen (Alkalisalzen) einen Niederschlag mit Metallsalzen gibt, die Proteine aber in saurer Lösung durch letztere gefällt werden, so lag es nahe, diese unterschiedliche Eigenschaft zur Bestimmung des Leimes zu benutzen.

Anwendung fand eine essigsäure 10%ige Quecksilberchloridlösung. Bei Leimlösung wurde kein Niederschlag be-

¹⁾ Der Stickstoffgehalt des Niederschlags, der mit Neblers Reagens in alkalischer Lösung bei Leim erhalten wurde, war gleich Null, dergleichen auch natürlicherweise bei Dextrin. Dieser Niederschlag besteht offenbar lediglich aus reduziertem Quecksilber.

²⁾ Chemiker-Zeitung 19, 553, 1895.

obachtet, dagegen bei Lösungen von Albumosen, Liebigschem Fleischextrakt und Pepton; bei Gemischen dieser mit Leim trat nur eine Trübung auf, die auch durch Erhitzen und geringen Zusatz von Kochsalz nur wenig verändert wurde. Auch bei Verwendung von Weinsäure statt der Essigsäure trat eine Vermehrung des Niederschlags nicht ein. Die Ergebnisse blieben hinter den Erwartungen zurück, sie waren zu niedrig.

Anders verhält sich Quecksilberchlorid in neutraler Lösung. Fügt man zu einer Albumosenlösung eine kaltgesättigte (etwa 6^o/₁₀ige) wässrige Quecksilberchloridlösung hinzu, so entsteht bereits mit wenigen Tropfen des Fällungsmittels ein Niederschlag, der sich auch flockig abscheidet und gut filtrierbar ist. Aus dem Filtrat fallen aber auf weiteren Zusatz von Quecksilberchloridlösung weitere Mengen von Albumosen aus, und es zeigte sich, daß die Fällung erst dann nahezu vollständig war, d. h. der durch Sättigen mit Zinksulfat erhaltenen Fällung gleichkam, wenn die Albumosenlösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Quecksilberchloridlösung versetzt wurde, also die Konzentration des Quecksilberchlorids der halben Sättigung entsprach. Unter den gleichen Bedingungen erhält man mit Leimlösung nur eine schwach getrübe Mischung, die keinen durch Filtration abtrennbaren Niederschlag abscheidet. Peptonlösung verhält sich ähnlich wie Albumosenlösung, indessen wurden Versuche darüber, bei welcher Konzentration das Pepton quantitativ abgeschieden wird, nicht angestellt, zumal da das zur Verfügung stehende Pepton (Pepton Witte) reichliche Mengen von mit Zinksulfat aussalzbaren Körpern enthielt und außerdem die Niederschläge schleimige, für die weitere Behandlung ungeeignete Form besaßen. Leider verschieben sich diese Verhältnisse bei Mischungen von Albumosen- und Leimlösungen insofern, als die in solchen in der Kälte hervorgerufenen Niederschläge schleimig und nicht filtrierbar sind. Einigermaßen brauchbar werden die Ergebnisse, wenn die Albumosen-Leim-Mischung auf 50° erwärmt und mit der kalten Quecksilberchloridlösung vermischt wird; der ausfallende Niederschlag ist in diesem Falle flockig und kann nach dem Erkalten sofort abfiltriert werden. Indessen darf hierbei die Konzentration des Quecksilberchlorids halbe Sättigung nicht ganz erreichen, weil anderenfalls (anscheinend durch beginnende Abscheidung von Leim) die über dem

Niederschlag stehende Flüssigkeit stark trüb und unfiltrierbar wird. Ein Versuch, die Abscheidung aus einer $\frac{1}{5}$ -gesättigten Lösung durch Stehenlassen auf Eis zu vervollständigen, ergab, wohl infolge von Leimausscheidung, einen zu hohen Stickstoffwert.

Wenn die zu analysierende Lösung außer Albumosen und Leim auch Peptone enthält, so kann die Trennung in der Weise vorgenommen werden, daß zunächst Albumosen und Leim durch Sättigen mit Zinksulfat gefällt werden, der Niederschlag in Wasser gelöst und die Lösung bei 50° mit dem gleichen Volumen Quecksilberchloridlösung versetzt wird, während im Filtrat von der Zinksulfatausscheidung die Peptone in der üblichen Weise mittels phosphorwolframsauren Natriums bestimmt werden.

Auch Quecksilberjodid bildet mit Stickstoffkörpern dieser Art Niederschläge. Indessen hat die Anwendung des Fällungsmittels den Nachteil, daß es nicht in wässriger, sondern nur in alkoholischer oder in der bequemer herzustellenden kaltgesättigten Lösung in Aceton angewendet werden kann, die aber beide beim Zusatz zu wässrigen Lösungen Quecksilberjodid ausscheiden, so daß also bei diesen Fällungen nicht ohne weiteres zu erkennen ist, ob ein stickstoffhaltiger Niederschlag entsteht oder ob die Ausscheidung stickstofffrei ist.

Wenn die alkoholische Quecksilberjodidlösung zu der die Stickstoffkörper enthaltenden Lösung zugefügt wird, so werden in der Regel keine brauchbaren Ergebnisse erzielt, da sich die entstehenden Niederschläge selbst bei tagelangem Stehenlassen auf Eis nur teilweise absetzen oder so schleimig sind, daß ein Abfiltrieren bzw. Auswaschen unmöglich ist. Bessere Ergebnisse erhält man, wenn die Substanzlösung zu der Quecksilberjodidlösung zugesetzt oder wenn die halbgesättigte alkoholische Quecksilberjodidlösung mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt, der entstandene Niederschlag durch Kochen gelöst, nun die Albumosenlösung zugefügt, die Mischung abgekühlt und kurze Zeit auf Eis gestellt wird. Bei Verwendung der Acetonlösung erwies es sich zur Bildung flockiger Niederschläge als empfehlenswert, die Substanzlösung mit Kaolin auszuschüttern und dann $\frac{1}{10}$ der Lösung an gesättigter Quecksilberjodidlösung in Aceton tropfenweise zuzusetzen. Zur Beschleunigung der Bestimmungen wurden dann diese Mischungen sofort durch einen

Gooch-Tiegel filtriert und in einem abgemessenen Teil des Filtrates der Stickstoff bestimmt.

Mit den verschiedenen Fällungsmitteln wurden folgende Werte erhalten:

Art der Lösung	Gesamt-Stickstoffgehalt	Zinksulfat (gesättigt)	Stickstoffgehalt der Fällung durch		
			Quecksilberchlorid in 6%iger neutraler Lösung	gesättigter alkohol. Lösung	gesättigter Aceton-Lösung
1. Albumosen 50 ccm (ca. 1%ige Lösung von Somatose)	0,0685	0,0440	Zusatz 3 ccm: 0,0213 " 20 " 0,0320 " 50 " 0,0407	0,0089 0,0013 ¹⁾	0,0181
2. Pepton 50 ccm (ca. 1%ige Lösung v. Wittes Pepton)	0,0675	0,0422	—	0,0157	0,0102
3. Leim 50 ccm (ca. 0,5%ige Lösung v. käuflich. Gelatine)	0,0363	0,0374	—	— ²⁾	0,0241
4. 50 ccm Albumosen, 25 ccm Leim, 25 ccm Wasser	(0,0866) ³⁾	(0,0625)	Zusatz 25 ccm: 0,0333	—	—
5. 50 ccm Albumosen, 25 ccm Leim . .	(0,0866)	0,0625	" 50 " 0,0381 " 50 " 0,0490 ⁴⁾ " 75 " — ⁵⁾	—	—
6. 25 ccm Albumosen, 25 ccm Leim . .	(0,0524)	0,0400	" 25 " — ⁵⁾ " 50 " — ⁵⁾	0,0017 ⁵⁾ 0,0012 ⁵⁾	0,0104
7. 25 ccm Pepton, 25 ccm Leim . .	(0,0519)	0,0374	—	0,0070 ⁵⁾	0,0218
8. 25 ccm Albumosen, 25 ccm Pepton, 25 ccm Leim . .	0,0861	0,0585	0,0248 ⁶⁾	—	—

Bei einer Wiederholung dieser Versuche wurde auch die Trichloressigsäure mitverwendet, die für diesen Zweck von F. Obermayer⁷⁾ vorgeschlagen ist. Hiervon wurde eine 10%ige Lösung angewendet, und zwar im Überschuß, nämlich auf etwa 0,25 g Stickstoffsubstanz 30 ccm. Die Ergebnisse waren folgende:

¹⁾ 20 ccm Quecksilberjodidlösung, 20 ccm Alkohol, 40 ccm Wasser gekocht, dazu 50 ccm Albumosenlösung.

²⁾ Niederschlag sehr schleimig, nicht filtrierbar.

³⁾ Die eingeklammerten Werte sind berechnet.

⁴⁾ Kalt gefällt, dann auf Eis gestellt.

⁵⁾ Der Niederschlag lief teilweise durchs Filter, das Filtrat war sehr trübe.

⁶⁾ Aus dem Zinksulfatniederschlag durch Lösen mit Wasser und Fällen mit dem gleichen Volumen Quecksilberchloridlösung.

⁷⁾ Zeitschr. f. anal. Chemie 29, 141, 1890.

Nähere Bezeichnung	Stickstoff- gehalt in 100 com Lösung	Stickstoffgehalt des Niederschlags in der Fällung			
		Zinksulfat	Trichlor- essigsäure	Quecksil- berchlorid	Quecksil- berjodid ¹⁾
1. Fleischextrakt .	0,4819	0,1044	0,0149	0,1082	0,0060
2. Albumosen aus Somatose	0,1514	0,0621	0,0194	0,0649	0,0055
3. Pepton (Witte) .	0,1410	0,0433 0,0492 Filtrat ²⁾	0,0119	0,0679	0,0227
4. Leim	0,0813	0,0783	0	0	0,0754
5. Leim + Albumosen zu gleichen Teilen	0,1164	0,0751	0,0160	0,0477	0,0612
6. Leim + Pepton zu gleichen Teilen .	0,1112	0,0619 0,0256 Filtrat ²⁾	0,0052	0,0463	0,0410
7. Leim + Fleischex- trakt zu gleichen Teilen	0,2817	0,0962	0,0075	0,0425	0,0424

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die mit Trichloressigsäure erzeugten Niederschläge viel zu niedrige Werte ergeben. Außerdem konnte gerade bei Leim keine Fällung³⁾ beobachtet werden.

Die mit Quecksilberchlorid erzeugten Fällungen zeigen bessere Ergebnisse. Zwar werden auch mit diesem Reagens nicht sämtliche durch Zinksulfat fällbaren Proteosen ausgefällt, doch stimmen die erhaltenen Werte annähernd mit ihnen überein. Leim dagegen gibt unter gleichen Verhältnissen mit Quecksilberchlorid überhaupt keine Fällung. Auf diese Weise hat das Quecksilberchlorid, wenn es auch keine volle quantitative Trennung erreicht, doch als qualitative Reaktion zum sicheren Nachweis von Leim und Albumosen nebeneinander zweifellos eine Bedeutung.

Das Quecksilberjodid verhält sich umgekehrt wie Quecksilberchlorid; es fällt eher Leim als Albumosen. Aber die Reaktion ist selbst unter Anwendung⁴⁾ von Kälte keine quanti-

¹⁾ Die Fällungen wurden in der Kälte durch Stehenlassen auf Eis erhalten.

²⁾ Niederschlag erhalten durch Phosphorwolframsäure + H₂SO₄.

³⁾ Bei sehr großem Überschuß entsteht eine Trübung.

⁴⁾ Obige Werte wurden erhalten, wenn die mit Quecksilberjodid versetzten Lösungen 1 bis 3 Tage in Eiskühlung gelassen wurden. Als vorteilhaft hat es sich erwiesen, die Lösung einzuengen, rasch abzukühlen und die konzentrierte Quecksilberjodidlösung kalt hinzuzufügen.

tative; einerseits ist auch der aus reinen Albumosenlösungen erhaltene Niederschlag stickstoffhaltig, andererseits verläuft die Fällung des Leimes nicht quantitativ.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Bestimmung des Leimes mittels Formaldehyds nach E. Beckmann liefert keine für die Praxis brauchbaren Werte.

2. Die Fällung des Leimes mit Neßlers Reagens in saurer Lösung nach Vamvakas ist eine quantitative, doch ermöglicht sie keine Trennung zwischen Leim und Proteosen, weil letztere die gleiche Fällung geben.

3. Trichloressigsäure nach dem Vorschlag von Obermayer gibt nur in verdünnten Leimlösungen und in starkem Überschuß eine Trübung, fällt dagegen die Proteosen auch nicht quantitativ.

4. Quecksilberchlorid bewirkt beim Leim in neutraler Lösung keine Fällung, es fällt dagegen die Proteosen. Letztere werden zwar auch hierdurch nicht quantitativ gefällt; für den qualitativen Nachweis hat indes das Fällungsmittel eine Bedeutung, insofern man in Lösungen erst die Proteosen + Leim fällen, d. h. von Peptonen trennen, filtrieren, wieder auflösen und dann die Lösung mit Quecksilberchlorid behandeln kann. Enthält die Fällung mit Quecksilberchlorid annähernd soviel Stickstoff als die Fällung mit Zinksulfat, so ist kein Leim anzunehmen; ist dagegen die Differenz erheblich, so ist die Anwesenheit von Leim wahrscheinlich.

5. In letzterem Falle kann die Fällung mit Quecksilberjodid zur Erhärtung dieses Ergebnisses dienen. Man fällt eine zweite Probe der Lösung mit Zinksulfat, löst den Niederschlag von Proteosen + Leim wieder auf und fällt die Lösung unter Beachtung der S. 224 angegebenen Vorschrift mit Quecksilberjodidlösung entweder in Alkohol oder Aceton. Enthält der Niederschlag, im Verhältnis zu dem durch Zinksulfat erhaltenen, viel Stickstoff, so ist die Anwesenheit von Leim als erwiesen anzunehmen.

Mehr als ein qualitativer Nachweis und eine annähernde quantitative Bestimmung des Leimes durch die letzteren drei Fällungsmittel zu erbringen, ist bis jetzt nicht möglich.

Am geeignetsten ist Quecksilberchlorid unter Verwendung der Lösung der Zinksulfatfällung.

Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen.

Von

W. Zaleski und A. Reinhard.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 29. Juni 1911.)

1. Die Atmung lebender und abgetöteter Pflanzen nach der Strukturzerstörung derselben.

Godlewski und Polszeniusz¹⁾ sind auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schlusse gekommen, daß die intramolekulare Atmung der Pflanzen an die Zellenstruktur derselben gebunden ist.

Weiter nimmt Palladin²⁾ an, daß nicht nur die intravitale, sondern auch die postmortale Zerstörung der cellularen Struktur der Pflanzen schädlich auf die Kohlensäureausscheidung derselben wirkt. Nach Thunberg³⁾ vermindert das Zerkleinern der Muskeln den Gasaustausch derselben, während Lusanna⁴⁾, sowie Battelli und Stern⁵⁾ eine Steigerung der Atmungsenergie nach der Zerkleinerung der tierischen Objekte beobachten.

In den Versuchen von Godlewski und Polszeniusz, sowie in denen von Palladin befanden sich die zerriebenen Objekte unter Wasser, und dadurch war die Kohlensäureausscheidung derselben gering. Wir haben gezeigt⁶⁾, daß die zerriebenen, sowie die gepulverten und durch Aceton abgetöteten

¹⁾ Godlewski und Polszeniusz, Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie 1901.

²⁾ Palladin, diese Zeitschr. 18, 1909.

³⁾ Thunberg, zit. nach Vernon Intracell. Enzyme. Ergebn. d. Physiol. 1908.

⁴⁾ Lusanna, zit. ibid.

⁵⁾ Battelli und Stern, zit. ibid.

⁶⁾ W. Zaleski und A. Reinhard, diese Zeitschr. 27, 1910.

Samen eine bedeutende Menge Kohlensäure ausscheiden, wenn diese Objekte sich nicht unter Wasser, sondern in der Luft oder im Wasserstoff befinden. Da unsere Versuche nur mit Samen ausgeführt wurden, so halten wir es für notwendig, diese Frage etwas eingehender zu untersuchen.

Zuerst wollen wir den Einfluß der Strukturzerstörung der lebenden Pflanzen auf die Atmung derselben berühren.

In diesen Versuchen wurden die lebenden Objekte im Mörser zerrieben, bis sich eine gleichartige Masse bildete, die auf Papier in einer dünnen Schicht aufgetragen und dann in den Rezipienten eingeführt wurde.

Temp. Grad	Objekte	Un- ver- sehrt	Zer- rieben	Differenz %
16,5	100 gequollene Erbsensamen	17,5	33,8	+ 93
16	100 gequollene Samen von <i>Lupinus angustifolius</i>	7,5	12	+ 60
16	50 g gequollene Weizensamen . . .	6	12	+ 100
16	20 g etiolierte Weizenblätter	15	0	
16	15 g etiolierte Blätter von <i>Vicia Faba</i>	11	10,5	
	do.	7	5	- 40
16	12 g Blätter von <i>Begonia</i>	12	5	- 140
15,5	100 Weizenkeimlinge (5 tägliche) . .	8	2,5	- 220
5	15 Erbsenkeimlinge (15 ")	5	7,5	+ 50
17	30 " (10 ")	10	15	+ 50
	25 " (15 ")	8	14,5	+ 81
15	Cotyledonen von ihnen	4	11	+ 175
	Achsenorgane von ihnen	7,5	3,5	- 113
	5,2 g grüne Weizenblätter	7	0,7	
	Keimlinge von <i>Cucurbita</i> (10 Tage alte)	24	17,5	- 37
	14,7 g Knospen von <i>Populus</i>	8	5	- 60

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß die Zerstörung der Struktur der lebenden Objekte verschieden auf die Atmung derselben wirkt. Die Pflanzenteile, die eine energische Atmung haben, wie die Achsenorgane der Keimpflanzen, sowie die Stengelspitzen und Blätter verschiedener Pflanzen scheiden nach der Zerstörung ihrer Struktur weniger und zuweilen fast keine Kohlensäure aus. Es ist kaum zu denken, daß diese Objekte gleich nach dem Zerreiben eine größere Menge Kohlensäure bilden. Demgegenüber scheiden die Samen in den ersten Tagen der Keimung, sowie die Cotyledonen und das Endosperm eine größere Menge Kohlensäure nach dem Zerreiben derselben aus. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die gesteigerte Kohlensäurebildung der obenerwähnten

Objekte nicht auf Kosten der in den Geweben absorbierten oder locker gebundenen Kohlensäure stattfindet, da diese Erscheinung eine ziemlich lange Zeit dauert, eine bedeutende Größe erreicht und im Wasserstoff mit geringer Intensität vor sich geht. So z. B.:

1. Versuch.

Die Samen von Pisum wurden 24 Stunden in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zum Versuche genommen.

CO₂ für 50 Samen in Milligramm.

Dauer des Versuchs Stunden	Unversehrte Samen	Zerriebene Samen
2	12,5	23
2	12,5	21,5

Das Zerreiben der Samen vergrößert hauptsächlich die Oxydationsprozesse derselben, und wir beobachten daher im Wasserstoff eine unbedeutende Steigerung der Kohlensäureausscheidung, die wahrscheinlich von der vorherigen Sauerstoffaufnahme abhängt. So z. B.:

2. Versuch.

Die Samen von Pisum wurden 24 Stunden in destilliertem Wasser eingeweicht, abgeschält und dann zum Versuche verwandt.

CO₂ für 100 Samen in Milligramm.

Dauer des Versuchs Stunden	Unversehrte Samen	Zerriebene Samen
1	16,5	20
1	13	16,5

Vorläufig wollen wir nicht die Ursachen der Veränderung der Atmungsintensität zerriebener Objekte besprechen, da diese in einzelnen Fällen verschieden sein können.

Wenden wir uns jetzt zur Frage über die Rolle der Zellstruktur in der postmortalen Kohlensäureausscheidung.

Die Abtötung der Objekte wurde vermittlels einer niedrigen Temperatur (— 15 bis 20°), sowie durch das Trocknen derselben im Thermostaten bei 36° ausgeführt. Die vegetativen Organe der Phanerogamen werden durch Austrocknen abgetötet; nur die Samen gehen dabei in den Starrezustand über. Die getrockneten Objekte wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und, nachdem sie eine genügende Menge desselben aufgesaugt hatten, in den Rezipienten eingeführt. In anderen Fällen wurden die gefrorenen Objekte im Mörser zerrieben und auf Papier in den Atmungsapparat eingebracht. Parallel wurden die im Thermostaten getrockneten Pflanzen pulverisiert, mit einer geringen Quantität von destilliertem Wasser befeuchtet und in derselben Weise auf Papier in den Rezipienten eingeführt.

Es ist kaum zu bezweifeln, daß nach der Abtötung der Objekte die innere Struktur der Zellen sich verändert, und man kann daher nicht die erfrorenen Pflanzen als Objekte mit unveränderter Zellstruktur betrachten. So haben Matruchot und Molliard¹⁾ gezeigt, daß beim Erfrieren der Pflanzen eine rasche Wasserausscheidung aus dem Protoplasma und Zellkern unter Vakuolenbildung und Strukturveränderung stattfindet. Ebenso sagt Fischer²⁾, daß beim Erfrieren der Pflanzen das Protoplasma zu krümeligen geronnenen Klumpen zerfällt. Nach dem Zerreiben und Zermahlen abgetöteter Objekte wird die cellulare Struktur noch in weit höherem Grade zerstört.

3. Versuch.

CO₂ für 6 g etiolierte Stengelspitzen von *Vicia Faba* Windsor pro 4 Stunden in Milligramm.

Temp. 15 bis 16°.

Lebende	12	12	14
Erfrorene	5	—	—
Eingeweichte	—	5	—
Pulver	—	—	7

4. Versuch.

CO₂ für 15 g etiolierte Blätter von *Vicia Faba* Windsor pro Stunde in Milligramm.

Temp. 16°.

Lebende	10	9,5
Erfrorene	4,5	—
Pulver	—	4,5
Eingeweichte	4,5	—

5. Versuch.

CO₂ für 9,2 g etiolierte Blätter von *Vicia Faba* Windsor pro Stunde in Milligramm.

Temp. 18°.

Lebende	7
Pulver	5

6. Versuch.

CO₂ für 13 g etiolierte Blätter von *Vicia Faba* Windsor pro 2 Stunden in Milligramm.

Temp. 15,5 bis 16,5°.

Lebende	18	18	16
Nach 3 tägiger Glucose- Fütterung	—	30	—
Nach 2 tägigem Hungern auf Wasser	—	—	17
Pulver derselben	5,5	7	5,5

¹⁾ Matruchot und Molliard, Rev. gen. de Bot. 14. 1902.

²⁾ Fischer und Cohn, Beiträge z. Biol. d. Pflanzen 10, 1911.

7. Versuch.

CO₂ für 30 g etiolierte Weizenblätter pro Stunde in Milligramm.

Temp. 16°.

Lebende	19,5	20	21,7
Eingeweichte	Spuren	Spuren	Spuren
Erfrorene	"	"	"
Pulver	"	"	"

8. Versuch.

CO₂ für 20 g etiolierte Weizenblätter pro Stunde in Milligramm.

Temp. 15,5°.

Lebende	14,5
Erfrorene	Spuren
Eingeweichte	"

9. Versuch.

CO₂ für 46 g Begoniablätter pro 2 Stunden in Milligramm.

Temp. 15,5°.

Lebende	6,5	6,5	8,5
Erfrorene	2,5	—	—
Pulver	—	10	8,5
Eingeweichte	2	—	—

10. Versuch.

CO₂ für 8,5 g Pulver der Blätter von Begonia in Milligramm. Toluolversuch.

Temp. 16°.

Dauer des Versuchs Stunden	CO ₂ mg
1/2	25
3	45
2	15
5	23
13 1/2	8
Summe 23 1/2	116

11. Versuch.

CO₂ für 25 g der Blätter von Ficus elastica pro Stunde in Milligramm.

Temp. 15°.

Lebende	2,5
Pulver	4,5

12. Versuch.

CO₂ für 8 g Pulver der Blätter von *Ficus elastica* pro Stunde in Milligramm.

Temp. 16°.

Dauer des Versuchs Stunden	CO ₂ mg
1	7,5
3	6
Summe 4	13,5

13. Versuch.

Die Samen von *Pisum* wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und dann erfrieren gelassen. Am folgenden Tage wurde die eine Hälfte der erfrorenen Samen zerrieben; dann wurden die beiden Portionen zum Versuche benutzt.

CO₂ für 100 Samen pro Stunde in Milligramm.

Temp. 15,5°.

Erfrorene unversehrte Samen	16,5
Erfrorene zerriebene Samen	29,6

14. Versuch.

Die Samen von *Zea Mays* wurden in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zur Wasserkultur benutzt. Nach jedem Versuche wurden die Keimlinge erfrieren gelassen und am folgenden Tage wurde wieder die Kohlensäureausscheidung bestimmt.

CO₂ für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Temp. 15 bis 16°.

Tag der Keimung	Lebende Keimlinge	Erfrorene Keimlinge
4	3,4	3,4
10	25,8	5,6
13	25,8	5,8
20	21,6	6,6

15. Versuch.

CO₂ für 40 Erbsenkeimlinge (10tägige) ohne Kotyledonen pro Stunde in Milligramm.

Lebende . .	9,5
Erfrorene . .	1

16. Versuch.

Zu diesem Versuche wurden die abgetöteten Weizenkeime benutzt, die in diesem Zustande aus Zürich (Stadtmühle Maggi) bezogen wurden.

CO₂ für 10 g pro Stunde in Milligramm.

Unversehrte Weizenkeime	15
Mit Ather behandelte Weizenkeime	15
Zerriebene Weizenkeime	14,5

17. Versuch.

Zu diesem Versuche wurden die Wasserkulturen von Erbsenkeimlingen benutzt.

Tag der Keimung	CO ₂ für 100 Lebende	CO ₂ für 100 pulverisierte Keimlinge
9	35	20
14	45	12,5
16	28	25

Wir sehen, daß die lebhaft atmenden Pflanzenteile, wie die Stengelspitzen (3. Versuch) und Blätter (4., 7., 8. und 9. Versuch), sowie die Achsenteile (15. Versuch) der Keimpflanzen nach dem Erfrieren und Austrocknen (mit folgender Befeuchtung) eine gleiche Menge Kohlensäure ausscheiden, was beweist, daß wir mit vollem Recht die getrockneten Objekte als abgetötet betrachten können. Wir sehen weiter, daß die Zertrümmerung abgetöteter pflanzlicher Objekte im Gegensatz zu denjenigen der lebenden keinen Einfluß auf die Energie der Kohlensäureausscheidung derselben ausübt und meistens diese vergrößert. Nach dem Zerreiben abgetöteter Weizenkeime (16. Versuch) wird die Atmungsenergie derselben nicht verändert, während die pulverisierten Stengelspitzen und Blätter von *Vicia Faba* (3., 5. Versuch) etwas mehr Kohlensäure als diese nach dem Erfrieren ausscheiden. Die pulverisierten Blätter von *Ficus* (11., 12. Versuch) scheiden mehr CO₂ als erfrorene Blätter in den Versuchen von Palladin¹⁾ aus. Noch mehr wird die Kohlensäurebildungsenergie durch das Zerreiben bei den Blättern von *Begonia* (9., 10. Versuch) vergrößert, da sie in diesem Falle mehr CO₂ als die lebenden Objekte, wenigstens in der ersten Zeit des Versuchs, ausscheiden.

¹⁾ Palladin, Palladin Memoires de l'Acad. d. St Pétersbourg 1907.

Die Verminderung der Kohlensäureausscheidung nach der postmortalen Strukturzerstörung wurde in denjenigen Fällen beobachtet, in denen die Objekte unter dem Wasser sich befanden.

2. Über den Charakter der Atmung abgetöteter Pflanzen.

Die abgetöteten pflanzlichen Objekte atmen schwächer als die lebenden. Wenn die erfrorenen und die lebenden Weizenkeime gleich stark atmen, so findet das nur in demjenigen Falle statt, in dem das Objekt vor dem Erfrieren schon abgetötet worden war, was nicht selten bei den käuflichen Weizenkeimen zu beobachten ist. In diesem Falle führt auch das Behandeln der Weizenkeime mit Äther (16. Versuch) zu denselben Resultaten¹⁾. Nur scheiden einige Samen²⁾ in den ersten Stadien der Keimung nach dem Erfrieren derselben eine gleiche Menge CO₂ wie die lebenden aus. Man muß aber zugestehen, daß wir keinen Beweis haben, daß bei den Temperaturen — 18 bis 20° wirklich das Abtöten der gekeimten Samen stattfindet. So hat Richter³⁾ beobachtet, daß der erfrorene *Aspergillus niger* aufhört, Kohlensäure zu bilden und dessenungeachtet nicht als ein abgetötetes Objekt betrachtet werden kann, da er, in günstige Bedingungen gebracht, wieder zu wachsen und zu atmen beginnt. Unsere Versuche zeigen, daß die gepulverten Keimpflanzen schwächer als die lebenden atmen (17. Versuch), und da die Atmung der abgetöteten Objekte durch Pulverisieren derselben nicht vermindert wird, so können wir bezweifeln, ob diese Objekte, wenigstens die Kotyledonen der Keimpflanzen, durch Erfrieren abgetötet worden waren. Wenn einige pulverisierten Objekte stärker als die lebenden atmen, so bleibt unbekannt, ob die Mechanismen dieser Kohlensäurebildung identisch sind.

Das Abtöten der pflanzlichen Objekte vermindert in den meisten Fällen die Oxydationsprozesse derselben, während die anaeroben Atmungsvorgänge in diesem Falle weniger geschädigt werden. So wird durch Abtöten der Weizenblätter (7., 8. Ver-

¹⁾ W. Zaleski, diese Zeitschr. 31, 1911.

²⁾ W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

³⁾ Richter, Centralbl. f. Bakt. (2), 28, 1910.

such), der Achsenorgane der Erbsen (15. Versuch) und der 10 bis 20tägigen Keimpflanzen von *Zea Mays* (14. Versuch) die Atmung derselben sehr vermindert. In weit geringerem Grade wird durch Abtöten die Atmung der Blätter und Stengelspitzen von *Vicia Faba* vermindert, da diese Objekte im Wasserstoff ziemlich energisch atmen. Am wenigsten wird die Energie der Kohlensäureausscheidung bei den typisch anaeroben Objekten, wie die Erbsensamen, durch Abtöten vermindert. So atmen die pulverisierten Erbsensamen sehr energisch, und da sie auch nach Äther- oder Acetonbehandlung dieselbe Atmungsenergie zeigen¹⁾, so kann in diesem Falle kein Zweifel bestehen, daß diese Objekte abgetötet sind. Wir bemerken weiter einen umgekehrten Parallelismus zwischen der Energie der Oxydationsprozesse der lebenden Erbsenkeimpflanzen und der Kohlensäurebildung der pulverisierten Objekte (17. Versuch), wenn wir die Atmungskurve betrachten werden.

Überhaupt kann man sagen, daß nach dem Abtöten der Pflanzen die Arbeit der anaeroben Enzyme in den Vordergrund tritt und je mehr das Objekt zur anaeroben Atmung fähig ist, desto weniger wird die Kohlensäurebildungsenergie derselben nach dem Abtöten vermindert. Wenn wir in einigen Fällen Ausnahmen beobachten, so hängt das meistens mit den rein chemischen Prozessen der CO₂-Ausscheidung oder mit solchen Vorgängen, die in der lebenden Pflanze nicht stattfinden, zusammen. Über diese Frage gedenken wir später zu berichten.

Wir sind auf diese Weise zu der Frage gekommen, ob wir die Atmung der abgetöteten und besonders zerkleinerten Objekte mit derjenigen der lebenden vergleichen können.

Es wäre denkbar, daß in den gepulverten Pflanzenteilen nach dem Befeuchten derselben mit Wasser die Oxydationsprozesse in den Vordergrund treten. In diesen Versuchen wurden die Objekte mit destilliertem Wasser unter Toluolzusatz (2 bis 4%) befeuchtet, und außerdem wurde in den meisten Experimenten, die wir Toluolversuche nennen, noch eine Toluolwasser enthaltende Drehselsflasche zwischen dem Rezipienten und die Natronkalkröhren eingeschaltet.

¹⁾ W. Zaleski und A. Reinhard, l. c. — W. Zaleski, l. c.

18. Versuch.

CO₂ für 5,9 g des mit destilliertem Wasser befeuchteten Pulvers der etiolierten Blätter von *Vicia Faba* Windsor.

Temp. 16°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
2	17	12
2	15	6
3	17,5	6
Summe 7	49,5	24

Wenn wir das Verhältnis zwischen der Energie der anaeroben und der aeroben Atmung der abgetöteten pulverisierten Blätter von *Vicia Faba* mit dem der lebenden vergleichen, so bemerken wir eine gewisse Übereinstimmung im chemischen Charakter dieser Prozesse. In der Tat hat Palladin¹⁾ beobachtet, daß die etiolierten Blätter von *Vicia Faba* im Verlaufe der ersten 3 Stunden in der Luft 2 mal so viel Kohlensäure wie im Wasserstoff ausscheiden, was auch unser oben angeführter Versuch zeigt. Demgegenüber scheiden nach Palladin die erfrorenen Blätter von *Vicia Faba* im Wasserstoff fast eine gleiche Menge Kohlensäure aus wie in der Luft. Das Erfrieren der Objekte vermindert also die Oxydationsprozesse derselben. Auf der anderen Seite vergrößert die Fütterung der lebenden Blätter mit Saccharose die Energie der anaeroben und der aeroben Atmung derselben, während die erfrorenen Blätter und die pulverisierten in unseren Versuchen (6. Versuch) fast eine gleiche Quantität Kohlensäure ausscheiden, unabhängig davon, ob sie Saccharose bekamen oder nicht. Es ist aber eine allgemeine Erscheinung, wie wir oben gesehen haben, daß je stärker die lebenden Pflanzenteile atmen, desto mehr die Atmung derselben nach dem Abtöten vermindert wird.

Wir bemerken weiter eine gewisse Übereinstimmung zwischen der Atmung lebender und gepulverter Erbsensamen. Diese Samen gehören zu den anaeroben Objekten, indem sie in der Luft und im Wasserstoff eine gleiche Menge Kohlensäure ausscheiden sowie in dem letzteren Falle Alkohol bilden.

19. Versuch.

Die Samen von Erbsen wurden zermahlen, mit destilliertem Wasser befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 25 g in Milligramm.

Temp. 13°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
4	19	19
4	15,5	15
Summe 8	34,5	34

¹⁾ Palladin, l. c.

In diesem Versuche atmen die gepulverten Samen in der Luft gleich stark wie im Wasserstoff. Wir haben nachgewiesen, daß die gepulverten Erbsensamen im Wasserstoff Alkohol bilden. Weiter haben wir nicht nur die qualitative, sondern auch die quantitative Bestimmung des gebildeten Alkohols ausgeführt. So bildeten die gepulverten Erbsensamen in einer bestimmten Zeit 270 mg CO_2 und 153 mg $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Da in diesem Versuche die Bestimmung des Alkohols mit einem Verluste verbunden war, so beabsichtigen wir später diesen zu wiederholen und vermuten aber, daß das Verhältnis zwischen CO_2 und Alkohol einer typischen Gärung entspricht.

Dieselbe Erscheinung beobachten wir bei den Weizenkeimen, die auch zur anaeroben Atmung fähig sind, die den Charakter der typischen Alkoholgärung hat¹⁾.

20. Versuch.

Die Weizenkeime wurden pulverisiert, mit destilliertem Wasser befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO_2 für 10 g in Milligramm.

Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
1	14,5	13
2	14,5	14,5
4	10,5	17,5
Summe 8	39	45

In unserem Versuche scheiden die pulverisierten Weizenkeime im Wasserstoff etwas mehr Kohlensäure als in der Luft aus, und es ist wahrscheinlich, daß die Zymase im Wasserstoff weniger als in der Luft geschädigt wird. Bedauerlicherweise ist es uns nicht gelungen, in diesem Jahre gesunde Weizenkeime zu beziehen, und wir wissen daher nicht, wie die lebenden Keime in der Luft und im Wasserstoff atmen. Zwar existieren einige Literaturangaben über diesen Punkt, jedoch leiden diese an Widersprüchen, und daher wollen wir sie nicht berühren.

Die oben angeführten Versuche bestätigen unsere Vermutung, daß in den abgetöteten Pflanzen die Oxydationsprozesse, die unter Kohlensäurebildung vor sich gehen, stark vermindert werden und die anaeroben Atmungsvorgänge in den Vordergrund treten. Obwohl die abgetöteten Pflanzen Sauerstoff absorbieren, wird dieser zu anderen Oxydationsprozessen verbraucht. Die vollständige Hemmung der Oxydationsprozesse in unseren Versuchen schreiben wir teilweise dem Toluol zu. So haben wir ohne Toluolzusatz andere Resultate bekommen, da aber die Versuche ohne Antisepticumzusatz zweifelhaft sind, so wollen wir diese nicht besprechen und werden später in einer anderen Weise diese Frage untersuchen. Zugunsten unserer Vermutungen sprechen die Versuche mit den Weizensamen.

¹⁾ Palladin, l. c.

21. Versuch.

Die Weizensamen wurden zermahlen, mit Wasser befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 25 g in Milligramm.
Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
8	17	13

Es ist zweifelhaft, ob auch in den lebenden Weizensamen die Energie der aeroben Atmung so wenig von der anaeroben sich unterscheidet. Wir vermuten, daß das Abtöten der Samen durch Pulverisieren und die Anwendung von Toluol die Intensität der aeroben Atmung vermindert.

8. Die Wirkung einiger Substanzen auf die Atmung der Pflanzen.

Kostytschew¹⁾ hat nachgewiesen, daß die durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen die Atmung der Weizenkeime stimulieren. Der Verfasser behauptet, daß diese Lösungen die Zwischenprodukte der Alkoholgärung enthalten, die durch die Weizenkeime in der Luft oxydiert werden. Da die Weizenkeime zur Alkoholgärung fähig sind, so lag die Vermutung nahe, daß in diesen Versuchen die Stimulation der Gärung, nicht aber die der Oxydationsvorgänge beobachtet wurde. Dennoch behauptet Kostytschew, daß die Phosphate und die Zuckerphosphorsäure gar nicht oder nur schwach die aerobe Atmung der Weizenkeime stimulieren. Außerdem spricht der Verfasser davon, daß in seinen Versuchen keine Alkoholbildung stattfand, und daß die Weizenkeime sehr energisch Sauerstoff absorbiert hatten ($\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,91$).

Demgegenüber haben verschiedene Forscher²⁾ gefunden, daß die Phosphate und die Zuckerphosphorsäure die Atmung der Weizenkeime stark stimulieren. In den Extrakten, mit denen Kostytschew experimentierte, befanden sich ohne

¹⁾ Kostytschew, diese Zeitschr. 15, 184 und 23, 137.

²⁾ L. Iwanoff, diese Zeitschr. 25, 1910. — N. Iwanoff, ibid. 32, 1911. — W. Zaleski und A. Reinhard, ibid. 27, 1910.

Zweifel Zuckerphosphorsäure und anorganische Phosphate, da beim Erhitzen dieser Lösungen die Abspaltung der Phosphorsäure stattfindet, die der Verfasser durch Lauge neutralisierte. Weiter war die Atmung der Weizenkeime in den Versuchen von Kostytschew gering und schwächer¹⁾ als in denen von verschiedenen anderen Forschern, die mit diesem Objekte experimentierten. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß in den Versuchen von Kostytschew die Weizenkeime abgetötet waren. Wir haben aber oben gesehen, daß in diesem Falle Weizenkeime eine anaerobe Atmung haben. Durch Einweichen abgetöteter Keime im Wasser wird die Atmung derselben stark vermindert, und daher atmeten die Kontrollobjekte schwächer. Zum Beweis können wir den folgenden Versuch anführen.

22. Versuch.

CO₂ für 10 g Weizenkeime in Milligramm. Toluolversuch.
Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	In H ₂ O 1 Stunde eingeweichte Weizenkeime	Mit H ₂ O befeuchtete Weizenkeime
1	3	15

Wir haben zu unseren Versuchen Weizenkeime sowie Erbsen und Weizensamen benutzt. Die Objekte wurden in den durch Zymen vergorenen Zuckerlösungen, die nach Kostytschews Verfahren²⁾ bereitet wurden, eingeweicht oder mit diesen befeuchtet. Außerdem wurden Extrakte direkt aus Zymen und Hefanol bereitet. Die kurz dauernden Versuche wurden ohne Toluol, die länger dauernden mit dem Zusatz desselben angestellt. In letzterem Falle wurde auch mit Toluol gesättigte CO₂-freie Luft oder Wasserstoff durchgeleitet.

23. Versuch.

Die gut ausgewachsenen Weizenkeime wurden 1. in destilliertem Wasser, 2. vergorener Zuckerlösung (neutral) 1 Stunde lang eingeweicht und dann zum Versuche genommen.

Dauer des Versuchs Stunden	H ₂ O	Vergorene Zuckerlösung
1	4	29
1	3	24,5

¹⁾ Buriakow, Arb. d. Charkower Ges. d. Naturf. 31, 1897. — N. Iwanoff, Bull. de l'Acad. d. St. Pétersbourg, 1910, VI. ser. — W. Zaleski und A. Reinhard, diese Zeitschr. 27, 1910. — W. Zaleski, ibid. 31, 1911. — Palladin und Stanewitsch, ibid. 26, 1910.

²⁾ Kostytschew, l. c.

24. Versuch.

Die Weizenkeime wurden pulverisiert und 1. mit destilliertem Wasser, 2. vergorener Zuckerlösung (neutral), 3. Zymineextrakt (neutral) befeuchtet und zum Versuche genommen.

CO₂ für 10 g pro Stunde in Milligramm.

Temp. 14°.

H ₂ O	14,5
Vergorene Zuckerlösung . .	20
Zymineextrakt	28,5

25. Versuch.

Die Erbsensamen wurden zermahlen und 1. mit destilliertem Wasser, 2. Zymineextrakt (schwach alkalisch) befeuchtet und zum Versuche genommen.

CO₂ für 25 g pro 2 Stunden in Milligramm.

Temp. 16,5.

H ₂ O	23,5
Zymineextrakt	36

26. Versuch.

Die Weizensamen wurden zermahlen und 1. mit destilliertem Wasser, 2. K₂HPO₄ 1%, 3. Na₂HPO₄ 1%, 4. Glucose 5%, 5. Zymineextrakt (saurer Reaktion), 6. vergorener Zuckerlösung (schwach saurer Reaktion) befeuchtet und zum Versuche genommen.

CO₂ für 25 g pro Stunde in Milligramm.

Temp. 15 bis 16°.

H ₂ O	0
K ₂ HPO ₄ 1%	5,5
Na ₂ HPO ₄ 1%	2 ?
Glucose 5%	6
Zymineextrakt	20
Vergorene Zuckerlösung . .	12

27. Versuch.

Die Erbsensamen wurden zermahlen, mit neutraler vergorener Zuckerlösung befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 25 g in Milligramm.

Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
8	67,5	67

28. Versuch.

Die Weizenkeime wurden pulverisiert, mit Hefanolextrakt (neutral) befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 10 g in Milligramm.

Temp. 13,5°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
1	30,5	30
2	37,5	37
4	69	76
Summe 7	137	143

29. Versuch.

Die gut ausgewaschenen Weizenkeime wurden 1 Stunde lang in neutralem Hefanolextrakte eingeweicht und dann zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 15 g in Milligramm.

Temp. 13,5.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
2	19	19
6	45	60
Summe 8	64	69

30. Versuch.

Die gut ausgewaschenen Weizenkeime wurden 1 Stunde lang in der neutralen vergorenen Zuckerlösung eingeweicht und dann zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 15 g in Milligramm.

Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
2	12	11,5
6	20,5	29
Summe 8	32,5	40,5

31. Versuch.

Die pulverisierten Weizenkeime wurden mit vergorener Zuckerlösung (schwach alkalisch) befeuchtet und zum Versuche benutzt. Toluolversuch.

CO₂ für 10 g in Milligramm.

Temp. 15°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
1	22	22
6	67,5	75
Summe 7	89,5	97

32. Versuch.

Die Weizensamen wurden zermahlen, mit neutralem Zyminextrakt befeuchtet und zum Versuche genommen. Toluolversuch.

CO₂ für 25 g in Milligramm.

Temp. 14°.

Dauer des Versuchs Stunden	N	J
2	29	26,5
2	12	11,5
4	10,5	10
Summe 8	51,5	48

Die durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen und noch mehr die aus einer entsprechenden Menge von Zymin oder Hefanol bereiteten Extrakte üben nach der Neutralisation derselben einen stimulierenden Einfluß auf die Atmung der ganzen und pulverisierten Weizenkeime, sowie auf die der gepulverten Erbsen- und Weizensamen aus (23. bis 26. Versuch). Diese Erscheinung tritt auch in den lange dauernden Versuchen hervor (27. bis 32.), wenn wir diese mit den im zweiten Abschnitt vorliegender Mitteilung erwähnten Experimenten (19. bis 21. Versuch), die zur Kontrolle dienen, vergleichen. Da in diesem Falle unsere Objekte eine gleiche CO₂-Menge in der Luft und im Wasserstoff ausscheiden, so kann man daraus schließen, daß die vergorenen Zuckerlösungen, sowie die Zymin- und Hefanolextrakte nur die anaerobe Atmung stimulieren.

Zwar kann man erwidern, daß die von uns benutzten Weizenkeime, sowie die pulverisierten Samen abgetötet waren, und daß also, wie wir schon oben gesehen haben, in solchen Objekten die anaeroben Atmungsprozesse in den Vordergrund treten; dennoch zeigen unsere Versuche, daß wir keinen Grund haben, zu behaupten, daß die vergorenen Zuckerlösungen die aerobe Atmung stimulieren, da alle diese Objekte Zymase enthalten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß bei der Alkoholgärung der Hefe intermediäre Produkte sich bilden, es bleibt aber die chemische Natur, sowie die Beteiligung derselben an den Oxydationsprozessen unbekannt. Die vergorenen Zuckerlösungen, sowie die Zymin- und Hefanolextrakte haben eine sehr komplizierte Zusammensetzung und enthalten auch leicht oxydable Substanzen.

Wir haben in unseren Versuchen mit Weizensamen Chromogenbildung beobachtet, die in keiner Beziehung zur CO_2 -Bildung steht. Vorläufig vermuten wir, daß die Zuckerphosphorsäure in unseren Versuchen die Stimulation der CO_2 -Ausscheidung herbeigeführt hatte. Wenn die Kohlensäureausscheidung der Weizenkeime und der Erbsensamen durch die zweibasischen Phosphate stimuliert wird¹⁾, so üben diese keinen Einfluß auf die Atmung der von uns benutzten Weizensamen aus. Weiter haben wir gefunden, daß weder Nucleinsäure (als Na-Salz), noch die Inositolphosphorsäure (als Phytin) eine Stimulation der Atmung unserer Objekte ausführt.

Wir haben weiter ein im Wasser lösliches Phosphatid aus Weizenkeimen isoliert, das auch keinen Einfluß auf die Atmung der Weizenkeime ausübt. Unsere Versuche mit verschiedenen Kohlenhydraten, sowie mit Aminosäuren und anderen Substanzen haben bisher keine bestimmten Resultate gegeben.

Vorläufig wollen wir die Versuche mit Chininwirkung auf die Atmung der Samen besprechen, da unsere früheren Experimente mit diesem Stoffe den Anlaß zur Erwiderung von seiten N. Iwanoffs²⁾ gegeben haben.

Smirnoff³⁾ hat gezeigt, daß salzsaures Chinin in geringer Konzentration keinen Einfluß auf die Atmung der Samen ausübt, in größerer aber schädlich auf diese wirkt. Wenn wir die Versuchszahlen des Verfassers betrachten, so bemerken wir einen großen Unterschied in der Wirkung des salzsauren Chinins auf verschiedene Samen. So wird die Atmung der Maissamen unter 5tägiger Wirkung des salzsauren Chinins nicht verändert, während die Erbsensamen nach 3tägiger Wirkung desselben keine Kohlensäure ausscheiden. Da die Salze der Alkaloide leicht dissoziierbar sind, und da die Atmung der Erbsensamen nach Säurezusatz sehr vermindert wird, so kann man dieses Resultat der Versuche von Smirnoff der Wirkung der Säure und nicht der des Chinins selbst zuschreiben.

In der Tat haben wir gezeigt⁴⁾, daß Chinin in konzentrierter Lösung keinen Einfluß auf die Atmung der pulveri-

1) W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

2) N. Iwanoff, diese Zeitschr. 32, 1911.

3) Smirnoff, Arbeiten der Naturforsch.-Ges. Petersburg, 35.

4) W. Zaleski und A. Reinhard, l. c.

sierten Erbsensamen ausübt. Unsere Versuche zeigen, daß Chinin auch von keinem Einflusse auf die Atmung keimender Erbsensamen ist. So z. B.

33. Versuch.

Die Erbsensamen wurden 3 Tage l. in destilliertem Wasser, 2. konzentrierter Chininlösung eingeweicht und dann zum Versuche genommen. Temp. 16°.

CO₂ für 60 Samen pro 2 Stunden in Milligramm.

H₂O = 22,

Chinin = 22.

Wir haben also keine Schwächung der Atmungsenergie der keimenden Erbsensamen unter Chininwirkung beobachtet, obwohl diese schon krank waren. Demgegenüber wird die Atmung der Erbsensamen durch kurzes Behandeln mit salzsaurem Chinin vermindert. So z. B.

34. Versuch.

Die Erbsensamen wurden gepulvert und l. mit destilliertem Wasser, 2. salzsaurem Chinin (1%) befeuchtet und zum Versuche genommen. Temp. 14°.

CO₂ für 25 g pro Stunde in Milligramm.

H₂O = 9,

1% salzsaures Chinin = 3,5.

Auf diese Weise fallen die Erwiderungen von N. Iwanoff¹⁾, die er gegen uns zum Schutz von Smirnowff gerichtet hat, fort, obwohl die Arbeit des Verfassers keine direkte Beziehung zu der von Smirnowff hat und vielmehr deren Schlußfolgerung widerspricht. Wenn in den Versuchen von Iwanoff salzsaures Chinin schädlich auf die Atmungsfermente der Weizenkeime wirkt, so schreiben wir dieses Resultat der Salzsäure zu, um so mehr, da diese Objekte gegen Säure sehr empfindlich sind²⁾. Außerdem ist nicht zu vergessen, daß in erfrorenen Objekten eine Konzentrationserhöhung der Säfte wegen der Wasserausscheidung aus den Zellen stattfindet.

¹⁾ N. Iwanoff, l. o.

²⁾ So hat in unserem Laboratorium Fräulein Schklowski gezeigt, daß Apfel-, Bernstein- und Oxalsäure schon in 0,2%iger Lösung die Energie der Atmung keimender Samen vermindern

Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. I.¹⁾

Von
Otto Meyerhof.

(Aus der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 9. Juli 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

Übersicht und Methodik.

Die folgende Arbeit beschäftigt sich mit der Wärmebildung, die bei den Oxydationsprozessen in der tierischen Zelle stattfindet, insbesondere in sich furchenden Eiern. Fast alle bisherigen Bestimmungen der vitalen Wärmeerzeugung sind an ausgewachsenen, Nahrung aufnehmenden und verbrennenden, meistens hochentwickelten Organismen gemacht, einzelne auch an Mikroorganismen (Rubner, Rosenthal, Atwater u. a.). Das Ergebnis war stets, daß die gebildete Wärmemenge annähernd gleich ist dem in der Versuchszeit stattfindenden Verlust an chemischer Energie der Nahrungsmittel. Einzelne Untersuchungen sind für besondere Problemstellungen gemacht, wie z. B. die Experimente von Lesser über die Wärmeabgabe der Frösche in sauerstofffreiem Medium.

Eine Arbeit liegt vor über die Wärmebildung bei der Entwicklung des Hühnerembryos von Bohr und Hasselbalch²⁾. Diese Autoren maßen calorimetrisch die Wärmeproduktion des bebrüteten Hühnerreis, verglichen sie mit dem Sauerstoffverbrauch und der Kohlensäureausscheidung, und berechneten unter Berücksichtigung des Gewichtsverlustes,

¹⁾ Vorbemerkung: Aus redaktionellen Gründen mußte die Arbeit geteilt werden. Im ersten Teil sind die Übersicht über die Ergebnisse und die Darstellung der Methodik enthalten. In den beiden folgenden Teilen die Versuche.

²⁾ Skand. Arch. f. Physiol. 14, 398, 1903.

der von Tangl ermittelten Verbrennungswärme des Hühnerfettes und einiger anderer Daten, daß die gefundene Wärme quantitativ genau gleich ist der dem Gaswechsel entsprechenden Verbrennung von Fett. Dieses Resultat beansprucht Interesse, einmal weil damit die von Liebermann seinerzeit behauptete Mitbeteiligung von Albumin an dem Substanzschwund im Hühnerei¹⁾ in Abrede gestellt wird, dann aber auch vor allem, weil daraus hervorgeht, daß die zum Aufbau des Embryos verwandten Stoffe bei ihrer Umwandlung in Zellbestandteile keinen merkbaren Gewinn oder Verlust des Energieinhalts erleiden, daß auch kein erkennbarer Bruchteil der bei dem Fatabbau freiwerdenden Energie in anderer als „chemischer“ Gestalt auf die organisierten Gewebe übertragen wird, also etwa der morphologischen Struktur als solcher ein meßbares Energiepotential nicht zukommen kann. Daneben seien die Arbeiten von Tangl und seinen Schülern hervorgehoben, die indirekt aus der Differenz der Verbrennungswärme von Eiern vor und nach der Entwicklung die in dieser Periode verbrauchte chemische Energie ermitteln²⁾, eine Methode, die dann auch auf Bakterien und Enzymreaktionen übertragen wurde³⁾. In der ersten, den Hühnerembryo betreffenden Arbeit stellte dieser Autor unter anderem fest, daß die während der Entwicklung im Stoffwechsel verbrauchte (in Wärme umgewandelte) Energie, die er als „Entwicklungsarbeit“ bezeichnet, etwa $\frac{1}{2}$ so viel beträgt, wie die auf die Bildung des Embryos verwandte, im Organismus verbleibende „potentielle Energie“ der Gewebestandteile (wobei der Dotterrest außer Berücksichtigung bleibt). In der letzten dieser Untersuchungen, das Forellenei betreffend, ist die gegen alle Erwartungen festgestellte Zunahme des Fettes während der Entwicklung desselben besonders beachtenswert.

Zu den direkten calorimetrischen Messungen der Stoffwechselvorgänge ist ferner zu zählen die alte, trotz unvollkommener Hilfsmittel so sorgfältige Untersuchung von Rodewald über den Stoff- und Kraftumsatz im Atmungsprozeß der Pflanzen⁴⁾. Bei dieser ergab sich beim Apfel, daß unter Voraussetzung der vollständigen Verbrennung von Traubenzucker durchschnittlich 99,2% der aus der CO₂-Abgabe berechneten Wärme nachweisbar sind (Schwankungen zwischen 113,4 und 80,6% in 8 Versuchen), beim Kohlrabi 95% der aus dem O₂-Verbrauch berechneten, 91% der aus der CO₂-Abgabe berechneten Wärme (bezügl. CO₂ Schwankungen zwischen 71,1 und 105,6%, bezügl. O₂ zwischen 79,5 und 107,5% in 9 Versuchen)⁵⁾.

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 43, 71, 1888.

²⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 92, 327; 98, 490; 104, 624.

³⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 475; 115, 1.

⁴⁾ Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 18, 342, 1887; 19, 291, 1888; 20, 261, 1889.

⁵⁾ Pfeffer (Studien zur Energetik der Pflanzen) macht auf eine dem Experimentator unbekanntes Fehlerquelle aufmerksam, durch die die gefundene Wärme zu groß werden muß. An der Einstichstelle der

Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchung waren aber nicht so sehr die hier genannten, teils dem Interessenkreise der Stoffwechselphysiologie, teils der „Energetik“ angehörenden Arbeiten, als die durch die grundlegenden Forschungen Jacques Loeb's aufgeworfenen Fragen nach dem Grund und dem Mechanismus der vitalen Oxydationsvorgänge und nach den Beziehungen zwischen chemischen und morphologischen Veränderungen in lebenden Zellen.

Der größte Teil der folgenden Experimente ist mit Seeigeleiern angestellt. An diesen vor allem hatte J. Loeb¹⁾ Beziehungen zwischen Variationen der Oxydationsgeschwindigkeit und verschiedenen künstlichen und natürlichen morphologischen Veränderungen (Membranbildung, Furchung, Narkose usw.) angenommen, und O. Warburg²⁾ hatte durch ausgedehnte Messungen des Sauerstoffverbrauchs diese Annahme sichergestellt, zudem das Tatsachenmaterial erheblich erweitert, wobei teilweise außerordentlich merkwürdige Variationen der Oxydationsgröße entdeckt wurden. So betrug z. B. die Atmung befruchteter Eier das 6 bis 7fache unbefruchteter, dagegen die Atmung sich nicht furchender befruchteter Eier in starken hypertonen Lösungen das 40fache von der Atmung unbefruchteter Eier in Seewasser. Ebenso ließ sich die Atmung unbefruchteter Eier in hypertonischem Seewasser, in alkalischem Seewasser und bei Gegenwart von minimalen Metallspuren auf das 8 bis 10fache steigern. Auf viele Einzelheiten werden wir im folgenden zu sprechen kommen. Diese Ergebnisse mußten die schon von J. Loeb ventilierten Fragen zur Diskussion stellen: Wozu dient eigentlich der Sauerstoff bei der Furchung der Seeigeleier (die keine Nahrung aufnehmen und nur sehr kleine Dottermengen besitzen)? Dient er bei allen Variationen der Atmung für ein und denselben chemischen Vorgang, gleich-

Thermoadeln wird nämlich durch die Verletzung Atmung und Wärmebildung vergrößert, und die aus dem Mittel der Lötstellentemperaturen berechnete Temperatur übersteigt daher die wahre Durchschnittstemperatur des Objekts.

¹⁾ Vgl. u. a. Die chemische Entwicklungsregung des tierischen Eies, Berlin 1909. (Sachverzeichnis: Sauerstoff, Oxydationsvorgänge.)

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 1, 1908; 60, 443, 1909; 63, 305, 1910; 70, 413, 1911.

gültig ob die Eier sich furchen oder nicht; ob überhaupt sichtbare morphologische Veränderungen stattfinden oder nicht, ob die Eier befruchtet oder unbefruchtet sind, der Sauerstoffverbrauch gesteigert oder herabgesetzt ist usw. Endlich konnte man die Seeigeleier als ein weitaus geeigneteres Objekt als Hühnereier ansehen, die Frage zu entscheiden, ob nicht doch bei ganz überwiegend protoplasmatischen Vorgängen und bei den ersten Furchungen (während doch das Hühnerei bekanntlich schon gefurcht aus dem Eileiter kommt) der Energiegehalt der Eisubstanz (auf die Gewichtseinheit bezogen) zunimmt, sei es, daß chemische Verbindungen von höherem Verbrennungswert entstehen, sei es, daß die Struktur als solche einen Teil der Energie in nicht chemischer Form aufnimmt.

Zu der ersten der aufgeworfenen Fragen kann wohl die Antwort Loebs, der Sauerstoff sei für die Nucleinsynthese bei der Kernvermehrung notwendig¹⁾, nicht mehr als haltbar angesehen werden, nachdem Masing²⁾ gezeigt hat, daß der Nucleinsäuregehalt der Eier während der Furchung nicht zunimmt, bei der Kernvermehrung also keine Neubildung von Nucleinsubstanzen stattfindet, sondern nur ein Sichtbarwerden vorher im Protoplasma verteilten Nucleins. Außerdem würde hieraus auch nichts über die Größe der Atmung zu entnehmen sein. Das einzige, was wir hier wissen, vornehmlich durch die Untersuchungen O. Warburgs, ist, daß eine Furchung ohne einen bestimmten, im wesentlichen von der Temperatur abhängenden Sauerstoffverbrauch nicht stattfinden kann, daß aber jedenfalls diese Kuppelung der Oxydationsvorgänge und morphologischen Veränderungen sich sehr leicht lösen läßt; dies ist immer der Fall bei sehr herabgesetzter und sehr gesteigerter Atmung, zum Teil aber auch bei ganz normaler Atmung (Phenylurethannarkose) und schwach veränderter, während es andererseits Fälle gibt, wo die Furchung mit und durch die Herabsetzung der Oxydationsvorgänge verlangsamt wird (außer Kälte z. B. CNK). Ja selbst, daß es zum Erreichen eines Furchungsstadiums eines in minimo bestimmt anzugebenden Sauerstoffbetrages bedürfe, gilt nur für gewöhnliche Fälle, indem, wie Warburg zeigte, polysperm befruchtete Eier bereits mit

¹⁾ Chemische Entwicklungserregung, S. 15 ff.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 161, 1910.

der halben Sauerstoffmenge das 4-Zellenstadium erreichen. Im folgenden wird bei Gelegenheit der Wärme- und Sauerstoffmessungen bei Eiern mit künstlichen Membranen gezeigt werden, daß hier sogar ein stündliches Ansteigen der Verbrennungen stattfindet, obgleich die Eier sich gar nicht furchen. Aus all diesen Tatsachen läßt sich nur der gemeinsame Schluß ziehen, daß die Oxydationsvorgänge den Furchungsvorgängen bei den ersten Teilungen vollständig übergeordnet sind, daß letztere im allgemeinen nur bei „normaler“ Atmungsgröße statthaben, daß es aber auch Fälle gibt, wo beide gemeinsam herabgesetzt (Kälte, CNK) und gesteigert sind (Wärme), und sogar im Falle polyspermer Befruchtung die Furchung dem Sauerstoffverbrauch vorausseilt.

Ich gebe jetzt einen Überblick über die wichtigeren in dieser Arbeit vereinigten Resultate, während ich mir die Besprechung aller Einzelheiten gelegentlicher Beobachtungen und verschiedener negativer Versuche, die Berechnung der Fehlergenauigkeit und die Schilderung der Methodik für das folgende vorbehalten, wo alle hier angegebenen Experimente einzeln aufgeführt sind.

Die ersten Versuchsreihen behandeln allein die Wärmebildung bei Seeigeleiern (*Strongylocentrotus lividus*), ohne gleichzeitige Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs. Aufgabe derselben war, die absolute Größe der Wärmeerzeugung festzustellen, die Kurve des Wärmeanstiegs während der ersten Stunden und insbesondere das Verhältnis derselben zum Furchungsstadium; endlich auch nach direkten Beziehungen zwischen morphologischem Bild und Wärmeerzeugung oder nach anderen Perioden der Wärmebildung zu suchen.

In diesen Fällen wurden die mit wechselnden Eiermengen angestellten Versuche dadurch einer einheitlichen Berechnung zugänglich, daß die Eier nach dem Versuch nach Kjeldahl verascht wurden und alles auf die Wärmeerzeugung von 140 mg N umgerechnet wurde. Alle Versuche in dieser Arbeit sind bei 19,0° C angestellt und die Wärme ist in (mittleren) Grammc calorien berechnet.

Die Genauigkeit der meisten reinen Wärmeexperimente muß ebenso wie die der Doppelexperimente auf etwa 5 bis 8%, angesetzt werden, weil die N-Bestimmungen häufig nicht sehr

genau sind (die Übereinstimmung der Werte geht erheblich weiter als die berechnete Fehlergenauigkeit). Unabhängig davon sind zu verschiedenen Zeiten beobachtete starke Schwankungen der absoluten Größe der Oxydation, bezogen auf die N-Einheit, die auch Warburg aufgefallen sind, und die vielleicht nicht so sehr auf Veränderung der Eier zu bestimmten Zeiten, als auf Schwankungen der Alkalität und Konzentration des Aquariumseewassers zu beziehen sind. Dagegen gaben die zu gleicher Zeit angestellten Experimente meist eine sehr gute Übereinstimmung.

Die durchschnittlichen Größen sind hier, daß auf 140 mg N in der 1. Stunde unmittelbar nach der Befruchtung 4,0 bis 4,2 cal. erzeugt werden, in der folgenden Stunde, innerhalb deren die Zweiteilung stattfindet 4,5 bis 5,0 cal., in der 3. Stunde (bzw. $1\frac{1}{2}$ bis $2\frac{1}{2}$ Stunden nach Befruchtung) 5,3 bis 5,8 cal. (Vierteilung), in der 4. Stunde 6,0 bis 6,5 cal. (8-Teilung), in der 5. Stunde 7,8 bis 9,5 cal. (16 bis 32-Teilung), in der 6. Stunde 9,8 cal. (32 bis 64-Teilung). Bis zum 64-Zellenstadium hat sich also die Atmung seit der Befruchtung etwa verdoppelt. Ein längerer Versuch, in dem die Wärme von der 2. bis 13. Stunde gemessen wurde, ergab ein Verdreifachen der Atmung in dieser Zeit bei relativ kleinen absoluten Zahlen (von 3,5 bis 11,0 cal. pro 140 mg N). Die Larven geben zu Beginn des Schwimmens (umgerechnet auf die Temperatur von 19° ca. 14. Stunde nach Befruchtung) 12,9 cal. und 4 Stunden später 17,8 cal. pro Stunde. Dies ist der höchste aller erhaltenen Wärmewerte auf 140 mg N, gleich der 4fachen Größe der Atmung des Einzellenstadiums.

Ferner ist für den Temperaturanstieg bemerkenswert, daß derselbe sofort nach der Befruchtung beginnt und innerhalb der Ablesungsgenauigkeit keine sicheren Schwankungen erkennen läßt. Bis zu welchem Grade das gilt, wird später erörtert werden. Dagegen hat die Befruchtung selbst (Membranbildung usw.) keine meßbare Wärmetönung. Entsprechend der geringeren Atmung wurde für unbefruchtete Eier 0,91 und 0,89 cal. auf 140 mg N gefunden, in späteren Versuchen noch etwas weniger, in Parallele zu den entsprechenden Sauerstoffbestimmungen.

Eier, die durch Stehenlassen in Seewasser so verändert waren, daß sie größtenteils ohne Membranbildung befruchtet

wurden, gaben genau die gleiche Wärmemenge wie membranbesitzende, nämlich in der 2. Stunde 5,0, in der 3. Stunde 5,9, in der 6. Stunde 9,8 cal.

Dies ist deshalb interessant, weil es zeigt, daß die Membranbildung nicht ausschließlich an der Atmungsteigerung nach der Befruchtung schuld sein kann. Auf der anderen Seite ist schon erwähnt worden, daß die Atmung bei Eiern mit künstlichen Befruchtungsmembranen nicht nur der normalen gleichkommt, sondern auch stündlich ansteigt. So wurde gefunden auf 140 mg N 1 Stunde nach der künstlichen Membranbildung 4,5 cal., die folgende Stunde 5,6 cal., $3\frac{1}{2}$ bis $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Membranbildung 6,4 cal. Ähnliche Experimente, auch Sauerstoffmessungen im folgenden.

Im Gegensatz zu den Eiern wurde der Samen der Seeigel in der Regel zur Feststellung seiner Menge gezählt und die Zahl auf 10 Milliarden Spermatozoen umgerechnet; doch wurde gelegentlich festgestellt, daß diese ungefähr 4,9 mg N enthalten. Ebenso war früher durch O. Warburg gelegentlich festgestellt, daß 1 Million Eier 8,5 mg N enthalten¹⁾. (Ein Ei enthält also ca. 20000 mal so viel N wie ein Spermatozoon.) Die Atmung der Spermatozoen ist ungleichmäßig, insbesondere abhängig von der Zeit der Entnahme aus dem Hoden; sie fällt von da an dauernd ab, was sich ja aus der Funktion der Spermatozoen erklärt und mit der Tatsache harmoniert, daß in der Regel über 24 Stunden alter Samen keine Eier mehr befruchtet, und schon nach mehreren Stunden ein großer Teil bewegungslos und befruchtungsunfähig ist. Dementsprechend gab ganz frischer Samen auf 10 Milliarden Spermatozoen 3,8 bis 4,8 cal.; in 3 Stunden fiel die Wärmeerzeugung von 4,6 cal. pro Stunde auf 3,1 cal.

Hiernach wurde die Ermittlung der auf die Sauerstoffeinheit gebildeten Wärmemenge vorgenommen, einmal um die Größe derselben zu kennen und dann um nach Schwankungen dieses Wertes unter verschiedenen Umständen zu suchen. Es wurde dazu eine Eierportion in Seewasser in einem Meßzylinder aufgeschüttelt, ein aliquoter Teil, meist $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{8}$, zu der Sauerstoffbestimmung, das übrige zur Wärmemessung benutzt. Gelegentlich wurde auch das Verhältnis durch Ver-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 1.

aschungen und N-Berechnung ermittelt; letzteres aber ist ungenauer. Der Sauerstoffverbrauch, nach Winkler titriert, wurde stets in Milligramm O_2 ausgerechnet, auf die Menge des Wärmeversuchs umgerechnet und dann der Quotient aus Wärme-erzeugung in Grammcaldorien und O_2 -Verbrauch in Milligramm gebildet, der im folgenden als der calorische Quotient der Sauerstoffatmung (cQ) bezeichnet wird.

Nachdem von O. Warburg festgestellt war, daß eine der Größenordnung nach der O_2 -Atmung entsprechende CO_2 -Aus-scheidung bei den Seeigeleiern nachzuweisen ist, konnten als ungefährender Anhaltspunkt der zu erwartenden Größe des Quotienten folgende von Zuntz, Pflüger und Rubner angegebene Zahlenwerte dienen, von Pflüger als „calorische Koeffizienten des Sauerstoffs“ bezeichnet (wobei wir uns erinnern, daß Bohr und Hasselbalch beim Hühnerei genau den calorischen „Fettkoeffizienten“ fanden). Für 1 mg O_2 treten auf bei totaler und ausschließlicher Verbrennung von Eiweiß 3,14 cal. (Zuntz¹), 3,3 bzw. 3,24 cal. (Pflüger²), 3,0 cal. (Rubner³), bei solcher von Fett 3,28 cal. (Zuntz) bzw. 3,29 cal. (Pflüger), 3,27 cal. (Rubner), bei Kohlenhydratverbrennung (Stärke) 3,54 cal. (Zuntz), 3,53 bis 3,40 cal. (Pflüger). Uns interessieren hier nicht die spezielleren Einschränkungen und Bedenken, die gegen Einzelheiten der Berechnung geltend gemacht sind, sondern nur die Größe bis auf die erste Dezimale, die für Eiweiß 3,2, für Fett 3,3, für Kohlenhydrate 3,4 bis 3,5 ist.

Zuerst wurde der „calorische Quotient“ bei sich normal furchenden Eiern bestimmt, unter Einrechnung der membranlosen Eier und derer im hypotonischen Seewasser in 9 als im ganzen gelungen zu bezeichnenden Experimenten, wobei jedoch in zweien bestimmt anzugebende kleine Fehler vorkamen, die daher in der entsprechenden Richtung herausfallen. Bei den 7 übrigen ergab sich stets 2,65 bis 2,85, und zwar im einzelnen: $Q = 2,75$, 2,75 bis 2,8, 2,65 bis 2,7, 2,7, 2,65 bis 2,7, 2,85, 2,7; 2 etwas ungenauere: $> 2,55$ und $< 2,9$. Diese Beob-

¹) Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. 83, 557, und Heinemann Arch. f. d. ges. Physiol. 83, 441.

²) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 77, 465 und 79, 537.

³) Rubner, Zeitschr. f. Biol. 81, 319. Zusammenfassung bei Johansson, Abderhaldens Arbeitsmethoden III, S. 1130.

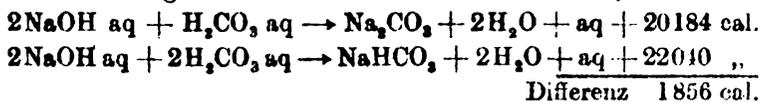
achtungen umfassen sowohl Eier unmittelbar nach der Befruchtung wie schwimmende Larven und zeigen daher zugleich, daß eine wesentliche Änderung des Quotienten während der Furchung nicht eintritt. Insbesondere war daran zu denken, daß bei den höheren Teilungsstadien die in der Zeiteinheit stattfindenden Zell- und Kernteilungen sich vervielfachen und ein größerer Bruchteil der hypothetischen Strukturenergie auf Kosten der chemischen Energie gebildet werden könnte — was sich also nicht bewahrheitet hat. Andererseits ist wohl das bemerkenswerteste Resultat, daß dieser Quotient, der als 2,7 bis 2,8 angesetzt werden kann, erheblich hinter den obengenannten Zahlen zurückbleibt.

Da wir in diesen Messungen die Standardzahlen zu sehen haben, mit denen alle folgenden zu vergleichen sind, so wird es gut sein, sogleich auf eine etwas nähere Betrachtung darüber einzugehen. Wie diese Zahl zustande gekommen ist, ist wohl klar. Unter Berücksichtigung des calorischen Wasserwerts des Gefäßes, der spezifischen Wärme des Seewassers und des Abkühlungskoeffizienten des Calorimeters ist die tatsächlich erzeugte Wärmemenge aus dem Temperaturanstieg berechnet. Ebenso ist nach dem Winklerschen Verfahren der Sauerstoffverbrauch bestimmt (mit Natriumthiosulfat als Jod titriert und auf den Titer des ca. $\frac{2}{100}$ -Nathiosulfat in Milligramm O_2 bezogen) und dann — auf gleiche Eiermengen umgerechnet — der Quotient aus beiden Zahlen bestimmt.

Was den physikalischen und chemischen Zustand der Eier anbelangt, so ist derselbe in Seewasser natürlich ganz normal, aber auch in den späteren Versuchen, wo die Eier in Seewasser mit verschiedenen Zusätzen gebracht wurden, ist stets vor Beginn der Versuche hinsichtlich der Konzentration und Verteilung der Stoffe in und außerhalb der Zellen ein Gleichgewichtszustand eingetreten (außer vielleicht bei hyperton. Seewasser; s. später), so daß keinerlei Wärmetönungen aus derartigen osmotischen oder chemischen Gründen in der Versuchszeit auftreten konnten. Wohl aber ist der Atmungsmechanismus selbst wegen der Bildung der CO_2 und ihres Übergangs ins Seewasser noch an dieser Wärmetönung unabhängig von den Oxydationsvorgängen in der Zelle beteiligt, und diese Beteiligung muß berücksichtigt werden. O. Warburg fand einmal 0,14 ccm CO_2 -Ausscheidung gegenüber

einer aus Vergleichsversuchen geschätzten O_2 -Aufnahme von 0,2 ccm, ein andermal 0,18 ccm CO_2 gegenüber einem geschätzten O_2 -Verbrauch von 0,2 bis 0,3 ccm. Wenn diese Zahlen auch einerseits wegen der Schwierigkeit des exakten Nachweises so kleiner Kohlensäuremengen, andererseits wegen der über den N-Gehalt berechneten Beziehung von O_2 -Verbrauch und CO_2 -Ausscheidung nicht sehr genau sind, so wollen wir für unsere Berechnung doch annehmen, daß sich $\frac{CO_2}{O_2}$ verhält wie $\frac{18}{24}$, daß also der respiratorische Quotient ungefähr 0,75 ist. Dann ergibt sich, daß wir in Gewichtseinheiten ausgedrückt die CO_2 -Ausscheidung der O_2 -Aufnahme gerade gleich setzen können (da 1 ccm CO_2 1,98 mg, 1 ccm O_2 1,43 mg wiegt). Wir müssen also bei dem pro 1 mg O_2 berechneten Koeffizienten 2,7 bis 2,8 eine Korrektur entsprechend 1 mg CO_2 anbringen. CO_2 wird bei der Oxydation gasförmig abgeschieden, als H_2CO_3 gelöst und reagiert dann mit dem, Na_2CO_3 und $NaHCO_3$ enthaltenden, Seewasser nach der Formel: $Na_2CO_3 + H_2CO_3 \rightarrow 2NaHCO_3$.

Die Lösungswärme von 1 Mol. (44 g) CO_2 beträgt +5888 cal.¹⁾, für 1 mg also +0,134 cal. Für die Reaktion zwischen Kohlensäure und Natriumcarbonat ist wohl der sicherste Wert aus den Gleichungen von J. Thomsen zu entnehmen²⁾.



Für 1 Mol. H_2CO_3 treten +1856 cal. auf. Für 1 mg CO_2 treten demnach noch +0,042 cal. in Rechnung, im ganzen $0,134 + 0,042 = 0,176$. Wenn wir 2,7 bis 2,8 als den wahren ermittelten Wert annehmen, so wird der reduzierte Wert des calorischen Quotienten = 2,6.

Im folgenden werden jedoch stets die nicht reduzierten Werte angegeben, und die durch die CO_2 -Ausscheidung bedingte Wärmetönung nur am Schluß berücksichtigt. Um diese vermindert sei der Quotient als $Q_{\text{reduziert}}$ (abgekürzt Q_r) bezeichnet. —

¹⁾ Aus Naumann, Thermochemie, zit. nach Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 79, 584, 1900. — Nach Berthelot 5200 cal., nach Rubner 5450 cal. (Arch. f. Hygiene 49, 387). Mit letzterem, vielleicht richtigerem, Wert, ergäbe sich pro 1 mg CO_2 +0,127 cal.

²⁾ Vgl. Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen 1905. 446.

Es wurden daraufhin Versuche mit Phenylurethan in nar-
kotischer Grenzkonzentration ($1/2000$ bis $1/2300$ n) angestellt, da
Warburg gezeigt hat, daß hierbei die Zellteilung ver-
hindert wird, ohne daß die Atmung meßbar dadurch
beeinflußt wird. Vergleichen wir den hier zu erhaltenden
calorischen Quotienten mit dem der normalen Furchung, so
haben wir wohl einen eklatanten Fall, die Frage zu entscheiden,
ob für die morphologische Struktur chemische Energie ver-
schwindet. Dann hätte nämlich der Quotient kleiner werden
müssen. Tatsächlich betrug er jedoch auch hier 2,65 bis 2,76
(in 2 Versuchen). (Ein dritter, wegen N-Berechnung un-
genauerer 2,55.)¹⁾

Ebenso ergaben die Versuche mit unbefruchteten Eiern
(2mal) 2,8 und 2,55, was also zeigt, daß hier die Atmung wohl
wesentlich auf den gleichen Vorgängen beruht wie nach der
Befruchtung.

Bei den Versuchen mit künstlichen Membranen (durch
Valeriansäurebehandlung) war der Gesichtspunkt maßgebend,
daß bei der künstlichen Membranbildung die Oxydationen
nach einer Äußerung J. Loeb's fehlerhaft verlaufen. Es wurde
hier gefunden 2,6; 2,75; 2,6 bis 2,7; 2,95; 3,05. Man sieht,
daß diese Versuche nicht ganz so genau wie die vorigen sind. Offen-
bar ist aber der Wert doch nicht größer wie in den bisherigen
Fällen und cQ_r in allen Fällen 2,6.

Dagegen wurde ganz unerwartet eine solche Abwandlung des ca-
lorischen Quotienten bei befruchteten Eiern in Ammoniakseewasser
gefunden, das für NH_3 angenähert $1/250$ n war. In demselben findet,
wie Warburg zeigte, keine Furchung statt, während die Atmung
schwach gesteigert ist. In meinen Versuchen betrug die absolute
Atmungssteigerung etwa 10 bis 50%. Der „Quotient“ betrug (in
5 Versuchen) 3,25 bis 3,35. Das ist zugleich die beste Überein-
stimmung, die unter einheitlichen Bedingungen gefunden wurde.
Er kann wohl auf 3,3 angenommen werden. Dem Ammoniak
eigentümlich ist es, daß es in die Zellen eindringt und deren
im Innern saure Reaktion in alkalische umwandelt. Die Bedeutung

¹⁾ Das Ergebnis bestätigt also die Ansichten Rubners und dessen
Experimente über die Energetik wachsender Zellen. Vgl. „Kraft und Stoff
im Haushalt des Organismus“ S. 97 ff.

der auffälligen Veränderung des calorischen Quotienten, die ich zunächst ausschließlich auf eine weitgehende Veränderung der Oxydationsprozesse durch die alkalische Zellreaktion bezog, fand dann durch nachfolgende Berechnung eine empfindliche Einschränkung. Bei einer Lösung von NH_3 im Zellinnern reagiert die Kohlensäure offenbar bereits in der Zelle mit Ammoniak unter Bildung von Ammoniumcarbonat. Wir müssen also die aus der Reaktion $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow 2\text{NaHCO}_3$ stammende Wärmetönung ersetzen durch die aus der Reaktion $2\text{NH}_4\text{OH} + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$. Die Berechnung dieser Wärmetönung stößt auf Schwierigkeiten, weil die Stoffe sich bei der weitgehenden Verdünnung in starker Dissoziation befinden und die Reaktion natürlich nur bis zum Gleichgewicht aller beteiligten Moleküle und Ionen verläuft, mithin die Neutralisationswärme von der Konzentration abhängig sein muß.

Anhaltspunkte, die die Wärmetönung wenigstens nach oben begrenzen, finden wir durch folgende Zahlen:

Für $(\text{CO}_2 \text{ aq} + 2\text{NH}_3 \text{ aq})$ bei Gegenwart von 100 Mol. = 1,8 l Wasser fand Thomsen 18850 cal., für dieselbe Reaktion bei Gegenwart von 400 Mol. = 7,2 l Wasser 15900 cal.¹⁾ Berthelot bei Gegenwart von 30 l Wasser nur 10700 cal.²⁾ Nun ist in meinem Versuch aber höchstens 2NH_3 auf 500 l Wasser vorhanden, in der wässrigen Phase der Zelle doch ebensoviel. Die Konzentration des NH_3 ist also nur der 17. Teil derjenigen von Berthelot und noch viel kleiner ist die Konzentration der Kohlensäure, da selbst innerhalb 1 Stunde bei der Größenordnung meiner Versuche nur 2 bis 3 mg gebildet werden. Wir können also die Zahl Berthelots als Maximalzahl ansehen. Wenn auf 44 g CO_2 maximal 10700 cal. gebildet werden, so auf 1 mg CO_2 0,24 cal., außerdem kommt für die Lösung von CO_2 in Wasser wieder der Betrag 0,13 in Rechnung, während die aus der Reaktion mit Na_2CO_3 stammende Wärmetönung in Wegfall kommt. Das Reduktionsglied beträgt also in diesem Fall 0,37 statt 0,175. Selbst bei Berücksichtigung dieser Korrektur ergibt sich noch ein nicht unerheblich höherer Wert des reduzierten Quotienten, nämlich 2,95 gegen 2,6 (bzw. 3,10 gegen 2,75, bezogen auf die Versuchszahlen der

¹⁾ Zit. nach Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 79, 586, 1900.

²⁾ Landolt-Börnstein, S. 446.

anderen Experimente). Und da wir die Berthelotsche Zahl als Maximalzahl ansehen dürfen, so dürfte wohl die faktische Abweichung noch größer sein. Andererseits läßt sich aber auch der Einwand nicht unterdrücken, daß die CO_2 -Ausscheidung größer als angesetzt sein kann, daß die Umsetzung von CO_2 und NH_3 in solchen Zellphasen stattfindet, wo dieselben sich in hoher Konzentration befinden, daß endlich Berthelots Wert zu niedrig ist. Alle diese Möglichkeiten addiert, würde der Quotient kaum anders sein, wie in den anderen Fällen, jedenfalls würde dann die geringe Vergrößerung schon bedenklich in die Fehlergenauigkeit fallen. Wir können also nach alledem nur von einer großen Wahrscheinlichkeit sprechen, daß der auf die Oxydationsprozesse verfallende Teil des calorischen Quotienten um 10 bis 15% größer ist, als in den bisher aufgeführten Fällen. (Der Einwand, daß ein Teil der Wärme aus der Neutralisation der sauren Zellbestandteile durch NH_3 stammt, ist natürlich abzuweisen. Nach Warburg schlagen die mit Neutralrot gefärbten Eier in NH_3 -Seewasser bereits in 1 Minute in gelb um; meine Experimente begannen aber stets erst 10 bis 20 Minuten nach Überführung der Zellen in Ammoniakseewasser; bis zu dieser Zeit ist schon lange das Verteilungsgleichgewicht von NH_3 in und außerhalb der Zelle erreicht.) Endlich zog ich noch den Umstand in Betracht, daß die Eier in Ammoniakseewasser erheblich anschwellen, teilweise durch die Aufnahme von NH_3 ins Zellinnere und die dadurch bedingte Steigerung des osmotischen Druckes, aber jedenfalls noch aus anderen Gründen, und zwar verlängern sich ihre Durchmesser etwa um $\frac{1}{10}$ ihrer Länge. Ich untersuchte die Atmung deshalb in hypotonischem Seewasser: 4 Seewasser + 1 dest. Wasser, in dem die Aufschwellung noch etwas größer war, da ich dachte, daß möglicherweise die Verbrennungen von der Dichte der Stoffe im Zellinnern abhängen könnten. Der Quotient war aber in diesem Falle 2,7 bei normaler Furchung und etwa 5% gesteigerter Atmung, so daß sich dieser Versuch an die oben genannten Furchungsexperimente anreihet.

Ich komme zu den Versuchen in hypertonischem Seewasser. Das hypertonische Seewasser erfordert besonderes Interesse nicht nur wegen der Rolle, die es bei der künstlichen Befruchtung nach J. Loeb spielt, sondern auch wegen der Steigerung

der Atmung der Seeigeleier in demselben. Und zwar läßt sich in genügend starken hypertonischen Lösungen die Atmung der unbefruchteten Eier von *Strongylocentrotus* bis auf das 10fache steigern: Auf 100 ccm Seewasser 4,3 g NaCl und 3,0 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH [Hyperton. Lösung III von Warburg] gibt 9,8 cal. auf 140 mg N statt 0,9 cal.; auf 100 ccm Seewasser 3,5 g NaCl 2,4 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH gibt 7 bis 8 cal. auf 140 mg N; auf 100 ccm Seewasser 2,3 g NaCl 1,6 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH [Warburgs Lösung II] gibt 5,6 cal. auf 140 mg N pro Stunde. Bei befruchteten Eiern von *Strongylocentrotus* fand Warburg eine Atmungssteigerung auf das 3fache, bei *Arbacia* auf das 6fache in Lösung III. Die Bestimmung des „Quotienten“ in hypertonischem Seewasser stieß auf ungewohnte Schwierigkeiten.

Zunächst ergaben eine Reihe von Bestimmungen, bei denen nichts Auffälliges bemerkt wurde, und die $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde nach Einbringen in die hypertonische Lösung begonnen wurden, die schon bekannten Werte: Unbefruchtete Eier: hyp. Lös. 4,3% $Q = 2,6$ bei 9,8 cal. auf 140 mg N, hyp. Lös. 3,5% $Q = 2,85$ bei 7,5 cal. auf 140 mg N und $Q = 2,6$, hyp. Lös. 2,3% $Q = 2,9$ bei 5,6 cal. auf 140 mg N; befruchtete Eier: $Q = 2,85$, ohne N-Bestimmung, bei hyp. Lös. 2,3%.

Zu anderen Zeiten, und dies umfaßt die Mehrzahl der Versuche, traten aber Erscheinungen auf, die eine bestimmte Berechnung des Quotienten unmöglich machten. Die Temperatur stieg nämlich ungleichmäßig, und zwar zunächst längere Zeit nach dem Einbringen der Eier in die hypertonische Lösung überhaupt nicht; die mikroskopischen Kontrollen zeigten, daß dieser ausbleibende Anstieg so lange dauerte wie die Verkrümpelung der Eioberfläche, die sich bei verschiedenem Material in sehr verschiedener Zeit in der hypertonischen Lösung wieder ausgleicht. Dann aber nach einiger Zeit regelmäßigen Steigens blieb nicht nur wiederum einige Zeit ein Temperaturanstieg aus, sondern es sank sogar das Thermometer (über die Versuchsfehlgrenzen), um nach einiger Zeit wieder zu steigen. Da die Sauerstoffbestimmungen in Parallelversuchen gemacht werden mußten, so war eine einheitliche Zeitbeziehung nicht genau möglich, und je nach der Wahl des Zeitabschnitts ergaben sich verschiedene Werte des Quotienten, stets aber erheblich kleinere, falls die ganze Zeit, inkl. dem Temperaturabfall, mitgerechnet

wurde, und zu große, falls nur der Anstieg gerechnet wurde. Es ist noch auffällig, daß bei diesen irregulären Experimenten nur stets wenige Eier Membranen bildeten, während dieses bei den erstgenannten in den Lösungen über 2,3%, fast durchweg der Fall war. Ich habe mir die Vorstellung gebildet, daß in diesen Fällen nur in loser Beziehung zum Atmungsvorgang stehende stark endotherme Prozesse stattfinden, die irgendwie mit der Schädigung der Eier in der hypertotonischen Lösung zusammenhängen und deren Eintritt in zeitlicher Beziehung zu dem Einbringen in diese steht und deshalb alle Eier zugleich trifft. Anders als durch ein zufälliges Überlagern solcher endothermen Vorgänge über den Atmungsvorgang wüßte ich die Gestalt der Kurven nicht zu erklären. Der Atmungsvorgang selbst dürfte aber dabei der gewöhnliche sein, wie aus den „regulären“ Versuchen hervorgeht, wo Q wieder durchschnittlich 2,7 bis 2,8 ist.

Andere Versuchsreihen konnten wegen einer zu großen Zahl fehlgeschlagener Experimente mit Seeigeleiern nicht durchgeführt werden. Insbesondere sollte noch die Wärmetönung bei Gegenwart von Metallsuren gemessen werden, doch gingen dabei drei Experimente verloren. Warburg hat gezeigt, daß die Atmung der unbefruchteten Eier dadurch auf das 6 bis 8fache gesteigert wird. Es ist aber deutlich, daß dies die Steigerung durch die Membranbildung ist, die sich in den Seewasserlösungen mit Metallsuren vollzieht, vermehrt noch um die geringfügige Steigerung, die schon membranbesitzende, befruchtete Eier durch Metallsuren erfahren. Die Wärmetönung ist also voraussichtlich dieselbe wie bei den Eiern mit künstlichen Membranen.

Der „Quotient“ beim Samen wurde wiederholt bestimmt. Bezüglich der absoluten Größen wurde schon die Calorienentwicklung pro Stunde auf 10 Milliarden Spermatozoen angegeben. Entsprechend wurde in verschiedenen Versuchen bei frischen Spermatozoen 1,1 bis 1,6 mg O_2 auf 10 Milliarden gefunden. Dieser Wert ist 3 bis 5 mal so groß als der von O. Warburg für das Sperma von *Arbacia* gefundene. Doch fand ich auch bei diesem in einem Versuch einen den genannten ähnlichen, wiewohl etwas geringeren Wert. Ich vermute daher, daß Warburg nicht ganz frisches Sperma benutzt hat. Außerdem ist die Sauerstofftitration wegen der organischen Substanz hier ungenauer

(Kontrollen s. später). Infolgedessen war auch der Quotient nicht ganz so genau, obgleich die Wärmemessung selbst und die Einteilung genauer gemacht werden können wie bei den Experimenten. Es ergab sich in 6 Versuchen $Q = 3,3; 3,25; 3,35$ bis $3,4; 3,2; 3,05; > 2,95$; der Wert liegt jedenfalls über $3,0$ und dürfte um $3,25$ sein, demnach

$$cQ_r = 3,05 \text{ bis } 3,1.$$

Da sich bei Seeigeleiern nur in einem Fall eine deutliche Variation ergeben hatte, so schien es mir wichtig, noch andere Eier hinsichtlich der Wärmetönung ihrer Oxydationen zu untersuchen und es boten sich dazu die Eier von *Aplysia limacina* als ein vorzügliches Material dar. Der Gaswechsel der Eier von *Aplysia* ist von Buglia studiert worden¹⁾. Während die bei der Entwicklung der Seeigeleier pro Stunde statthabenden Oxydationsgrößen, wenn man sie in ein Koordinatensystem einträgt, in dem die Abszisse die Zeiten, die Ordinate die Calorienbildung in der Zeiteinheit darstellt, eine parabolische Kurve bilden, soweit ich sie verfolgt habe, ist dies bei *Aplysia* ganz anders. Während der ersten Teilungen sinkt die Atmung, dann steigt sie steil an, um zu Beginn des Larvenstadiums wieder annähernd gleichmäßig zu werden. Die Kurve ist s-förmig und senkt sich zu Beginn etwas gegen die Abszissenachse. Dies war schon von Buglia gefunden und ist von mir ebenfalls beobachtet. Die Messung gestaltet sich hier etwas anders und einfacher; u. a. lassen sich dieselben Eiermengen, die in Schläuchen aus Schleimsubstanz ins Meerwasser abgelegt werden, leicht nacheinander zu Wärme- und Sauerstoffmessung benutzen, da die Atmung bei der langsamen Entwicklung der Eier (etwa 5 bis 6 Tage bei 19°C bis zu vorwärts schwimmenden Larven) für längere Zeit konstant ist. Dies ließ sich durch abwechselnde Wärme- und Sauerstoffmessungen leicht kontrollieren. Die absoluten Größen wurden durch Wägung der Schläuche bestimmt, ohne daß darauf ein großer Wert gelegt wurde. Auf 20 g Schläuche ergaben die Eier zur Zeit der ersten Furchungen etwa $2,0 \text{ cal.}$, als Larven vom 1. bis 3. Tage $5,0$ bis $5,7 \text{ cal.}$ Entsprechend der leichten Meßbarkeit der Wärme zeigt auch der berechnete Quotient eine sehr

¹⁾ Archivio di Fisiologia 5, 455, 1908.

gute Übereinstimmung. Bei schwimmenden Larven wurde in 5 Versuchen 3,05 bis 3,2 gefunden, und zwar 3 mal 3,05, 1 mal 3,0 bis 3,05 und 1 mal 3,2.

Nicht ganz so gut stimmen die Werte bei den Eiern während den ersten Furchungen überein, was auf tatsächlichen Schwankungen des calorischen Quotienten beruhen könnte, wie denn auch Buglia in allerdings nicht sehr zuverlässigen Versuchen fortwährende Veränderungen des respiratorischen Quotienten beobachtet hat, was wahrscheinlich sich aber aus der Methode erklärt (s. später). Hier wurde im multi-cellularen Stadium (ca. 16zellig)¹⁾ 3,0, im 8-Zellenstadium 3,1, im 2-Zellenstadium 2,8 gefunden. Letzterer Wert fällt etwas heraus, ist aber auch wahrscheinlich 2,95 bis 3,0. Für alle weiteren Stadien kann 3,0 bis 3,1 als der richtige Wert betrachtet werden. Dies Resultat entsprach meiner Vermutung, daß bei dotterreicheren Eiern (und die Aplysiaeier sind beträchtlich reich an Dotter, so daß bereits die zweite Furchung inäqual ist) der Quotient im allgemeinen sich dem Verbrennungswerte von Fett mehr nähern müßte: $cQ_r = 2,9$.

Bezüglich der Höhe des „Quotienten“ bei Seeigeleiern, der ja im Mittelpunkt dieser Arbeit steht, sind noch einige Versuche und Überlegungen anzuführen, um denselben zu erklären. Wenn wir ihn mit sonst im Tierkörper bekannten Oxydationsprozessen in Verbindung setzen wollen, so ist die Möglichkeit einer Oxydation von Eiweiß, Kohlenhydraten oder Fetten in Betracht zu ziehen, die wenigstens teilweise herangezogen werden muß, um die Höhe des Quotienten verständlich zu machen. Nun enthalten die Eier keine als Kohlenhydrate erkennbaren Substanzen; ich konnte weder Glykogen noch $Cu(OH)_2$ -reduzierende Stoffe darin nachweisen. Auch ist ein sich durch Übergang von Stickstoff ins Meerwasser manifestierender Eiweißabbau nicht nachzuweisen. Wenn auch die Versuche, eine N-Vermehrung im Seewasser colorimetrisch durch Nessler's Reagens nachzuweisen, aus verschiedenen Gründen nicht mit höchster Genauigkeit ausführbar sind, so ist diese Probe empfindlich genug, um mit Sicherheit auszuschließen, daß ein Eiweißabbau von dem Umfang stattfindet,

¹⁾ Zur Morphologie der Aplysiaeier vgl. G. Mazzarelli, *Monografia delle Aplysiidae del Golfo di Napoli*. Obiges Stadium entspricht Tafel X, 11 bis 12.

um die ganze oder auch nur den größten Teil der Wärmebildung erklären zu können. Wir werden also an die Fette gewiesen, die ja auch anderen Eiern als Nahrungstoff dienen. Es enthalten nun tatsächlich die Seeigeleier eine genügende Menge Fett, um für die ersten Tage die aus dem O_2 -Verbrauch oder der Wärmebildung berechneten Oxydationsprozesse zu unterhalten. Ich fand in Gemeinschaft mit Herrn Dr. E. Graf von Schönborn nach der Methode von Kumagawa und Suto¹⁾ in den Strongylocentrotuseiern auf 140 mg N (bei 1,905 g aschenfreier Trockensubstanz) 0,323 g Gesamtätherextrakt und darin 0,282 g verseifbares Fett. Zu einer anderen Zeit gab eine allerdings viel ungenauere Bestimmung einen um $\frac{1}{3}$ kleineren Wert, wie ja wohl auch der Fettgehalt der Eier, der auf den eingelagerten winzigen Dotterkügelchen beruhen wird, sehr schwankend sein muß. Es kommt aber hier nur auf die Größenordnung an. Wenn 1 g Fett 9500 cal. liefert, so 0,282 g 2700 cal. Nun sind 3 Möglichkeiten: entweder nehmen wir an, der ganze Sauerstoff diene zur Oxydation von Fett und die um 25% geringere Wärmetönung entstände durch mit der Atmung gekoppelte stark endotherme Prozesse, die unter bestimmten Umständen (NH_3) an Intensität nachlassen können. Dieses wäre deshalb interessant, weil in diesem Fall der Verbrennungswert der Masseneinheit lebender Substanz während der Furchung stark zunähme, und wir hätten im Gegensatz zu den Versuchen im Hühnerei eine Vermehrung des „chemischen Potentials“ innerhalb der Eier (pro Substanzeinheit) während der Entwicklung. Wir können dies auch so ausdrücken: das Gewicht der Eier müßte stärker abnehmen als ihr Verbrennungswert. Oder wir nehmen an, die Wärmetönung gäbe genau das Maß der Fettverbrennung. Diese wäre also nur $\frac{3}{4}$ so groß wie im vorigen Fall. Der Rest des Sauerstoffs diene aber zu anderen Vorgängen ohne erhebliche Wärmetönung. Oder endlich wir nehmen an, nur ein Teil der Wärmetönung entstände durch Fettverbrennung, der übrige durch andere exotherme Vorgänge, die sich mit ersteren in den Gesamtsauerstoffverbrauch teilen würden. In diesen

¹⁾ Diese Zeitschr. 8, 212, 1908 (vgl. Hoppe-Seyler, 8. Aufl., 909, 770).

beiden letzten Fällen würde der „chemische Energieinhalt“ der Gewichtseinheit lebender Substanz während der Entwicklung nicht zunehmen, im letzteren Falle sogar abnehmen, falls die Produkte der Oxydation nicht ausgeschieden werden. Mit anderen Worten: der Energiegehalt oder Verbrennungswert der Eier nähme ebenso schnell oder sogar noch schneller ab als ihr Gewicht. In allen 3 Fällen wäre natürlich der Fettverbrauch in der Zeiteinheit verschieden stark. Nehmen wir den mittleren Fall als gegeben an und legen zugrunde, daß nach unsern Zahlen in den ersten 24 Stunden im ganzen etwa 290 cal. auf 140 mg N erzeugt werden bei der Annahme, von der 19. bis 24. Stunde stiege die Wärmeentwicklung nur mehr von 17 auf 20 cal. pro Stunde, in den folgenden aber stiege die Atmung nicht mehr; es entstünden also vom 2. Tage an 480 cal. in 24 Std., so würde der Fettvorrat 6 Tage reichen. Nun können die Larven allerdings 3 Wochen ohne Nahrung leben; aber erstens gehen bis dahin weitaus die meisten zugrunde, und dies könnte gerade daran liegen, daß den meisten ihr Dottermaterial ausgeht, oder später sinkt die Atmung, oder es treten andere Prozesse ein. Jedenfalls für die ersten Tage wäre die gegebene Erklärung zulässig. Daß aber, ohne zwischen den drei Möglichkeiten zu entscheiden, der Fettabbau doch ein wesentliches Konstituens des Oxydationsprozesses vorstellt, kann noch durch andere Umstände wahrscheinlich gemacht werden: Erstens hellen die vorher trüben Eier im Larvenstadium auf, und zweitens kann man bei täglicher Färbung mit Sudan zeigen, daß auch die Intensität der Rotfärbung jedenfalls bei den Skelettpluteen nachläßt. Beides sind allerdings nur Wahrscheinlichkeitsbeweise. Um Genaueres hierüber und über den von den drei möglichen Fällen wirklich stattfindenden zu erfahren, müßte man vergleichende Versuche über das Gewicht, den Fettgehalt und den Verbrennungswert (in der Berthelotschen Bombe) der Eier zu verschiedenen Zeiten der Entwicklung machen. Vervollständigt würde dies noch durch die Messung des dazwischen liegenden Sauerstoffverbrauchs. Doch fehlte mir zu diesen Messungen nicht nur ein Teil der notwendigen Apparatur (nämlich die Berthelotsche Bombe), sondern die Mengenverhältnisse sind auch so gering, daß eine derartige Untersuchung bei Seeigeln keine allzu große Hoffnung auf sichere Resultate gestattet.

Methodik.

1. Wärmemessung.

Als Calorimeter dienten Dewarsche Gefäße, die in einen sehr genau regulierten Thermostaten versenkt wurden. Der Thermostat bestand aus einem filzbekleideten Wasserkasten von 70 cm Länge, 50 cm Breite und 40 cm Höhe.

Als Regulator diente ein Ostwaldscher Toluolregulator, der an Stelle des einfachen Toluolreservoirs ein doppelt S-förmig gekrümmtes Rohr hatte; infolgedessen konnte derselbe sehr viel Toluol aufnehmen und war äußerst empfindlich. Den seitlichen Verbindungsschlauch mit Klemmschraube ersetzte ich durch eine Thermometercapillare, wodurch zufällige Veränderungen der Sparflammenheizung ausfallen mußten. Doch war daneben noch der Einfluß der starken Druckveränderung des Gases auf die Sparflammen bei dem in Neapel äußerst variablen Gasdruck auszuscheiden. Zu diesem Zweck wurde vor den Regulator noch ein Gasdruckregulator vorgeschaltet, der aus einem kleinen Gasometer über Wasser bestand und durch sein eigenes Gewicht den Druck regulierte. Der Thermostat wurde mit 4 Gasflammen geheizt, zugleich durch ein langes Bleirohr mit Serinowasser gekühlt, das im allgemeinen eine konstante Temperatur von 13° C hatte. Ein Rührer mit großen Schaufeln wurde durch einen Elektromotor dauernd schnell gedreht. Die Hälfte des Thermostaten war mit einer Glasplatte bedeckt. Durch diese Vorsichtsmaßregeln gelang es, den Thermostaten für viele Stunden auf 0,01 bis 0,02° C konstant zu halten. Nur bei den allerdings nicht seltenen Fällen, wo kurz vor (oder sogar während!) des Versuchs die Wasserleitung versagte, oder auch zu Zeiten, wo infolge hoher Außentemperatur die Zimmertemperatur die Thermostaten temperatur von 19,0° C überschritt, kamen größere Schwankungen vor, die natürlich stets registriert und berücksichtigt wurden. Die Temperaturablesung des Thermostaten geschah durch ein in 0,01° geteiltes Beckmannthermometer, das mit einem in 0,1° geteilten Normalthermometer verglichen war, und bei dem die Einstellung 3,95 genau 19,00° C entsprach. Je nach der Zimmertemperatur und der Größe des Wassereinlaufs in die Kühlröhren war die Temperatur etwas verschieden (zwischen 3,92 und 3,98). Es wurde nur darauf geachtet, sie während der Versuchszeit konstant zu halten.

Das Dewargefäß sollte die im Innern erzeugte Wärme möglichst vollständig festhalten, also, da es einen idealen Wärmeabschluß natürlich nicht gibt, einen möglichst geringen Abkühlungskoeffizienten haben. Dieser ist aber ceteris paribus der Wärmekapazität proportional. Da nicht unbegrenzte Materialmengen zur Verfügung stehen, muß man, um möglichst hohe Ausschläge zu erhalten, sich zu einem Kompromiß entschließen. Das zu sämtlichen hier veröffentlichten Versuchen benutzte Dewargefäß faßte bei Füllung bis zum Rande 260 ccm, wovon 20 bis 22 ccm durch Beckmannthermometer und Gummistopfen ausgefüllt wurden und noch etwas über 235 ccm für Wasserfüllung blieb; im allgemeinen wurden 230 bis 235 ccm eingefüllt, so daß noch ein schmaler

Spalt Luft blieb. Das Gefäß war kuglig und hatte einen möglichst engen Hals (soweit das die einzubringende Apparatur gestattete) von 2,0 cm innerem Durchmesser. Es wurde folgendermaßen benutzt: Das Thermometer wurde mit einem Gummistopfen festgesteckt; dann wurde in einem um den Hals gestülpten, festen, überstehenden Gummikragen ein weites Glasrohr befestigt, das ganz mit Watte ausgefüllt wurde. Bis zum Rande dieses Glasrohres wurde das Gefäß in den Thermostaten versenkt. Der Gummihals saß so fest, daß selbst innerhalb 48 Stunden kein Wasser aus dem Thermostaten eindrang. In dieser einfachsten Anordnung konnte das Gefäß für die Versuche mit Aplysiaeiern und Samen benutzt werden. Schwieriger war das bei Seeigoleiern: diese müssen dauernd in Bewegung gehalten werden, weil sie sonst auf den Boden fallen und zu atmen aufhören. Nach einer Reihe fehlgeschlagener Rührmethoden benutzte ich schließlich die folgende, die für die Eier unschädlich war, das Absetzen verhinderte und selbst keine meßbare Wärme erzeugte: Ein im unteren Teil weiteres, an der Mündung wieder etwas enger werdendes Glasrohr (nach Art einer 2 cm-Pipette mit abgebrochener Auslaufmündung) steckte im Pfropfen und reichte bis etwa 1,5 cm über den Boden in das Gefäß. Oben war ein Gummiball durch ein kurzes Schlauchende befestigt, bei dessen kurzer und wiederholter Kompression die Wassersäule in dem Glasrohr auf und ab tanzte und die Eier durch den Ausflußdruck an der Mündung hochwirbelte. Der Ball selbst wurde in Watte gepackt, das Ganze mit einer weiten Gummihülse versehen und ebenfalls in den Thermostaten gesenkt. Durch diese Anordnung mußte sich natürlich notgedrungen die Wärmeisolation des Gefäßes etwas verschlechtern, aber nur wenig. Endlich war es nötig, noch ein zweites kurzes Glasrohr durch den Gummistopfen zu führen und den mit dem „Pipettenrohr“ kommunizierenden Gummischlauch des Balles mit einem Glas-T-Stück zu versehen. Es mußte nämlich eine Einrichtung da sein, um in Zwischenpausen — während deren aber die Wärmemesung nicht stattfand — Sauerstoff durchzuleiten, um einen möglichst großen Sauerstoffvorrat im Wasser zu besitzen. Der Sauerstoff wurde einer Bombe entnommen, strich durch eine im Thermostaten befindliche Waschflasche mit Seewasser und dann durch eine im Thermostaten liegende Glasschlange (um seewassergesättigt zu werden und auf Thermostaten-temperatur zu kommen) und ging dann durch das T-Stück in das Pipettenrohr, durch dieses in das Seewasser des Dewargefäßes hinein und durch das kurze Glasrohr wieder hinaus. Doch wurde während der Versuchsstunden selbst der Sauerstoffstrom abgestellt, weil er eine unerwünschte Kommunikation mit dem Thermostaten, d. h. der Außenwelt hergestellt hätte und dadurch den Wärmeausgleich gegen den Thermostaten vermehrt hätte. Es ließ sich aber durch vorheriges maximales Einleiten von Sauerstoff und sofortigen Verschuß der Ansatzröhrchen mit Gummischlauch und Glasstiften der O_2 -Gehalt des Meerwassers auf das 4fache gegenüber unter Normalluftdruck erreichbarer O_2 -Sättigung bringen. Dies wurde wiederholt in Kontrollgefäßen durch Titration nach Winkler festgestellt.

Die Anordnung war also die hier gezeichnete.

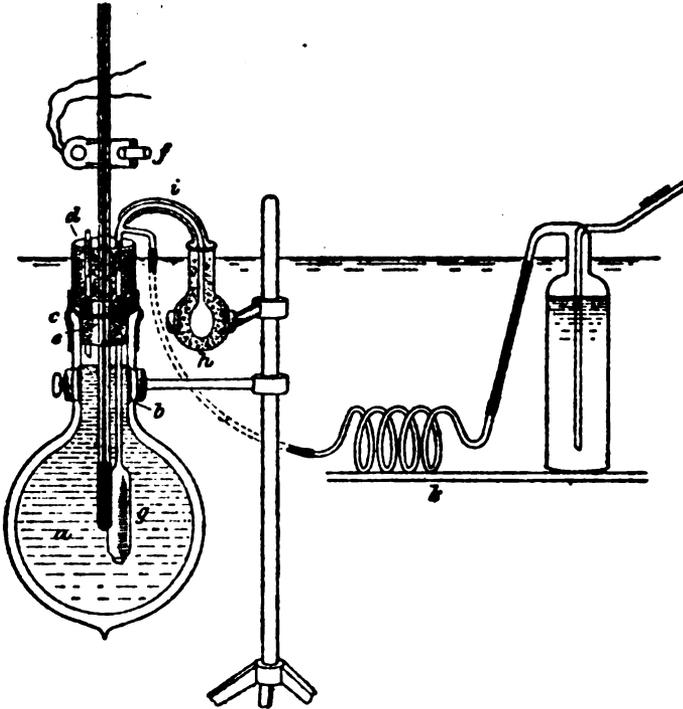


Fig. 1

Das Dewargefäß (a) hängt, bei b an einem Stativ befestigt, im Thermostaten. Bei b ist noch ein dicker Ring aus Tuch zum Schutz gegen die Stativklammer angebracht. Oben bei c ist ein dicker Gummireif herübergezogen, der das weite, mit Watte gefüllte Glasrohr d hält. Bis zu dessen Rand ist alles im Thermostaten. Innen sind durch den Gummipfropf e Beckmannthermometer (versehen mit Ablesevorrichtung f), kurzes Glasrohr und Pipettenrohr g durchgezogen. Mit dem Pipettenrohr ist der Gummiball k verbunden. Derselbe ist im Thermostaten in einer wattegefüllten Gummihülse, die in einer beweglichen Stativklammer steckt. Bei Druck auf diese wird der Ball komprimiert. Die Schlauchverbindung i ist doppelt, zum Schutz gegen die Außentemperatur. Das darüber befindliche T-Stück kann mit der freien Öffnung durch einen Schlauch mit der Wärmeschlange k und der Seewasserwaschflasche verbunden werden, durch die Sauerstoff geleitet wird. Ein kleiner freier Abschnitt zwischen i und g gestattet zu beobachten, ob bei der Kompression des Balles keine Flüssigkeit hochstieg. Dann war das Zusammendrücken zu heftig. Es durfte niemals Flüssigkeit aus dem Dewargefäß in den Schlauch i gelangen.

Die Temperaturbestimmung geschah mit Beckmannschen Thermometern. Eine empfindlichere Temperaturmessung wäre natürlich mit

einem Thermolement bei geeignetem Galvanometer möglich gewesen. Auf diese wurde nach einigen Vorversuchen verzichtet, weil das Galvanometer (Hermann-Wiedemannsches Thermogalvanometer) nicht auf die genügende Empfindlichkeit gebracht werden konnte. Ob diese Messungen aber viel genauer würden, ist zu bezweifeln, da neben der Ballkompression noch wiederholtes Umschwenken des Gefäßes und Pendelbewegungen erforderlich sind, um die Flüssigkeit gut zu mischen und die Temperatur gleichmäßig ansteigen zu lassen. Hierbei wäre eine thermoelektrische Anordnung sehr hinderlich gewesen.

Ein speziell für die Versuche gefertigtes, in $\frac{1}{800}^{\circ}\text{C}$ geteiltes Beckmannthermometer¹⁾, das nur 1°C umfaßte, wurde nur für einen Teil der Versuche benutzt. Abgesehen von einem Mißgeschick, das seine Inanspruchnahme verzögerte — es war auf der Sendung die Ansatzcapillare gebrochen —, hatte es den großen Fehler, zu haken, und erforderte stets heftiges Klopfen, um sich genau einzustellen. Obgleich für dieses wie für das andere Thermometer eine gut axial einstellbare Ablesevorrichtung mit 4facher Lupenvergrößerung und Beleuchtung (von Köhler, Leipzig) benutzt wurde, so blieb doch die Ablesung stets auf $0,0005^{\circ}$ unsicher, als auf $\frac{1}{4}$ Teilstrich. Das Thermometer war durch die Reichsanstalt geprüft, bei 19°C war 1,000 abgelesen = 1,0075. Genau die gleiche Ablesungsgenauigkeit, vielleicht sogar eine etwas höhere, ließ sich durch ein gewöhnliches, besonders präzises Beckmannthermometer mit $0,01^{\circ}$ -Teilung erreichen, von C. Desaga, Heidelberg. Dasselbe war ganz außerordentlich empfindlich, hakte gar nicht und stellte sich von selbst sofort auf jeden Punkt ein; mit der erwähnten Ablesevorrichtung konnte, bei einiger Vorsicht, die Temperatur auf $0,0005^{\circ}$, sicher auf $0,001^{\circ}$ bestimmt werden. Für die einzelne Ablesung konnte noch eine Unsicherheit um $0,001^{\circ}$ ($\pm 0,0005^{\circ}$) angenommen werden. Dasselbe konnte aber durch wiederholte Ablesungen und Benutzung verschiedener Intervalle noch etwas verringert werden. Immerhin wurde auch hier bei der Bestimmung jedes Intervalls mit einer Unsicherheit von $0,001^{\circ}$ gerechnet. Das Thermometer wurde von mir ebenfalls mit einem $\frac{1}{10}^{\circ}$ -Normalthermometer verglichen und dann besonders mit dem Thermostat-Beckmannthermometer. Die für mehrere Grade kaum $0,01^{\circ}$ betragenden Abweichungen wurden nicht berücksichtigt, ebensowenig die voraussichtlich vorhandene Temperaturkorrektur pro Grad von $0,008^{\circ}$ für 19°C (wenn bei 0° : 1° abgelesen = 1,000°), weil Fehler von 1% unter die Beobachtungsgrenze fielen²⁾. Im folgenden sind alle Temperaturablesungen umgerechnet auf: Thermostatthermometer 3,950 = 19,000.

¹⁾ Von Bleekmann & Burger, Berlin.

²⁾ Die Anrechnung des Gesamtergebnisses ist allerdings auf etwa 1% durchgeführt. Dafür wäre es zweckmäßig gewesen, diese sichere Korrektur anzubringen. Alle Calorienangaben müßten demnach um $\frac{1}{4}\%$ vergrößert werden. Da jedoch die spezifische Wärme der Seeigeleier nicht berücksichtigt ist (s. das Folgende), wodurch ein Fehler von gleicher Größenordnung in umgekehrter Richtung entsteht, so ist davon abgesehen.

Es wurde dann zuerst der Abkühlungskoeffizient des Dewargefäßes in der beschriebenen Anordnung bestimmt, indem Wasser, das kälter oder wärmer als der Thermostat war, eingegossen wurde und die Abnahme der bestehenden Temperaturdifferenz pro Stunde bestimmt wurde. Die innerhalb 1 Stunde vollzogene Temperaturveränderung in Prozenten der mittleren Temperaturdifferenz zwischen Dewargefäß und Thermostat war der Abkühlungskoeffizient pro Stunde. In der Anordnung ohne Gummiball betrug derselbe 2,9 bis 3,0% pro Stunde; er wurde wiederholt nachkontrolliert, blieb aber immer derselbe und war innerhalb des untersuchten Intervalls sowohl unabhängig von der absoluten Größe wie von der Richtung der Temperaturdifferenz. Beim Anschluß des Gummiballes änderte sich derselbe nicht merklich, wenn der Ball nie komprimiert wurde. Wurde derselbe indes so häufig komprimiert, wie für die Versuche mit Seeigeleiern erforderlich war, so vermittelte die hin und her gehende Luftsäule zwischen dem Pipettenrohr und dem Gummiball einen Wärmeaustausch durch den Ball, und der Abkühlungskoeffizient betrug 3,4%. Durch häufigeres Komprimieren des Balles wurde derselbe nur ganz unwesentlich geändert. Selbst bei fast ununterbrochenem Spielenlassen der Kompressionsklemme stieg der Abkühlungskoeffizient nur auf 3,5%. Diese Werte mußten als Korrekturen bei allen Messungen angebracht werden. Damit die Korrektur selbst keine Fehler für die Gesamtberechnung geben konnte, mußte natürlich darauf geachtet werden, daß das Gefäßinnere vor Beginn der Versuche so dicht wie möglich an die Thermostattemperatur gebracht wurde, worauf viel Mühe verwandt wurde. In so gut wie allen Fällen betrug die mittlere Abweichung der Gefäßtemperatur vom Thermostaten weniger als 0,1° C, meistens sogar weniger als 0,05° C, die Korrekturen pro Stunde betragen daher so gut wie niemals bei regulären Versuchen mehr als 0,0034° C, und etwaige Ungenauigkeiten der Korrekturenberechnungen fielen jenseits der Fehlergrenzen.

Es mußte sodann der calorimetrische Wasserwert der benutzten Anordnung bestimmt werden. Ein ungefähres Maß desselben erhält man, wenn man schnell eine genau abgemessene Menge wärmeren oder kälteren Wassers, dessen Temperatur genau bekannt ist, in das Gefäß, das selbst schon Wasser von bestimmter Temperatur enthält, hineingießt. Nach der Mischungsregel erhält man jeweils den Wasserwert des Calorimeters. Dies Verfahren ist aber sehr ungenau. Um zu genaueren Resultaten zu gelangen, benutzte ich die elektrische Heizung. Ein auf ein Ebonitröhren gewickelter Widerstandsdraht aus Konstantan von 115,4 Ω wurde durch den Strom von 2 Akkumulatoren geheizt, während er sich in dem mit destilliertem Wasser gefüllten Dewargefäß befand. Die erzeugte Wärme ist bekanntlich $0,239 i^2 w t$ cal., wenn i die Stromstärke in Ampere, w den Heizwiderstand in Ohm, t die Zeit in Sekunden bedeutet. Da ein genaues Amperemeter nicht zur Verfügung stand, so mußte zunächst die elektromotorische Kraft der Akkumulatoren mit einem geprüften Westonelement nach dem Kompensationsverfahren auf der Brücke bestimmt werden (ein Thomsons galvanometer, dessen Vor-

schaltwiderstand allmählich ausgeschaltet wurde, diente als Nullinstrument), dann alle Widerstände im Stromkreis, der der Akkumulatoren, der Drahtleitungen, des Heizdrahtes in der Wheatstoneschen Brücke gegen einen geprüften Siemensreostat gemessen werden. Um die elektromotorische Kraft wiederholt nachmessen zu können, ließen sich die Akkumulatoren vermittelst einer Wippe jederzeit in die Kompensationsanordnung schalten, wie in den Heizdrahtkreis.

Für die Messung wurde das Dewargefäß mit genau 230 ccm Wasser gefüllt, die Ebonitrolle hineingehängt (die Glasröhren mußten aus Platzmangel fortgelassen werden) und dann das Gefäß in der gezeichneten Anordnung, aber ohne Gummiball, in den Thermostaten gehängt.

Bei dem Versuch 1 war EMK der beiden Akkumulatoren 4,01 Volt,

w der Akkumulatoren . . .	0,15 Ω ,
w der Stromkreisdrähte . .	0,15 Ω ,
w der Heizspule	115,4 Ω ,

i war also 0,0346 Amp., $i^2 w$ ($w = 115,4$) = 0,1362; und da während 40 Minuten geheizt wurde, $i^2 w t = 0,239$ cal. = 79,2 cal.

In diesen 40 Minuten stieg das Thermometer von 18,648° auf 18,959°, um

0,311° C bei 19,02° Thermostaten-temperatur (Schwankungen innerhalb der Versuchszeit $\pm 0,00^\circ$). Es ist also eine Thermostatenkorrektur anzubringen von 2‰ (für 40 Minuten, statt 3‰ für die Stunde) der mittleren Temperaturdifferenz von 0,22°, also von $-0,004^\circ$, der korrigierte Temperaturanstieg ist 0,307° C. (Die Korrekturen und Ausschläge sind weit größer als bei den eigentlichen Versuchen.)

Da 79,2 cal. erzeugt sein mußten, beträgt der „Gesamtwasserwert“ 79,2 : 0,307 = 258 ccm Wasser. Davon gehen ab 230 ccm für destilliertes Wasser und 3,5 ccm für die Heizspule. Denn diese bestand aus 7,7 g Ebonit, spez. Wärme 0,339, also = 2,6 ccm Wasser, und 17 g Metall, Isolationsbändern und Lack = 1,0 ccm Wasser geschätzt. Mithin bleibt für das Dewargefäß + Beckmannthermometer ein Wasserwert von 24,5 ccm.

Eine Wiederholung des Versuchs war

Versuch 2. EMK = 4,06. Widerstand der Akkumulatoren und Drähte 0,3 Ω ; Spulenwiderstand 115,4 Ω , fiel innerhalb des Versuchs bis 115,2 Ω , offenbar weil etwas Lack in Lösung ging und dann Wasser in Spuren zersetzt wurde, wodurch eine minimale Leitung im Wasser eintrat; durchschnittlicher Widerstand 115,3 Ω .

$i = 0,03515$ Amp., $i^2 w$ ($w = 115,3$) = 0,1234; da diesmal 1 Stunde geheizt wurde, so wurden $i^2 w t = 0,239 = 122,7$ cal. erzeugt.

In dem Dewargefäß, das wieder mit 230 ccm dest. Wasser beschießt war, stieg die Temperatur in 1 Stunde von 18,806° bis 19,275°, also um 0,469°. Die Thermostaten-temperatur betrug 19,01° (Schwankungen in der Versuchsstunde $\pm 0,00^\circ$) korr. daher + 0,001°, dazu + 0,001° korr. für 5 Minuten, nach Ablauf der Stunde, während deren der letzte Temperaturanstieg noch beobachtet werden mußte (weil die Ebonitrolle nicht

so schnell auf Wassertemperatur kam). Korrigierter Anstieg $0,471^\circ$ pro Stunde. Wasserwert $112,7 : 0,471 = 258$ ccm Wasser; wieder 3,5 zu subtrahieren, also 24,5 Wasserwert von Dewargefäß und Beckmannthermometer. Für die fehlenden Glasröhren mußte noch 1,0 ergänzt werden, doch war in den Versuchen das Beckmannthermometer 2 cm tiefer in das Gefäß gesteckt, was dies ungefähr ausgleichen dürfte.

Trotz der vollständigen Übereinstimmung beider Werte blieb mir ein gewisser Verdacht, daß vielleicht beide etwas zu hoch wären, weil der Lack nicht genügend dicht hielt, infolgedessen Wasserzerersetzung stattfinden konnte und etwas Wärme für die chemische Energie der Zerersetzung verloren ging, so daß die Temperatur nicht genug stieg. Leider konnte ein dritter Versuch nicht mehr vorgenommen werden, weil bei einer anderen Messung, der der spezifischen Wärme des Seewassers, die Heizrolle unbrauchbar wurde. Keinesfalls aber ist der Wert beträchtlich falsch. (Die ganz ungenaue Prüfung mit Wasser nach der Mischungsregel hatte einen ungefähren Wasserwert von 21 ergeben.) Später ist der Wasserwert stets mit 24 gerechnet. Der Einfluß eines Fehlers auf Resultat der Versuche ist jedenfalls nicht mehr als 1% ¹⁾.

Es sollte dann die spezifische Wärme des Seewassers bestimmt werden; doch schlugen alle Versuche fehl, weil ich keinen Lack fand, der für längere Zeit gegen Seewasser vollkommen isolierte. Diese spez. Wärme wurde daher aus den vorliegenden Messungen der spez. Wärme von NaCl Lösungen interpoliert. Bekannt sind²⁾ für 1,6%ige Lösung (18°) 0,978 [Thomsen], für 4,9%ige (19 bis 46°) 0,9449 [Winkelmann], für 10,3%ige (15 bis 49°) 0,892 [Teudt]. Man sieht, daß (bei der in Betracht kommenden Temperatur von 19°) die spez. Wärme der NaCl-Lösungen pro 1% NaCl um 1,1 bis $1,2\%$ abnimmt. Wir können also für Seewasser, das roh als eine 3,5 bis $3,8\%$ ige NaCl-Lösung aufgefaßt werden kann, mit nur geringem Fehler die spez. Wärme 0,96 annehmen. Das ist im folgenden stets geschehen. Damit waren die notwendigen Vor-messungen abgeschlossen. Ich füge noch hinzu, daß die spez. Wärme der Seeigoleier vernachlässigt werden kann. Für die Versuche dienten Mengen, die bei der Veraschung um 140 mg N gaben (zwischen 260 und 80 mg N); auf 140 mg N kommen aber, wie eine Bestimmung ergab, nur 1,9 g aschenfreie Trockensubstanz, deren Volumen jedenfalls kaum 1 ccm beträgt (die Asche ist so gut wie ganz Meerwassersalz). Selbst wenn deren spez. Wärme fast 0 wäre, so wäre der entstandene Fehler noch unter $0,5\%$ des Gesamtergebnisses.

¹⁾ Es war unzumutbar, einen so großen Widerstand zu benutzen und, um einen genügenden Temperaturanstieg zu erhalten, die Klemmenspannung desselben weit über die Zersetzungsspannung des Wassers zu bringen. Leider paßte eine zweite Widerstandsrolle von 15Ω nicht in das Gefäß hinein. Geeigneter jedoch ist ein noch geringerer Widerstand, mit dem man schon bei geringfügiger Klemmenspannung eine ausreichende Temperaturerhöhung erhält.

²⁾ Nach Landolt-Börnstein.

2. Sauerstoffmessung.

Die für die Sauerstoffmessungen benutzte Methode von O. Warburg und die Titration nach Winkler und einige daran angebrachte Modifikationen habe ich schon kürzlich genau beschrieben, so daß ich hier nur darauf verweisen möchte¹⁾. Bei einem großen Teil der Versuche wurden die Versuchsfiaschen in einem anderen Thermostaten auf einer Scheibe langsam durch einen Motor gedreht. Doch war es dann gelegentlich notwendig, Temperaturkorrekturen vorzunehmen, weil die Temperatur dieses zweiten Thermostaten um ein^o/₁₀ Zehntel Grad C von dem andern abweichen konnte (er ließ sich nicht so sorgfältig regulieren). Für 0,1^o mußte aber 1^o/₁₀ der Atmungsgröße eingesetzt werden. Wegen der dadurch entstehenden Ungenauigkeit und vor allem, weil einige Male Versuche durch unbemerktes Stehenbleiben des Drehrads verderben, brachte ich später eine Drehscheibe in dem für die Wärmeversuche dienenden Thermostaten an, die mit der Hand alle 2 Minuten etwa gedreht wurde. Das war deshalb nicht so unbequem, weil die zugleich stattfindenden Wärmeversuche doch eine dauernde Wartung und Gegenwart des Experimentators verlangten.

Die für die Winklertitration dienende Natriumthiosulfatlösung (ca. $\frac{1}{100}$ N) mußte fast täglich während der Versuche auf ihren Titer kontrolliert werden, um eine genaue Berechnung des Sauerstoffs zu ermöglichen. Dies geschah mit $\frac{2}{10}$ -Kaliumbichromatlösung²⁾. Nur sehr alte Lösung, die nur am Anfang zur Verfügung stand, ändert ihren Titer nicht mehr. Während der Versuchsmonate mußte mehrmals neue Lösung hergestellt werden.

Es wurden verschiedene Versuchs- und Bestimmungsflaschen verwendet, deren Volum gelegentlich bei den Versuchen angegeben ist.

3. Materialbehandlung.

Besondere, mit den Versuchsobjekten vorgenommene Behandlungen sind bei den Versuchen angegeben. Die Seeigeleier wurden nach der üblichen, zuerst von Lyon³⁾ angegebenen Methode gewonnen; die Ovarien durch ein Tuch geseit. Die hindurchgegangenen Eier wiederholt mit filtriertem Seewasser gewaschen, bis sie ganz klar waren (etwa 4 bis 5mal). Um möglichst große Ausschläge zu erhalten, mußte sehr viel Material gebraucht werden; dasselbe war nicht gleichmäßig gut. Manchmal mußten 150 bis 200 Seeigel aufgeschnitten werden, um genügend Eifer für einen Versuch zu erhalten; das konnte 2 bis 3 Stunden in Anspruch nehmen. Meistens genügten 50 bis 60; manchmal waren die Weibchen so voll und so wenig Männchen dazwischen, daß schon mit 10 bis 20 Seeigeln genügend Material für einen großen Versuch vorlag. Doch war das eine seltene Ausnahme. Im ganzen wurden während der

¹⁾ Diese Zeitschr. 33, 291, 1911.

²⁾ Vgl. Treadwell 2, 499, 4. Aufl.

³⁾ Americ. Journ. of Physiol. 9, 308, 1903.

Arbeit etwa 5000 Seeigel geöffnet, da aber durchschnittlich die Hälfte dem andern, nicht gerade gewünschten Geschlecht angehört, und da ferner viele leer sind, vielleicht nur 1500 bis 2000 wirklich für die Versuche benutzt.

Annähernd ebenfalls 5000 Stück mögen ungenützt in den Aquariumsbassins zugrunde gegangen sein, weil sich die Seeigel nur in der Regel 4 bis 8 Tage in den Bassins frisch halten und dann zugrunde gehen. An den *Strongylocentrotus* sieht man das an dem Einklappen und Abfallen der Stacheln. An den *Arbacia* und *Sphærechinus* aber nicht. Aus diesem Grunde benutzte ich nur *Strongylocentrotus*, weil bei diesem dem äußern Habitus der Zustand der Eier ziemlich genau parallel geht, während man scheinbar intakte *Arbacia* findet, deren Eier sich überhaupt nicht mehr befruchten lassen. In den großen unterirdischen Bassins konnte ich *Strongylocentrotus* gelegentlich 2 bis 3 Wochen frisch halten. Es durften nur frische Tiere benutzt werden; eine große Zahl von Versuchen ist durch schlechtes Material verunglückt. Andererseits sieht man, welch enormer Tierkonsum für die Arbeiten erforderlich war.

Bei Experimenten mit befruchteten Eiern wurden die gewaschenen Eier in mehreren großen Schalen verteilt und durch Samenzusatz befruchtet. Das Resultat der Befruchtung ist ein Gradmesser der Gesundheit der Eier. Bei sehr frischem Material werden sogleich 100% befruchtet, wenn nur eben genügend Samen zugesetzt ist, auch wenn die Eier in mehreren Schichten am Boden übereinander liegen. Je schlechter das Material ist, um so mehr Samen muß man nehmen, um so länger warten, um so besser die Eier sich ausbreiten lassen, um noch alle oder fast alle zur Befruchtung zu bekommen. Schließlich reicht auch das nicht aus, und je schlechter die Eier sind, ein um so größerer Prozentsatz wird nicht befruchtet. Für die meisten Versuche kam es nicht auf die höchste Frische an, weil es sich um Vergleich zwischen Sauerstoff und Wärme handelte, wo die etwaige Defektuosität sich für beides gleich geltend machte. Nach Möglichkeit wurde aber auch hier nur ganz gutes Material benutzt. Wenn es sich um einen Wärmesauerstoffversuch handelte, so wurden die Eier nach erneuter Waschung in einen Meßzylinder gefüllt, und dann die darin befindliche Flüssigkeit, nach wiederholtem Umschwenken und Vermischen, schnell durch Abgießen eines bestimmten Teils in einen kleineren Meßzylinder, von da in die Sauerstoffversuchsflasche eingeteilt. Meist wurde 1:4, öfter 1:2, 1:3, 1:5, 1:6 je nach Umständen geteilt. Die Teilung 1:4 entsprach am besten der Genauigkeit und Empfindlichkeit der beiden Messungen. Die Hauptmenge (4) blieb im Meßzylinder, der in den Thermostaten gehängt wurde, während die Eier sich absetzten: dies geschah in $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden. Dann wurde das überstehende Seewasser abgehebert und der am Boden befindliche Eierbrei, der in der Regel mit Seewasser 25 bis 50 ccm einnahm, in das Dewargefäß eingegossen und alles gut nachgespült. Inzwischen waren die andern Versuchsvorbereitungen getroffen: die Dewargefäße waren mit Versuchsflüssigkeit, im einfachsten Fall Seewasser, soweit gefüllt, daß sie beim

Zusatz der genau vorher zu ermittelnden Eierschwammmenge gerade richtig gefüllt waren. Die darin befindliche Flüssigkeit hatte eine Temperatur, von der durch Erfahrung feststand, daß sie beim Zusatz einer bestimmten Menge Seewasser, das aus dem Thermostat bei einer gemessenen Zimmertemperatur eingegossen wurde, gerade die gewünschte Thermostatentemperatur oder eine ganz nahe gelegene annahm. Gelegentlich mußte durch Zutropfen etwas wärmeren oder etwas kälteren Wassers die Temperatur noch etwas verändert werden. Außerdem war die Flüssigkeit im Dewargefäß durch mehrstündiges Durchleiten von Sauerstoff maximal (unter Sauerstoffdruck von 1 Atm.) damit gesättigt. Damit sich diese Sättigung auch auf das zuletzt eingefüllte Seewasser erstreckte, wurde nach Einfüllen der Eier noch etwa 10 Minuten mit dem Sauerstoffdurchleiten fortgefahren, bis eine Messung angefangen werden konnte. Zur selben Zeit war auch bei der Sauerstoffversuchsfiasche das über den Eiern stehende Seewasser so weit wie möglich abgehoben, dann ev. die Eiermenge noch mit dem Versuchswasser gewaschen; schließlich wurde auch hier das vorbereitete, bei Thermostatentemperatur luftgesättigte Versuchswasser aufgegossen, nachdem vorher noch Luft durch die Eierschicht geblasen war, wie in der zitierten Arbeit¹⁾ näher angegeben und erörtert ist. Da Wärme- und Sauerstoffversuch miteinander verglichen werden sollten, so mußten die Verhältnisse in beiden ganz gleich liegen: erstens mußten bei Versuchen in verändertem Medium beide Lösungen ganz genau gleich sein. Da verschiedene Seewassermengen mit den Eiern eingefüllt wurden, so mußte das genau in Rechnung gesetzt werden. Meistens wurde so verfahren, daß vor den Versuchen im Meßzylinder genau bestimmt wurde, wieviel Seewasser noch hinzukam; und dann wurde aus einer mehrfach stärkeren Lösung als die Versuchslösung noch so viel zu der Flüssigkeit im Dewargefäß hinzugegossen als nötig war, damit beim Hinzugießen der Eierschwammmenge die Konzentration aller Stoffe im Dewargefäß ebenso war, wie in der Sauerstoffversuchsfiasche. Die Eier konnten ohne Fehler als Seewasser gerechnet werden. Natürlich waren diese zeitraubenden Umrechnungen und die Herstellung solcher Lösungen schon vorher ausgeführt. Während der Versuche mußte es möglichst schnell gehen. Immer konnte nicht so verfahren werden; gelegentlich mußte schon die Stammlösung im Dewargefäß anders sein, als für die Sauerstoffversuche. Dann wurde ein vorher genau ausgerechnetes Quantum Eierschwammmenge zugefügt. Zweitens kam es darauf an, daß bei Versuchen, bei denen die Atmung sich mit der Zeit verändert, der Zustand der Eier zu Beginn der Versuche in beiden Fällen gleich ist. Die meisten Milieueränderungen schädigen die Eier etwas. Damit ein etwaiges Abfallen der Atmung beiderseits gleich ausfällt, mußten die Eier in beiden Versuchen genau gleiche Zeit in der Versuchsflüssigkeit bis zu Beginn der Versuche verbraucht haben und dann auch darin verbleiben. Andererseits steigt die Atmung während der Entwicklung. Da es nicht möglich war, beide

¹⁾ Diese Zeitschr. 33, 294, 1911.

Versuche genau gleichzeitig zu beginnen, so wurde der Wärmeversuch stets später angefangen, weil die Atmung beim Absetzen der Eier im Zylinder sehr bald sistiert, und die Zeit währenddessen nicht gerechnet wird, weil die Entwicklung stillsteht. Der einzige Unterschied in beiden Fällen war der verschiedene Sauerstoffgehalt. Henze hat die Unabhängigkeit der Atmung der Strongylocentrotuseier von dem Sauerstoffdruck direkt nachgewiesen¹⁾. Die stärkere CO₂-Vermehrung in der Wärmeflasche gegenüber dem nur 1/4 der Eier haltigen Sauerstoffgefäß ist jedenfalls ohne Einfluß auf die Atmung, indem selbst bei mehrstündigen Versuchen und bei fast erschöpftem O₂-Vorrat nie eine auf CO₂-Anhäufung zurückführbare Verminderung der Atmung eintrat. Bei den bloßen Wärmeversuchen wurde etwas Na₂CO₃ zugesetzt, um alle CO₂ zu binden. Bei den gemischten Versuchen mußte das unterbleiben, weil dadurch die Alkalität und vielleicht damit auch in geringfügiger, aber feststellbarer Weise die Atmung beeinflusst werden konnte. — Bei allen reinen Wärmeversuchen, wie bei der größten Zahl der kombinierten Versuche wurden die Eier am Schluß nach Kjeldahl verascht. Mehrmals wurden Doppelbestimmungen vorgenommen, meist dienten die eingeteilten Mengen des Sauerstoffs- und Wärmeversuchs zur gegenseitigen Kontrolle. Die Einteilung war genau: Fehler wohl in der Regel nur bis 1%, jedenfalls nicht über 2%. Nachher aber traten verschiedentlich Verluste ein: beim Aufsetzen des Stopfen vor dem O₂-Versuch und nachher, nach Einfüllung des die Eier vergiftenden CNK, dann noch beim nachherigen Waschen (um das CNK vor der Veraschung zu entfernen). Diese Verluste waren größer als bei dem Wärmeversuch, wo die Eier so gut wie quantitativ gesammelt und verascht werden konnten. Deshalb sind die N-Mengen der Veraschung des Sauerstoffversuchs fast stets geringer als berechnet. Ungenauere Veraschungszahlen sind mit einem Stern versehen, und ebenso ungenauere Quotienten.

4. Versuchsgenauigkeit.

Vor Mitteilung der einzelnen Versuche ist es vielleicht nötig, noch einige Angaben über die Genauigkeit zu machen. Wenn man sie aus den Resultaten entnimmt, ist diese wohl angesichts der schwierigen Verhältnisse als recht groß anzusehen. Die maximalen Abweichungen zwischen den Versuchen einer Serie, bei der aus anderen Gründen keine Schwankungen des Wertes anzunehmen sind, betragen 12% bei den als fehlerfrei zu betrachtenden Versuchen. Die meisten zusammengehörigen Versuche liegen noch dichter beieinander (6 bis 10%). Demnach ist der maximale Fehler der einzelnen Versuche nur 3 bis 6%. Er wäre aber erheblich größer, wenn man ihn aus der Methode berechnen will. Die größte Fehlerbreite hat dabei die Wärmemessung. Das liegt teils an den Ungenauigkeiten der Temperaturablesung im Vergleich zu den maximalen Ausschlägen, teils an tiefer gelegenen Gründen, dem nicht-

¹⁾ Diese Zeitschr. 26, 269, 1910.

indifferenten, gelegentlich schädigenden oder hemmenden Einfluß der Behandlung auf die Eier. Die Größe der maximalen Ausschläge einer zusammengehörigen Messung ist durch den Sauerstoffvorrat des Gefäßes bestimmt. Seewasser von 19° ist unter Luft etwa bei 0,7 mg O₂ auf 100 ccm maximal mit Sauerstoff gesättigt; in 230 ccm Seewasser befinden sich dann etwa 1,6 mg. Da es gelingt, wie mehrfach durch Titration festgestellt wurde, den Sauerstoffgehalt unter Sauerstoffatmosphäre durch langes Durchleiten desselben zu vervierfachen, so ist jetzt in der Flasche maximal 6,4 mg O₂. Bei einer Wärmeerzeugung von 2,7 cal. pro Milligramm O₂ sind dann 17,2 cal. zu erhalten, und da der Wasserwert der Anordnung im ganzen 240 bis 250 beträgt, ungefähr 0,070° Temperaturanstieg. Indes konnte so weit natürlich nicht gegangen werden, erstens weil die Atmung schon vor gänzlichem Verschwinden des Sauerstoffs versagt, zweitens weil niemals sicher war, daß dieser höchste Grad der Sättigung erreicht war und nicht während des Versuchs noch abnahm, schließlich aber weil die gleich zu besprechenden Fehler des Absitzens der Eier um so stärker wurden, je geringer der O₂-Gehalt.

Aus Vorversuchen ergab sich, daß man für die ganze Versuchsdauer nur mit einer 3fachen Sättigung rechnen konnte, was einer maximalen Temperatursteigerung von 0,054° entsprach, und daß wegen der andern erwähnten Gründe niemals über 0,050°, am besten nicht über 0,045° Anstieg abgewartet wurde, ehe neuer Sauerstoff eingeleitet wurde. Da aber einerseits im allgemeinen die Fehler kleiner waren, je größer der O₂-Gehalt, andererseits auch nicht unbeschränkte Eiermengen zur Verfügung standen, so wurde meistens nur ein Temperaturanstieg von 0,015° bis 0,035° für die Rechnungen benutzt, gelegentlich noch geringere oder größere von 0,010° an und bis 0,055°. Häufig mußte auch aus äußeren Gründen, noch lange ehe der Sauerstoffvorrat erschöpft war, der Versuch zeitweilig unterbrochen und währenddessen Sauerstoff eingeleitet werden, so daß dadurch die einzelnen Ablesungsgrößen verkleinert wurden. (Man sieht übrigens leicht, daß der maximale Temperaturanstieg und die daraus resultierende relative Genauigkeit der Ablesung von der Größe der Gefäße ganz unabhängig ist, indem die Relation O₂-Vorrat: maximaler Temperaturanstieg eine Konstante ist. Denn um so größer der O₂-Vorrat großer Gefäße durch die größere Menge Seewassers, um so größer auch seine Wärmekapazität, um so geringer daher der Temperaturanstieg pro cal.)

Die Temperaturablesung geschah so, daß zunächst durch gehöriges Umschwenken außerhalb des Thermostaten die Temperatur im Innern als homogen zu betrachten ist (Fadenverschiebungen durch veränderte Lage und Bewegung des Thermometers dürfen nicht zu Irrtümern Anlaß geben), dann wird das Gefäß in den Thermostaten gehängt, die Temperatur für einen genauen Zeitpunkt und dann noch während mehreren Minuten dauernd kontrolliert, indem das Gefäß zugleich pendelförmig bewegt, der Thermometer etwas erschüttert wird und außerdem die Eier durch wiederholtes Zusammendrücken des Gummiballs in Bewegung ge-

halten werden. Alle Ablesungen werden notiert. In der Regel ist sofort die Einstellung auf $0,001^{\circ}$ genau und der Anstieg dementsprechend; sonst wird das gleiche wiederholt und der Beginn des Versuchs verschoben. Bei jeder als Berechnungspunkt benutzten Ablesung wird genau so verfahren, d. h. stets nach Ablauf 1 Stunde, und meist dann 10 bis 20 Minuten später, da letztere Ablesung zur Kontrolle der Stundenablesung nötig war. Späterhin wurde innerhalb der Stunde 1mal, gelegentlich 2mal ebenso verfahren, d. h. das Gefäß aus dem Thermostaten genommen und eine ganz kurze Zeit ordentlich umgeschwenkt. Dies geschah, um schon während des Anstiegs eine gute Kontrolle zu haben. Im übrigen wurde alle 2 bis 3 Minuten der Ball mehrfach komprimiert, das Gefäß pendelartig bewegt und die Temperatur notiert. Dies genügte in der Regel, um einen gleichmäßigen, mit den Endpunkten zusammentreffenden Temperaturanstieg zu erhalten. Doch trifft dies nicht für alle Fälle und ganz exakt zu; häufig entsprachen die Zwischentemperaturen nicht vollständig genau den zu berechnenden mittleren Gefäßtemperaturen in den betreffenden Zeiten. Daher ist auch ein sehr genaues Urteil über die Kontinuität des Anstiegs nicht möglich. Im übrigen würde aber eine etwaige Periodizität schon deshalb kaum bemerkt werden können, weil doch seit der Befruchtung (die auch nicht momentan erfolgt) bei dem Waschen, Absetzen der Eier usw. so viele „Phasenverschiebungen“ derselben gegeneinander eingetreten sind, daß etwaige Wellenkurven dadurch verwischt werden würden. Durch die verschiedenen gegenseitigen Kontrollen wird die Ablesung des Gesamtanstiegs viel genauer, als wie man sie aus der Addition der einzelnen Ablesungsfehler bestimmt. Man kann wohl annehmen, daß jeder berechnete Anstieg höchstens um $\pm 0,001^{\circ}$ unsicher ist, daß er also im Durchschnitt um 3 bis 5% größten Fehler hat. Die mögliche Ungenauigkeit der Thermostatenkorrektur dagegen erreicht niemals $0,0005^{\circ}$ und ist daher höchstens 1 bis 2% maximal fehlerhaft. Hiermit wären die Fehler des Wärmeversuchs erschöpft — außer daß noch eine Unsicherheit von 1% für die absoluten und etwa ebenfalls 1% für die relativen zu vergleichenden Wasserwerte bleibt —, wenn nicht in einer ganz unberechenbaren Weise die Schädigung und das Zurückbleiben von Eiern durch die Versuchsmethode hervorgerufen werden könnte, was auch wiederholt der Fall wurde: hier gilt erstens, daß ebenso wie bei der Befruchtung sich die besondere Frische der Eier dadurch markiert, daß für ihre normale Furchung eine abnorme Bewegung, wie das häufige Hochwirbeln, Aufeinanderfallen der Eier und die momentane schlechte Sauerstoffversorgung ohne erkennbaren Einfluß ist. In allen anderen Fällen spielt dies aber eine gewisse Rolle, und es treten Unregelmäßigkeiten bei den Furchungen auf, bzw. bei sich nicht furchenden Eiern sieht man dadurch bedingte Cytolysen. Galt dies von einer größeren Zahl von Eieren, etwa mehr als von 5 bis 10%, und wurde dasselbe nicht auch bei den Eiern des Atmungsversuchs bemerkt, so mußten solche Versuche aufgegeben werden. Insbesondere ist zu bemerken, daß eine äußerst dichte Aufschwemmung normal wenig atmender Eier mehr

n ihrer Entwicklung zurückbleibt, bzw. mehr geschädigt wird, als eine dünnere, normal stark O_2 verbrauchender Eier — auch wenn der absolute Konsum im zweiten Fall stärker ist. Dies liegt wohl daran, daß die häufige gegenseitige Berührung die Eier schädigt. Einige Versuche mußten aufgegeben werden, nicht weil zu wenig, sondern weil zu viel Material genommen wurde. Über die Größe hierdurch möglicher Fehler sind keine Angaben zu machen. Durch Erfahrung wird man ihrer allmählich Herr. Es folgt aber daraus, daß im allgemeinen bei den Wärmexperimenten die größeren Werte die richtigeren sein werden, weil diese unbestimmten Fehler offenbar zur Verkleinerung des Betrags dienen.

Ferner kommen für die Fehlerberechnung in Betracht: der Sauerstoffversuch und das Verhältnis beider Versuche zueinander. Bei dem Sauerstoffversuch ist zu berücksichtigen der Ablesungsfehler bei der Titration, der bei 4 Titrationen bis 0,2 betragen könnte. Wirklich dürfte er nicht mehr als 0,1 betragen, was bei durchschnittlicher Abnahme von 5,0 ccm Natriumthiosulfat = 2% ist. Dazu kommt eine Ungenauigkeit von 1% bezüglich des Titors der Thiosulfatlösung, weil bei der Titration mit Kaliumbichromat immer Differenzen von gegen 0,2 bei 20 ccm erhalten werden.

Auf die Fehler des Verfahrens bin ich in der vorhergehenden Mitteilung näher eingegangen. Wird das vor dem Aufgießen des Bestimmungswassers zurückbleibende Restwasser bei Lufttemperatur mit Luft gesättigt und rechnet man diese Menge als „Bestimmungswasser“ mit, so kommt ein kleiner Fehler herein. Rechnen wir, daß 20 ccm Restwasser zurückbleibt, bei 300 ccm Gesamtfüssigkeit (meistens wird es allerdings durch Sorgfalt gelingen, noch etwas mehr vorher abzunehmen), und daß das Restwasser bei 15°, das übrige bei 19° luftgesättigt ist, so ergibt sich folgendes:

100 ccm dest. Wasser nehmen nach Winkler bei Sättigung mit Luft bei 15° 0,704, bei 19° 0,648 ccm O_2 auf¹⁾. Seewasser erheblich weniger, doch gilt das Temperaturverhältnis jedenfalls annähernd ebenso hier. In 20 ccm Seewasser von 15° wäre dann 8% mehr O_2 enthalten, als in den übrigen 300 ccm, oder der O_2 -Gehalt dieser letzteren wäre um 0,6% zu hoch bestimmt. Macht nun der O_2 -Verbrauch, wie es durchschnittlich der Fall ist, $\frac{1}{4}$ des Gesamtsauerstoffgehalts aus, so ist der Fehler = 2,4%. Im allgemeinen ist aber sicherlich der Sättigungsunterschied kleiner, schon weil die Zimmertemperatur höher ist. Dieser Fehler hätte ganz vermieden werden können, wenn auch das Restwasser bei Thermostatentemperatur gesättigt worden wäre, was verabsäumt wurde. Jedenfalls dürfte ein daraus entsprungener Fehler meist nur 1%, kaum je über 2% betragen haben. (Er wäre viel größer ohne Sättigung des Restwassers mit Luft.) Ein anderer Fehler von etwa 1% maximal entsteht durch die Vergiftung mit 2 ccm CNK. Dadurch wird ebensoviel Versuchsfüssigkeit aus der Flasche gedrängt, und hieraus entsteht eine

¹⁾ Landolt-Börnstein, S. 605.

um das Verhältnis des verdrängten zur Gesamtfüssigkeit (also um etwa $\frac{2}{3}\%$) fehlerhafte Verkleinerung des Atmungsauschlages, wenn man annimmt, daß die CNK-Lösung ebensoviel O_2 enthält, wie das Ausgangswasser; das trifft nun zwar gewiß nicht genau zu; man ersieht aber daraus die Größenordnung des Fehlers.

Endlich gibt das Verhältnis beider Versuche Anlaß zu Fehlern. Die Verteilung der Eiermengen ist wohl mit einem Fehler von nur etwa 1% behaftet, der maximal 2% betragen dürfte. Eine Unsicherheit von 1% besteht ferner bei den Versuchen in 2 verschiedenen Thermostaten, weil hier Ungenauigkeiten in der Vergleichung der Temperaturen möglich sind; eine noch etwas größere aber hinsichtlich der Zeitvergleichung. Denn schon bei den Wärmeversuchen allein ist es schwer zu sagen, ob die Ablesung auf $\frac{1}{2}$ Minute genau dem Temperaturzustand entspricht; das macht ungefähr 1% bei einem einstündigen Versuch. Etwas genauer ist die Zeit bei dem Sauerstoffversuch zu bestimmen. Zusammen ist dies aber $+1\%$ Unsicherheit. Endlich lassen sich über die Identität des Milieus und die genaue Gleichheit des Eierzustands in beiden wieder keine zahlenmäßigen Angaben machen. Hier ist es wieder wie bei den Schädigungen im Wärmeversuch, daß es von großer Sorgfalt und einiger Erfahrung abhängt, diese Identität soweit wie möglich zu bringen. Da bei regulärer Entwicklung die Atmung etwa um 12 bis 15% pro Stunde zunimmt und ähnliche Veränderungen nach oben oder unten auch sonst vorkommen können, ist eine Phasenverschiebung von 5 Minuten schon bis 1% Fehler. Allgemein wird der Fehler aber wohl nicht mehr als 1 bis 2% betragen können, wenn man vorsichtig zu Werke geht. Addieren wir die genannten Größen, die selbst Maximalzahlen für durchschnittliche Verhältnisse vorstellen (in extremen Fällen würden sie also noch sehr beträchtlicher ausfallen), so kommen auf die Wärmemessung 6 bis 9% , auf die Sauerstoffmessung 5 bis 6% , auf die Vergleichung beider 2 bis 6% Fehler; zusammen ergibt das 15 bis 20% , was für jeden Versuch eine Fehlerbreite von 30 bis 40% verursachen würde, während faktisch nur die 6 bis 12% betragenden Abweichungen innerhalb einer Gruppe auf die Versuchungenauigkeit gesetzt werden können. Es ist nun ja auch äußerst unwahrscheinlich, daß sich alle Fehler einseitig addieren sollten. Die Fehler der Wärmemessung stehen offenbar ganz im Vordergrund, die anderen treten nur gelegentlich in Erscheinung (Titrationsfehler bei der Samenatmung).

Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. II.

Von

Otto Meyerhof.

(Aus der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 9. Juli 1911.)

Mit 10 Figuren im Text.

Versuche an Eiern und Larven von *Strongylocentrotus lividus*.

Das folgende enthält, in sachlich-zusammengehörige Gruppen geteilt, Auszüge aus den wichtigeren Versuchsprotokollen.

Reine Wärmemessungen an Eiern von *Strongylocentrotus lividus*.

a) Befruchtete Eier.

3. Eier befruchtet 12⁵⁰ nachm., gewaschen, bis 2²⁰ in mehreren Schalen ausgebreitet stehen gelassen, 2³⁰ zur Zeit der beginnenden 2-Teilung in den Standzylinder umgegossen, diesen in den Thermostaten gehängt und die Eier darin absitzen gelassen. 3¹⁵ ins Dewargefäß eingefüllt; Sauerstoff eingeleitet. Versuch 3²⁵ begonnen. Kontrollen 2 geteilt, einzelne wenige beginnende 4-Teilung (dies entspricht dem Zustand 2 St. nach der Befruchtung bei 19°).

Thermostatentemperatur: 19,00°, von 4¹⁵ an 18,995° (also — 0,005° schwankend).

Gefäßtemperatur 3²⁵: 18,919°

4²⁵: 18,951° (steigt regulär weiter)

0,032° Anstieg.

0,06° durchschnittlicher Abstand vom Thermostaten, daher — 0,002° korr. gibt 0,030° korrigierten Anstieg. Um die dauernden Ablesungen der Zwischenzeit, die in allen Versuchen aufgenommen wurden, aber in folgenden meistens nicht weiter erwähnt sind, anschaulich zu machen, sind für diesen Versuch die Beobachtungen in Millimeterpapier eingetragen, auf der Abszisse die Zeiten in Minuten, auf der Ordinate die

Temperaturen in 0,001°¹⁾. Wie erwähnt, sind die Zwischentemperaturen meist nicht auf 0,001° genau, aber angenähert. Am Schluß des Versuchs sind die Eier 4 bis 8 geteilt; ganz wenige sind zurückgeblieben oder irregulär.

Im Gefäß befandensich 227 ccm Seewasser, Wasserwert entsprechend 218 ccm destillierten Wassers (da der calorimetrische Wasserwert von Seewasser zu 0,98 gerechnet ist), dazu 24 ccm Wasserwert von Gefäß und Thermometer: 242 ccm Wasserwert. Bei 0,030° Anstieg sind also 7,25 cal. in 1 St. gebildet.

Die Veraschung nach Kj. ergibt einen N-Gehalt entsprechend 135,5 %/10 NH₃ = 190 mg N. Auf 140 mg N sind also 5,35 cal. gebildet, und zwar im 2. bis 4. Zellenstadium, oder in der 3. St. nach der Befruchtung.

4. Eier befruchtet 1¹⁵ nachm. 2⁴⁰ nach vorherigem Stehenlassen in Schalen und ca. 3 maligem Waschen im Thermostaten absetzen lassen. 3³⁵ Eier im Dewargefäß, Sauerstoff durchgeleitet. Kontrollen: 2 geteilt (Zustand 2 St. nach Befruchtung).

Beginn 3⁴⁹: 18,939° Der Thermostat schwankte zwischen 19,01
4⁴⁹: 18,955° und 19,02°, 4⁴⁵ bis 19,00° gefallen.

0,016°

Therm. korr. — 0,002°

0,014° Anstieg. Versuchszellen sind 4 bis 8 geteilt.

Von 4⁴⁵ bis 5⁴² Sauerstoff durchgeleitet.

Beginn 5⁴⁵: 18,981° Thermostat: 18,995 bis 19,005°.

6⁴⁶: 19,001°

0,020°

Korr. v. Zeit u. Th. — 0,0005°

0,0195° Anstieg in 60 Min. Versuchseier am Schluß
16zellig; einzelne 8zellig und irregulär.

Inhalt des Gefäßes 230 ccm Seewasser = 221 Wasserwert

+ 24

245 Gesamtwasserwert.

1. St. = 3. St. seit der Befruchtung: 3,43 cal.

2. „ = 5. „ „ „ „ : 4,78 „

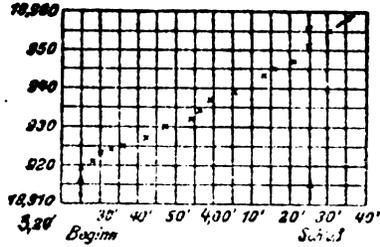


Fig. 2.

¹⁾ Bei der Umzeichnung für den Druck mußten die Kurven verkleinert werden, auch sind nur je 0,005° und 5 Min. durch die Karos dargestellt; ebenso bei allen folgenden Abbildungen. Doch gelingt es leicht, auch die genaue Zeit und Temperatur (pro Min. und 0,001°) daraus zu ersehen.

Kj.: $61,3 \frac{2}{10} \cdot \text{NH}_3 = 85,8 \text{ N.}$

140 mg N geben in 3. St. nach Befr. (2 bis 4 Zellen) 5,6 cal.

140 „ „ „ „ 5. „ „ „ (8 „ 16 „) 7,8 „

5. Eier befruchtet 12^{30} , gewaschen, ausgebreitet bis 1^{07} . 2^{30} im Dewargefäß. Sauerstoff eingeleitet bis 3^{42} . Kontrollen: 2 geteilt oder in 2-Teilung. Zustand: annähernd 2 St. nach Befruchtung bei 19° .

Beginn 2^{43} : $18,971^{\circ}$ Thermostat: $18,985$ bis $18,975^{\circ}$.

3^{43} : $18,990^{\circ}$

(3^{43} : $18,991^{\circ}$)

$0,019^{\circ}$ Anstieg, korr. $0,000^{\circ}$. Versuchseier 4 geteilt.

Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 5^{33} : $19,022^{\circ}$ Thermostat: $18,99$ bis $18,995^{\circ}$.

Schluß 6^{32} : $19,050^{\circ}$

$0,028^{\circ}$ in 50 Min. Versuchseier zu Beginn 16 teilig,

Therm. korr. $+0,001^{\circ}$ am Schluß 32 und 64 geteilt.

$0,029^{\circ}$, umgerechnet auf 1 St. = $0,035^{\circ}$ Anstieg.

Inhalt des Gefäßes 228 ccm Seewasser = 219 Wasserwert

$+ 24$

243 Gesamtwasserwert.

In der 3. St. (2 bis 4 geteilt) 4,62 cal.

„ „ 6. „ (16 „ 64 geteilt) 8,5 „

Kj.: $86,2 \frac{2}{10} \cdot \text{NH}_3 = 120,7 \text{ mg N.}$

140 mg N geben in 3. St. nach Befr. 5,35 cal. (2 bis 4 Zellen).

140 „ „ „ „ 6. „ „ „ 9,85 „ (ca. 32 „).

6. Eier 12^{30} befruchtet. 1^{07} nach mehrmaligem Waschen im Thermostaten absitzen lassen. 2^{00} ins Dewargefäß eingefällt. $\frac{1}{2}$ St. Sauerstoff durchgeleitet.

Beginn 2^{40} : $19,032^{\circ}$

3^{40} : $19,046^{\circ}$

4^{40} : $19,062^{\circ}$

(4^{43} : $19,063^{\circ}$)

Zustand: $1\frac{1}{2}$ St. nach Befr.: 2-Teilung, am Schluß 4-Teilung; 2. St. 4 bis 8 Zellen.

Thermostat bis 4^{17} : $19,00$ bis $18,99^{\circ}$, dann steigt er wegen Versagung der Wasserkühlung allmählich bis 4^{41} auf $19,07^{\circ}$.

Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 5^{12} : $19,058^{\circ}$ } 16 bis 32 Zellen.

6^{12} : $19,081^{\circ}$ }

(6^{19} : $19,083$)

Thermostat: 5^{12} bis 6^{12} : $18,96$ bis $18,98^{\circ}$.

1. St. $0,014^{\circ}$

2. St. $0,016^{\circ}$

3. St. $0,023^{\circ}$

$+0,0015^{\circ}$ korr.

$+0,001^{\circ}$ Th. korr.

$+0,0035^{\circ}$

$0,0155^{\circ}$

$0,017^{\circ}$

$0,0265^{\circ}$

Inhalt des Gefäßes 236 ccm Seewasser = 227 Wasserwert

$+ 24$

251 Gesamtwasserwert.

$1\frac{1}{2}$ bis $2\frac{1}{2}$ St. nach Befr.: 3,9 cal. oder 140 mg N = 5,55 cal.

$2\frac{1}{2}$ „ $3\frac{1}{2}$ „ „ „ : 4,3 „ „ 140 „ „ = 6,15 „

5. „ „ „ : 6,85 „ „ 140 „ „ = 9,5 „

Kj.: $77 \frac{1}{10} \cdot \text{NH}_3 = 98 \text{ mg N}$ (nicht ganz genau).

7. Eier unbefruchtet eingefüllt ins Dewargefäß.

Beginn 4^{14} : $19,069^\circ$.

4^{20} : $19,069^\circ$.

4^{22} werden 1 bis 2 Tropfen Samenflüssigkeit durch das Glasröhrchen eingespritzt: fortdauernde Temperaturablesung. Außerdem wird jede Stunde eine Probe der Eier durch ein feines Haarröhrchen entnommen, um den Zustand der Eier mit den Kontrollen vergleichen zu können und danach den Anstieg und eine etwaige Diskontinuität desselben zu beurteilen. Diese Kurve ist wieder begedruckt (Zeit: $1 \text{ mm} = 2 \text{ Min.}$)¹⁾ es ist daraus zu ersehen: 1. die Befruchtung hat keine Wärmetönung; 2. der Anstieg setzt gleich nach der Befruchtung ein; 3. bei Befruchtung im Gefäß, wo also der Zustand der Eier ein sehr gleichmäßiger ist, ist eine deutliche Periodizität der Atmung nicht zu erkennen: allerdings geht die Temperatur in schwachen Wellenbewegungen hoch, doch erstreckt sich dies nur auf Differenzen, die in die Einstellungsgenauigkeit der Zwischentemperaturen fallen. Ein immerhin sehr bemerkenswertes Faktum, das aber ebenfalls unter die Grenze der Fehlerbreite fällt, ist, daß in den Minuten der Teilung die Temperatur nicht gestiegen ist. Auch in späteren Versuchen gelang es nicht, diese Beobachtung durch genauere Versuche zu stützen; es kann ein Zufall sein. Doch schließe ich noch einen zweiten ähnlichen Fall an.

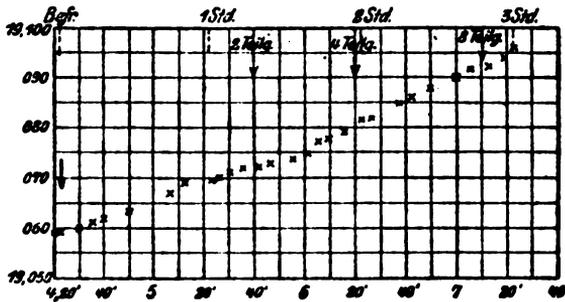


Fig. 3.

4^{22} : $19,069^\circ$ 2-Teilung zwischen 5^{20} und 5^{40} (98% der Eier

5^{22} : $19,069-070^\circ$ sind befruchtet).

6^{22} : $19,082^\circ$ 4-Teilung zwischen 6^{10} und 6^{22} ca. 90% in

7^{22} : $19,096-097^\circ$ 4-Teilung, 5% unregelm., unbefr. oder unreif;
7¹⁰ 8-Teilung.

(Das ganze in einer Tour aufgenommen.)

Dieser Versuch ist wegen der Form des Temperaturanstiegs und des Parallelismus zur Teilung angeführt. Für die calorimetrische Berechnung sind einige Ungenauigkeiten zu erwähnen: der Samen gibt eine allerdings in der eingespritzten Menge nicht als meßbar zu bezeichnende Wärmetönung. Durch das Herausholen der Eier mit Haarröhrchen wird

¹⁾ Vgl. Anm. S. 281.

eine ganz minimale Wärmeübertragung bewirkt. Zum Schluß der Zwischenstunden ist nicht eine für die Minute verlässliche Temperatureinstellung vorgenommen, sondern nur am Anfang und Ende. Endlich schwankte der Thermostat infolge fehlerhaften Funktionierens des Gasdruckregulators. Trotzdem führe ich die Berechnung durch, die für die 3 St. zusammen jedenfalls viel verlässlicher ist, als für die einzelnen, zumal die Anstiege einzeln relativ klein sind. (Die Thermostatenkorrektur ist durch Auszählen der Karos auf Millimeterpapier berechnet.)

1. St. Thermostat: durchschnittlich $19,04^{\circ}$, steigt plötzlich von 4° bis 4° bis auf $19,11^{\circ}$; bei Regulierung wieder auf $19,04^{\circ}$ fallend. 6° bis Schluß $19,05$ bis $19,06^{\circ}$.

1. St.: Korr. $0,000^{\circ}$, Anstieg $0,0105^{\circ}$

2. „ „ $+0,0005^{\circ}$, „ $0,013^{\circ}$

3. „ „ $+0,001^{\circ}$, „ $0,0155^{\circ}$

In 3 St.: $0,039^{\circ}$ korr. Anstieg.

Seewasser 220 com, 235 Gesamtwasserwert.

In 1. St. nach Befr. (ungeteilt) 2,46 cal. oder: 140 mg N geben 4,5 cal.

„ 2. „ „ „ (2- u. 4-Teil.) 3,17 „ „ 140 „ „ „ 5,8 „

„ 3. „ „ „ (8-Teilung) 3,68 „ „ 140 „ „ „ 6,6 „

durchschnittlich in 1 St. innerhalb der

ersten 3 St. 3,06 cal. oder: 140 mg N geben 5,6 cal.

Kj.: $54,5 \frac{2}{10} \text{NH}_3 = 76,3 \text{ N}$.

Ein später erwähntes Experiment, bei dem zugleich ein Sauerstoffversuch gemacht wurde, gab unmittelbar nach Befruchtung im Dewargefäß und auf Grund der Messung von $\frac{1}{2}$ St. ($0,014^{\circ}$ Anstieg) auf 140 mg 4,3 cal. in der 1. St., also fast dasselbe.

8. Eier, zum Teil befruchtet 1° , werden 1° im Thermostaten zum Absetzen gebracht; 2° ins Dewargefäß eingefüllt, Sauerstoff eingeleitet. Bei der Kontrollentnahme vor Versuchsbeginn wird entdeckt, daß nur $\frac{1}{3}$ befruchtet sind; deshalb 3° 4 Tropfen Samen ins Gefäß eingespritzt. Die vorher befruchteten noch ungeteilt. Dadurch alle bis auf $< 10\%$ befruchtet.

Beginn 3° : 18,855 $^{\circ}$ Thermostat: 18,96 bis 18,97 $^{\circ}$.

4° : 18,885 $^{\circ}$ Korr. für 1 St.: $-0,0034^{\circ}$.

4° : 18,892 $^{\circ}$ „ „ $\frac{1}{4}$ „ $-0,0006^{\circ}$.

Korr. Anstieg von 1 St. $0,0265^{\circ}$ (sowohl nach Rechnung von 1 St. wie $1\frac{1}{4}$ St.). Am Schluß 2-Teilung der Neubefruchteten, die übrigen 2- und 4 geteilt. Sauerstoff durchgelaßt.

Beginn 5° : 18,905 $^{\circ}$ (meist 4 bis 8 zellig).

6° : 18,938 $^{\circ}$ Thermostat: 18,97 bis 18,98 $^{\circ}$.

Anstieg: $0,033^{\circ} - 0,002^{\circ} = 0,031^{\circ}$.

(Zählung am Schluß ergibt: 17: 2geteilt, 51: 4geteilt, 54: 8geteilt, 29: 16geteilt.)

230 com Seewasser, 245 Gesamtwasserwert.

Im Mittel von 1. und 2. St. nach der Befr. 6,48 cal., auf 140 mg N 4,9 cal. pro Stunde.

Im Mittel von $2\frac{1}{2}$ bis $3\frac{1}{2}$ St. nach der Befr. 7,58 cal., auf 140 mg N 5,8 cal. pro Stunde.

Kj. gibt $132,2 \frac{2}{10} \cdot \text{NH}_3 = 185 \text{ mg N}$.

Diese Werte stimmen gut mit den übrigen überein.

9. Diesen Versuch teile ich an dieser Stelle nur mit, weil wieder der Parallelismus mit der Furchung beobachtet wurde und überhaupt der Versuch sehr sorgfältig mit sehr gutem Material gemacht wurde und sich über die 2., sonst meist ausgelassene Versuchsstunde erstreckt. Im übrigen gehört er zu den kombinierten Atmungsexperimenten, bei denen aber auch meist die absolute Größe bestimmt wurde.

Eier befruchtet 3^{00} , 3^{50} im Thermostaten zum Absitzen gebracht. 4^{00} Eier im Dewargefäß; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 4^{37} : 18,942° Eier ungeteilt; 5^{00} ca. 2-Teilung, 5^{45} ca.

(5^{37} : 18,963°) 4-Teilung.

5^{47} : 18,967—68° Thermostat: 18,99° (— 18,995°).

0,0255° Anstieg

Therm. korr. — 0,0015°

In 70 Min. 0,024°; in 1 St. also 0,0205°.

236 com Seewasser, 250 Gesamtwaasserwert.

In 2. St. nach Befr. 5,13 cal. oder 140 mg N geben 4,5 cal.

Kj.: $111,5 \frac{2}{10} \cdot \text{NH}_3 = 156,1 \text{ mg N}$.

Zur beifolgenden Kurve: Die

Bestimmungen des Teilungsmomentes sind nicht durch die Versuchseier selbst, sondern durch die Kontrolleier im Thermostaten vorgenommen.

10. Seeigeleier 11^{50} vorm. befr., 12^{20} im Thermostaten zum Absitzen gebracht. 1^{00} Eier im Gefäß; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 1^{25} : 18,997°

(2^{25} : 19,009°)

(3^{25} : 19,020°)

3^{40} : 19,023°

Thermostat: 18,98 bis 18,99°.

Anstieg: 0,026°

Therm. korr. + 0,002° } 0,028°.

Durchschnitt der 2. und 3. St. nach Befruchtung 0,0125° Anstieg.

1^{40} 2-Teilung, 2^{25} 4-Teilung, 3^{30} 8-Teilung.

Sauerstoff durchgeleitet 3^{45} bis 4^{05} .

Wiederbeginn 4^{10} : 19,020°

Thermostat: 18,98 bis 18,99°.

5^{10} : 19,033—34°

Anstieg: 0,0135°

+ 0,0015° } 5. St. nach Befr.

6^{10} : 19,052°

Anstieg: 0,0185°

+ 0,002° } 6. St. nach Befr.

(6^{13} : 19,053°).

Um 4^{40} 16-Teilung, um 5^{40} 32-Teilung.

Sauerstoff durchgeleitet.

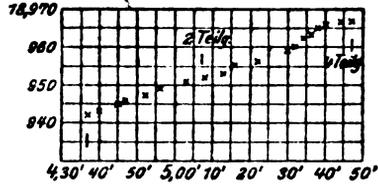


Fig. 4.

Beginn 6 ³⁰ : 19,057°	Thermostat: 18,98 bis 18,99°.
7 ³⁰ : 19,060—81°	Anstieg: 0,033°
7 ³⁰ : 19,090°	Therm. korr. + 0,004°
	} 0,037°.

In 7. St. nach Befr. 0,028°. 6³⁰ 64-Teilung. Am Schluß 128 geteilt (teils 64-Teilungen).

Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 8 ³⁰ : 19,100°	Thermostat: 18,98 bis 18,995°.
(9 ³⁰ : 19,103°)	Anstieg: 0,034°
10 ³⁰ : 19,134°	+ 0,005°
	} 0,039°.

In 9. bis 10. St. nach Befr. 0,0445°. Blastulen. Zellen nicht zu zählen.

Sauerstoff durchgeleitet 10³⁷ bis 10³⁸.

Beginn 10 ³⁰ : 19,141°	Thermostat: 18,98° (+ 0,00°).
(11 ³⁰ : 19,172°)	Anstieg: 0,041°
11 ³⁰ : 19,182°	korr. 0,0075°
	0,0485°

In 11. St. nach Befr. 0,039°.

Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 11 ⁴⁰ : 19,184°	Thermostat: 18,98° (+ 0,00°).
12 ³⁰ : 19,205°	Anstieg: 0,021°
	Therm. korr. + 0,006°
	0,027°

In 12. St. nach Befruchtung 0,0325°. Gute Blastulen, noch nicht schwimmend.

In der letzten Stunde ist möglicherweise ein Versagen des Sauerstoffvorrats oder eine Zunahme der Irregularitäten der Entwicklung vorgekommen. Das hier folgende Experiment wenigstens zeigt ein Steigen auch noch im Blastulastadium.

Die Kurve (Fig. 5) zeigt den Anstieg während des beobachteten Zeitraums von 11 Stunden. Es ist eingetragen: die Ableasungen (z. Teil) $\times\times\times$; die gezogenen Linien: die Anstiege mit der Thermostatenkorrektur; die gestrichelte Linie: der wahre Anstieg. Dieser ist gebildet durch paralleles Verschieben der korrigierten Anstiegskurve, so daß die Temperaturverschiebungen durch das Sauerstoffeinleiten beseitigt werden. Da die Verschiebungen nur graphisch vorgenommen sind, ist die Kurve nur angenähert richtig. Außerdem sind gegen Schluß einzelne Irregularitäten und ein Zurückbleiben einzelner Furchungen beobachtet, so daß der Betrag am Schluß etwas zu gering sein dürfte.

233 ccm Seewasser, 248 Gesamtwasserwert.

Kj.: 88,8 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 124 mg N. (Die Berechnung auf 140 mg N gibt ungewöhnlich niedrige Werte; doch ist bei der Veraschung kein Fehler bemerkt worden.)

Pro Stunde gebildet:

im Mittel von 2. u. 3. St. nach Befr.:	3,10 cal.,	auf 140 mg N:	3,5 cal.
in 5. St. nach Befr.	3,72 "	" "	4,2 "
" 6. " " "	5,08 "	" "	5,7 "
" 7. " " "	6,95 "	" "	7,85 "
im Mittel von 9. u. 10 St. nach Befr.:	8,55 "	" "	9,6 "
in 11. St. nach Befr.	9,65 "	" "	10,8 "
" 12. " " "	8,05 "	" "	9,1 "

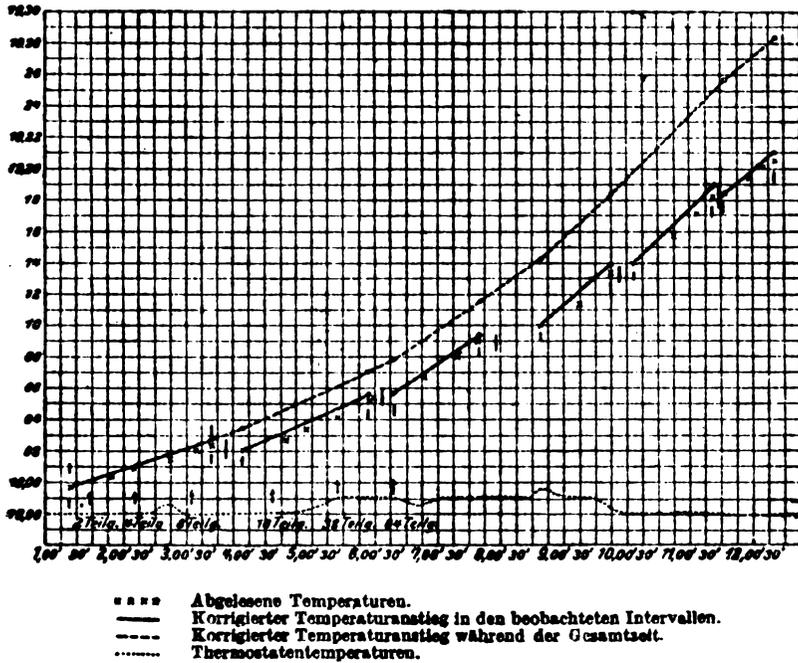


Fig. 5.

Nach der graphischen Interpolation sind gebildet in 11 St. 11 Min. bei $0,288^\circ$ Gesamtanstieg der Temperatur: 71,5 cal.; auf 140 mg N 89,5 cal.

11. Ich reihe hier einen Versuch an, der wieder ein kombiniertes Experiment ist, dessen Wärmemessung aber gleichsam die Fortsetzung des vorigen ist, weil er mit Blastulen bis zum Schwimmen derselben durchgeführt wurde.

Eier befruchtet 6^h abends, nachtsüber in großen Schalen bei ca. 16° stehen gelassen. Morgens 10^h steigen die ersten schwimmenden Larven hoch. Seewasser schnell abgehoben, eine Portion für den Sauerstoffversuch genommen; die gesamte übrige Menge ins Dewargefäß gefüllt. 11^h Sauerstoff durchgeleitet:

Beginn 11³⁰: 19,005° Thermostat: 18,96—18,98°.
 12³⁰: 19,032—33° Berechnet aus 1 Stunde allein
 0,0287° korr. Anstieg: } 0,0285°
 12³⁰: 19,038° Berechnet aus 1¼ Stunde
 0,0282° korr. Anstieg pro Std. }

Sauerstoff eingeleitet:

Beginn 3⁰²: 19,091° Thermostat: 18,97—18,985°.
 4⁰²: 19,126° Korr. Anstieg: 0,0395°.

Am Schluß: 1/2: gut schwimmende Larven, die andern im Beginn des Schwimmens oder drehen sich am Boden.

232 ccm Seewasser. 247 Gesamtwasserwert.

Auf 19° umgerechnet in 14. St. nach Befr. 7,05 cal., auf 140 mg N 12,9 cal.

Auf 19° umgerechnet in 18. St. nach Befr. 9,75 cal., auf 140 mg N 17,8 cal.

Kj. (die Larven werden mit Formol niedergeschlagen) 54,7²/₁₀ NH₃ = 76,6 mg N.

Einige andere, weniger genaue Versuche, bei denen verschiedene Fehler vorkamen, die aber gleichwohl ziemlich dieselben Resultate wie die vorigen ergaben, teile ich nicht mit. Die absoluten Größen einiger anderer hierhergehöriger Versuche kommen im folgenden bei den kombinierten Atmungsversuchen vor.

Zusammengestellt hat sich bisher folgendes ergeben:

Ver- suchs- Nr.	Von Befruchtung an gerechnet: auf 140 mg N cal. gebildet pro Stunde in Stunden													
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	14.	18.
3			5,35											
4			5,6		7,8									
5			5,35			9,85								
6*			5,55* 6,15*		9,5*									
7*	(4,5)	(5,8)	(6,6)											
8	4,9		5,8											
9		4,5												
10		3,5	3,5		4,2	5,7	7,85		9,6		10,8	9,0		
11													12,9	17,8

Bei Versuch 6* ist die N-Bestimmung ungenau, dagegen kommen die niedrigen Werte von 10. später mehrfach vor. Versuch 7 ist im einzelnen nicht als genau anzusehen. Im übrigen sind die Schwankungen der Wärmebildung pro N-Einheit keine Versuchsfehler; dieselben sind in dem gleichen Umfang schon von O. Warburg bei den Sauerstoffmessungen gefunden.

b) Unbefruchtete Eier.

12. Beginn 4³⁰: 18,904—05° Thermostat bis 5⁴⁰: 18,995—19,015°
 (5⁴⁰: 18,914°) Von da an 18,98° const.

6⁴⁰: 18,922°
0,0175°

Korr. — 0,0055°

0,012° in 2 St. 10 Min.; pro St. 0,0055°.

6⁴⁵ Samen eingespritzt, doch wird nur ein Teil der Eier befruchtet. Die Temperatur steigt sofort, in 1/4 St. um 0,006°, dann 1/4 St. ca. 0,004°. Darauf wird der Versuch abgebrochen.

237 ccm Seewasser. 251 ccm Gesamtwasserwert.

Kj. 131,0 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 211 mg N.

Unbefruchtete Eier pro Stunde 1,48 cal. oder 140 mg N geben 0,91 cal.

13. Ein zweiter Versuch mit unbefruchteten Eiern, an den sich kurze Zeit nachher eine Sauerstoffbestimmung mit Eiern der gleichen Seeigelausbeute anschloß, ist folgender:

Beginn 4³⁰: 18,951—2°

Thermostat: 18,99—19,01°.

5³⁰: 18,963—4°

0,007° in 1 St.

0,012°

— 0,0025° korr.

Befruchtet 5⁴⁴ 18,964°

Thermostat: 19,01° (± 0,00).

im Gefäß

6³⁴: 18,978°

Thermostat korr.: — 0,0005° 1 St.
 0,027°.

6³⁰ bis 6³⁰ Sauerstoff eingeleitet.

6³¹: 18,991°

Thermostat: 19,01 (± 0,00).

7³¹: 19,012°

1 St. 0,0315° (ohne Korr.).

Die Eier sind fast durchweg befruchtet, die Membran liegt aber eng an, die Eier sind noch nicht gefurcht, also wohl erst allmählich befruchtet. Die Eier entwickeln sich irregulär. Die Hälfte der Blastulen mißgestaltet, am Boden schwimmend. (Durch die Versuchsanordnung werden jedenfalls auch die unbefruchteten Eier etwas geschädigt, die Befruchtung geht schlecht von statten in so dichten Mengen usw.)

235 ccm Seewasser. 250 Wasserwert.

Kj. 197,5 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 276,5 mg N.

Unbefruchtete Eier geben pro Stunde 1,75 cal., pro 140 mg N 0,89 cal.

Befruchtete Eier 1/2 bis 1 Stunde nach Befruchtung 7,9 cal., pro 140 mg N 4,0 cal.

(Die erste halbe Stunde nicht gerechnet, weil die Eier hier wahrscheinlich teils befruchtet, teils unbefruchtet waren. Auch der zweite Wert ist angesichts der Schädigung der Eier ohne große Bedeutung.)

In allen Fällen wurde für den Befruchtungsvorgang keine meßbare Wärmetönung gefunden.

Die Werte für die unbefruchteten Eier stimmen ganz genau überein, später wurde aber bei demselben Quotienten ein erheblich kleinerer Wert gefunden.

Kombinierte Atmungsexperimente an den Eiern von *Strongylocentrotus lividus*.

a) Normale Entwicklung.

9a. Wärmeversuch unter 9. mitgeteilt. Die 3⁰⁰ befruchteten Eier werden nach mehrmaligem Waschen 3⁰⁰ eingeteilt zu 35 und 210 ccm = 1:6. 6 Teile im Standoylinder in den Thermostaten gehängt, wo die Eier abeizen und dann von 4²⁷ bis 5⁴⁷ zum Wärmeexperiment benutzt werden. Pro Stunde ergab sich hier 5,13 cal.

Der Atmungsversuch wird im Gefäß I. V. ausgeführt, das 237 ccm Flüssigkeit faßt, die Bestimmung des Sauerstoffgehalts im Gefäß 1⁰, das abzüglich der eingefüllten Titrationsreagentien 217 ccm faßt.

Die Natriumthiosulfatlösung entsprach (titriert gegen Kaliumdichromat) pro Kubikzentimeter 0,0656 mg O₂. Der Sauerstoffversuch fand statt von 3⁵⁰ bis 4⁴⁰ im zweiten Thermostaten, der eine Temperatur von 19,0° zeigte. Die Drehscheibe wurde durch einen Motor gedreht. Der Zustand der Eier entspricht dem des Wärmeversuchs, weil in letzterem die Eier sich während der Zeit von 3⁵⁰ bis 4⁴⁰ absetzten und dabei die Atmung schnell einstellen. Die Eier wurden 4⁴⁰ durch 2 ccm $\frac{1}{2}$ -CNK vergiftet, gegen 6⁰⁰ wurde das Bestimmungswasser abgehört. Es wurde titriert in 1⁰

$$\begin{array}{r} 25,65 \text{ NaTh. vor dem Versuch} \\ 22,1 \text{ „ nach dem Versuch} \\ \hline 3,55 \end{array}$$

In 1⁰ ist eine Abnahme von 3,55, also in I. V. von 4,70 NaTh. Umgerechnet auf die Menge des Wärmeversuchs 23,2 NaTh oder 1,85 mg O₂. Da zugleich 5,13 cal. gebildet sind, ergibt sich

$$Q = \frac{5,13}{1,85} = 2,75$$

bei sich furchenden Eiern im Ein- bis Zweizellenstadium.

14. Eier befruchtet 2⁵⁵. 3⁵⁵ eingeteilt 40:200 (1:5).

Sauerstoffmessung in I V von 4¹² bis 5⁴². Abgelesene Differenz Thiosulfat in 1⁰ 5,55; umgerechnet auf I V: 7,35 in 90 Minuten oder in 60 Minuten 4,90. Titer 1 ccm = 0,0775 mg O₂. In der fünffachen Menge wären verbraucht 24,5 Thiosulfat = 1,90 mg O₂.

Wärmemessung: 4⁴⁰ eingefüllt; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 4⁴²: 18,967—8° Thermostat: 18,99 (schwankt bis 18,995°).

5⁴²: 18,989° Korr. Anstieg: 0,021°.

(5⁴²: 18,993) Berechnet aus 70 Min. 0,0215°.

235 ccm Seewasser. 249 Gesamtwasserwert. Erzeugt pro Stunde: 5,23 oder 5,35 cal.

$$Q = \frac{5,23 \text{ bis } 5,35}{1,90} = 2,75 - 2,8$$

bei sich furchenden Eiern im Ein- bis Zweizellenstadium.

Bei den Eiern des Wärmeversuchs findet von 5⁰⁰ bis 5³⁰ die Zerteilung statt; gegen Ende sind einzelne viergeteilt.

Kj. 134 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 188 mg N. Pro 140 mg N 3,9 bis 4,0 cal.

Man sieht also das starke Schwanken der absoluten Werte bei Gleichheit der Quotienten.

15. Einen nicht so genauen Versuch teile ich im Anschluß an diese beiden mit, weil er doch mit den vorigen, die sehr sorgfältig waren, gut übereinstimmt. Bei der Art der Versuche gibt natürlich schon der geringste Fehler ein falsches Resultat, und man muß äußerst exakt verfahren, um brauchbare Werte zu erhalten. Andererseits macht der ungeheure Materialkonsum eine zu häufige Wiederholung unmöglich. Ich gebe daher auch die etwas ungenaueren Versuche an, falls der Fehler sich genau übersehen läßt. In diesem Falle wurden zu viel Eier für den Wärmeversuch benutzt, was besonders bei der Befruchtung im Wärmegefäß leicht zu Fehlern führt. Das Resultat war, daß nur $\frac{1}{2}$ Stunde lang ein linearer Temperaturanstieg erfolgte, dann ließ die Wärmebildung immer mehr nach; auch Sauerstoffeinleiten nützte nichts mehr. Am Schluß zeigten sich alle Eier befruchtet, aber viele geschädigt und nur ein Teil regulär gefurcht. Ein neues Beweismittel gleichzeitig für etwaige Parallelerscheinungen von Atmung und Furchungsvorgängen zu liefern, war dieser Versuch also nicht imstande. Zugleich sollte die Zeit ganz nahe hinter der Befruchtung auf ihren Atmungsprozeß untersucht werden.

Eier vor der Befruchtung geteilt (11⁵⁰) 40:200 (1:5).

Die Eier für den Sauerstoffversuch werden 11⁵⁷ befruchtet. Der Sauerstoffversuch findet von 12³⁰ bis 2⁰⁰ statt bei 19,2° (in 1. V). Es wurde titriert eine Differenz von 9,0 NaTh, umgerechnet auf 1. V. = 11,8 in 100 Min.; in 60 Min. 7,15 oder 35,8 in der fünffachen Menge; da der Titer 0,0762 mg O₂ betrug = 2,72 mg O₂; korr. auf Temp. 19°: 2,67.

Für den Wärmeversuch wurden die Eier unbefruchtet ins Dewar-gefäß gefüllt. Im Gefäß befruchtet 3¹⁴. Temp. vorher 19,0015°, nach der Befruchtung:

Beginn 3¹⁴: 19,002° Thermostat: 19,01° (+0,00°).

3⁴⁴: 19,016° (nach genauer Einstellung).

(3⁴⁴: 19,017°, dann nur noch 0,006° gestiegen bis Ende der Versuchsstunde).

Anstieg in $\frac{1}{2}$ Stunde 0,014° (ohne Korr.); in 1 Stunde 0,028°.

237 com Seewasser. 252 Gesamtwasserwert. In 1 Stunde 7,05 cal.

$$Q^* = \frac{7,05}{2,87} = 2,65 - 2,7.$$

Kj. 163 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 228 mg N. Auf 140 mg N pro Stunde: 4,3 cal. unmittelbar nach der Befruchtung.

16. Versuch mit höheren Stadien der Entwicklung. Es wurden mehrere Versuche mit höhern Furchungsstadien gemacht, wegen der Möglichkeit, daß der Quotient sich während der Furchung ändert, auch insbesondere die morphologischen Prozesse sich bei der großen Zahl gleichzeitiger Zellteilungen deutlicher fühlbar machen könnten.

Eier befruchtet 11⁵³, in mehreren Schalen ausgebreitet stehen gelassen. 4⁴⁶ eingeteilt (meist 8zellig) 45:180 (1:4).

Sauerstoffversuch von 5¹¹ bis 6¹¹. Umgerechnete Gesamtdifferenz $6,88 \times 4 = 27,6$ Natriumthiosulfat (vom Titer 1 ccm = 0,076 mg O₂) = 2,10 mg O₂.

Wärmeversuch: 5⁴⁵ eingefüllt; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 5⁵⁵: 19,1215° Thermostat: 18,99—19,01°.

(6⁵⁵: 19,139°) Korr. Anstieg pro Stunde: 0,0225°.

7⁵⁵: 19,1425° (Aus 1 Stunde allein 22,0. Die Einstellung war aber hier nicht ganz so genau.) Stadium am Schluß 16 und 32 Zellen.

238 ccm Seewasser. 252 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde erzeugt 5,67 cal.

$$Q = \frac{5,67}{2,10} = 2,7.$$

Kj. (sehr gut übereinstimmende Doppelbestimmung): 98,5 %₁₀-NH₃ = 138 mg N.

140 mg N geben im 16-Zellenstadium 5,75 cal.

Diese Veraschungszahl bestätigt wieder auffällig die Schwankungen, stimmt im übrigen auch gut zu der sonst verdächtigen Größe des 12-stündigen Wärmeexperimentes Nr. 10.

17. Versuch mit gleichen Stadien (etwas weniger genau).

Eier befruchtet 11⁵⁷. 12⁵⁷ eingeteilt 35:175 (1:5).

Die eine Portion (35) wird im Thermostaten gedreht bis 3¹⁰; während derselben Zeit wird durch die andere im Thermostaten Sauerstoff durchgeleitet (im Standglas). Dies sollte dazu dienen, beide Portionen bei 19° gleichmäßig zu entwickeln; doch waren die Eier des Wärmeversuchs nicht ganz so gleichmäßig, durch das 3stündige Sauerstoffdurchleiten etwas geschädigt. Zu Beginn der Versuche sind die Eier 8- und 16-zellig. Sauerstoffversuch von 4⁰⁶ bis 5³⁶. Gesamtabnahme im Versuchsgefäß 13,7 NaTh; in 1 Stunde 9,15 oder 45,7 Th in der fünffachen Menge. Titer = 0,077 mg O₂; also 3,51 mg O₂.

Wärmeversuch 4⁴⁷: 18,952° Thermostat schwankt infolge

5⁴⁷: 18,988°

Versagens der Wasser-

Korr. — 0,001 = $\frac{0,035}{0,035}$ Anstieg. kühlung von 18,92—19,03°
durchschnittl. 19,005.

Am Schluß 32-, einzelne 64zellig.

240 ccm Seewasser. 254,5 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde erzeugt 8,90 cal.

$$Q^* = \frac{8,90}{3,51} = 2,55.$$

Kj. 150,5 %₁₀-NH₃ = 210 mg N. 140 mg N geben 5,9 cal. (Das stimmt zum vorigen.)

11a. Versuch mit schwimmenden Larven, Wärmeversuch unter 11. mitgeteilt. Entsprechend dem Wärmeversuch von 11²⁰ bis 12²⁵ (pro Stunde 7,05 cal) findet mit einem Drittel dieser Menge (Einteilung

40:120) der Sauerstoffversuch statt. Sauerstoffversuch von 10⁵⁵ bis 11⁴⁴. Thermostat anfangs 18,2°, steigt dann auf 19,0°, durchschnittlich 18,7°. Titrierte Gesamtabnahme 11,6. Titer 0,074 mg O₂. In Menge des Wärmeversuchs verbraucht 2,59 mg O₂; korr. auf Temperatur (18,9°) 2,64 mg O₂.

$$Q = \frac{7,05}{2,64} = 2,65 - 2,7.$$

18. Eier abends 7⁰⁰ befruchtet. Über Nacht bei 15 bis 17° stehen gelassen in großen Schalen. 10⁴⁰ morgens eingeteilt. Blastulen, noch nicht schwimmend: 45:180 (1:4).

Sauerstoffversuch von 11¹⁵ bis 12¹⁵. Infolge Unaachtsamkeit des mit der Überwachung betrauten Dieners war die Drehscheibe 5 bis 10 Minuten stehen geblieben, so daß die Eier sich abgesetzt hatten. Infolgedessen muß der gefundene Wert für die Atmung ein wenig zu klein sein. Gesamtabnahme NaThiosulfat 7,3; 29,2 entsprechend dem Wärmeversuch. Titer 0,0762 mg O₂; also 2,23 mg O₂.

Wärmeversuch: 11³⁰ ins Dewargefäß gefüllt; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 11⁴⁰: 19,0190° Thermostat: 19,00—19,01°.

12⁴⁰: 19,044—0,445°. Korrigierter Anstieg pro Stunde 0,026°

12⁵⁰: 19,0485°. (sowohl aus 1 St. wie aus 70 Min. berechnet).

237 com Seewasser. 251 Gesamtwasserwert.

Pro Stunde erzeugt 6,5 cal.

$$Q^* = \frac{6,5}{2,23} = 2,9; \text{ (korr. } < 2,9).$$

Am Schluß des Versuchs beginnen die Blastulen zu schwimmen.

Kj. 67,3 %₁₀-NH₃ = 94,3 mg N.

140 mg N geben 9,7 cal. pro Stunde. (Dieser Wert stimmt wieder zu dem 12stündigen Wärmeexperiment.)

19. Hieran schließe ich einen Versuch mit Eiern, die möglichst ohne Membranen zur Furchung gebracht wurden, um zu sehen, ob die absoluten Atmungsgrößen dadurch geändert wurden. Denn die Versuche Warburgs und meine eigenen an künstlich erzeugten Befruchtungsmembranen hatten ergeben, daß die Membranbildung die bedeutende Atmungssteigerung nach der Befruchtung bedingt. Aus dem folgenden Experiment geht jedoch hervor, daß bei sich furchenden Eiern die Atmung immer gesteigert ist, auch wenn keine Membran vorhanden ist. Allerdings waren nicht alle Eier membranlos, aber mehr als die Hälfte. Um möglichst viele Eier sich ohne Membranbildung befruchten zu lassen, muß man dieselben lange Zeit vor der Befruchtung in Seewasser lassen.

Eier in Seewasser ausgebreitet abends 6⁰⁰; befruchtet morgens 9²⁵. 10⁰⁰ eingeteilt 1:4. Sauerstoffversuch: wird bis 11³⁰ absitzen gelassen. Sauerstoffversuch von 11³⁰ bis 1⁰⁰. Gesamtabnahme Thiosulfat 7,76, in 4facher Menge 29,0; Titer 0,074 mg O₂. In 1½ Stunden 2,14 mg O₂; in 1 Stunde 1,43 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch 10⁰⁰: 19,073°. Thermostat bis 12¹⁰: 18,99—19,00°.
 11⁴⁰: 19,095°. dann: 19,01°.
 12¹⁰: 19,103°. Korr. Anstieg 1. St.: 0,0160°.
 12⁴⁰: 19,110°. 2. St.: 0,0180°.

O₂ eingeleitet.

2⁴⁰: 19,121°. Thermostat: 18,99—19,01°.
 3⁴⁰: 19,146—147°. Korr. 3. St.: 0,0295°.
 3⁰⁰: 19,150—1505.

235 ccm Flüssigkeit = 250 Gesamtwasserwert.

Kontrollen: Von den Eiern haben nicht ganz 50% Membranen gebildet, die meisten davon ganz eng anliegend. 3—5% sind mißgestaltet und unbefruchtet. Die andern furchen sich zunächst regelmäßig, nur kommen ziemlich viel inäquale Zweiteilungen und Dreiteilungen vor, die sich meist wieder ausgleichen. Wärmeversuchszellen 11¹⁰ 2-Teilung. 11⁰⁰ beginnt 4-Teilung. 12⁰⁰ 8-Teilung. Von hier an etwa 20% irregulär. Von 3⁰⁰ bis 4⁰⁰ sind die Wärmeversuchseier 32—64 zellig; sie beginnen infolge Mangels der Membran auseinanderzufallen, jedenfalls durch die dauernde Bewegung im Gefäß veranlaßt. Dann wird der Versuch abgebrochen.

Für die Zeitvergleichung werden entweder die ersten 1½ Stunden des Wärmeversuchs mit dem 1½ stündigen Sauerstoffversuch verglichen: dies entspricht am besten dem Entwicklungszustand beider; oder das Mittel der ersten beiden Versuchsstunden der Wärmeexperimente mit 1 Stunde Sauerstoffversuch.

Es sind gebildet in 1 St. = 2 St. nach Befruchtung 3,76 cal. } 4,14 cal.
 " " " " 2 " " = 3 " " " 4,60 cal. }
 Berechnet aus 1½ St.: 4,09 cal.
 " in 3 St. = 6 St. nach Befruchtung: 7,40 cal.

$$Q = \frac{4,09}{1,43} = 2,85.$$

Besonders wichtig sind diesmal die absoluten Zahlen.

Kj. (genaue Doppelbestimmung) 76,0 %₁₀-NH₃ = 106,5 mg N.

140 mg N geben 2. St. nach Befruchtung 4,95 cal.

" " " " 3. " " " 5,92 "

" " " " 6. " " " 9,75 "

Die Werte entsprechen also den größten bisher gefundenen, und wir können deshalb mit Sicherheit sagen, daß die Atmung der sich furchenden, membranlosen Eier der Größenordnung nach dieselbe ist wie die der normal befruchteten.

Ich könnte noch einige Experimente normaler Entwicklung mitteilen, doch kamen bei diesen allerlei Fehler vor; insbesondere wurden häufig die Eier der Wärmeversuche erheblich geschädigt. Dann wurde der Quotient natürlich kleiner.

Ich schließe hier das Experiment mit hypotonischem Seewasser an, das eine geringe absolute Atmungssteigerung, aber bei normaler Furchung einen normalen calorischen Quotienten ergab:

20. Zweck des Experiments war, zu sehen, ob eine Vermehrung der Wärmebildung auf die Sauerstoffeinheit durch bloße Vergrößerung der Zellen eintritt, wie diese bei Behandlung mit NH_3 stattfindet. Es wurde mit Okularmikrometer gemessen, daß die befruchteten Eier in dem benutzten NH_3 -Seewasser um $\frac{1}{13}$ bis $\frac{1}{13}$ im Durchmesser sich vergrößern und daß dasselbe durch hypotonisches Seewasser (4 com Seewasser: 1 com dest. Wasser) erreicht wurde. Zugleich wurde die Atmungsgröße in diesem hypotonischen Seewasser (1:4) mit der im Seewasser verglichen.

Eier befruchtet 9⁵⁷. Eingeteilt in 3 Teile: 1:1:4.

Die Lösungen werden so berechnet und hergestellt, daß die Verdünnung im Sauerstoff- und Wärmeversuch identisch ist.

10⁵⁰ bis 11⁵⁰ Atmung im hypotonischen Seewasser (Flasche III = 310 ccm). 4,55 Gesamtabnahme Na-Thiosulfat.

10⁵³ bis 11⁵³ Atmung im gewöhnlichen Seewasser (Flasche I. V.). 4,4 Gesamtabnahme Na-Thiosulfat.

(Zugleich Jodkontrolle zu ersterem: keine Jodzehrung.)

Na-Thiosulfat-Titer 0,0695 mg O_2 . In 4facher Menge 1,26 mg O_2 verbraucht.

Wärmeversuch 11⁵²: 18,999° Thermostat: 19,01° (\pm 0,00)

12⁵²: 19,012—13° Anstieg: 0,0135° (ohne Korrr.).

Versuchseier teilen sich um 11³⁰ bis 12⁰⁰; am Schluß einzelne 4-geteilt.

235 ccm Seewasser. 252 Gesamtwasserwert, da spez. Wärme des $\frac{1}{3}$ verdünnten Seewassers = 0,97 gerechnet wird.

In 1 Stunde 3,40 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{3,40}{1,26} = 2,7.$$

Die geringe Steigerung der Atmung gegen Seewasser wurde auch in einem zweiten Sauerstoffexperiment bemerkt, dessen paralleler Wärmeversuch infolge Benutzung zu großer Eiermengen mißglückte.

21. 4⁰⁰ bis 5⁰⁰. Seewasser. Gesamtabnahme: 10,4 N-Thiosulfat

4⁰⁷ bis 5⁰⁷. Hypotonisches Seewasser. Gesamtabnahme: 11,6 Na-Thiosulfat bei gleicher Menge.

Die Eier waren 3⁰⁰ befruchtet.

Zusammengestellt erhalten wir, eingeeengt zwischen di etwas ungenaueren Experimente: 17. $Q \geq 2,55$ und 18. $Q \leq 2,9$; bei 9a. $Q = 2,75$; 14. $Q = 2,75$ bis 2,8; 15. $Q = 2,65$ bis 2,7; 16. $Q = 2,7$; 11a. $Q = 2,65$ bis 2,7; 19. $Q = 2,85$; 20. $Q = 2,7$. Die Übereinstimmung darf wohl als sehr gut bezeichnet werden. Zwischen den genauen Experimenten ist nur ca. 6% maximale Differenz, unter Einrechnung der ungenaueren 12%. Mittel von 9 Experimenten $Q = 2,73$.

Unter Berücksichtigung des Umstandes, daß im allgemeinen die größeren Werte die richtigeren sein werden, dürfen wir wohl 2,75 (2,7 bis 2,8) als die wahre Größe ansehen. Hiervon muß aber 0,17 für die Kohlensäurelösung und Bindung in Abzug gebracht werden und es ist daher

$$Q \text{ (reduziert)} = 2,6.$$

b) Phenylurethannarkose.

22. Vor dem Versuch wird die Grenzkonzentration ausprobiert, bei der am vorhandenen Versuchsmaterial die Furchung befruchteter Eier ausbleibt. Zu bemerken ist dazu, daß diese Konzentration bei noch ungefurchten Eiern tiefer liegt; bei Eiern im 2- oder 4-Zellenstadium ist eine höhere Konzentration erforderlich, um die Weiterteilung zu verhindern. Oft bilden sich irreguläre Furchungen.

Benutzt wird als Grenzkonzentration $\frac{1}{2400}$ -Phenylurethanseewasser. Eier befruchtet 2^{15} ; eingeteilt 1:5, 3^{15} , sofort Phenylurethanseewasser aufgegossen.

Sauerstoffversuch 2^{24} bis 4^{24} . Berechnete Gesamtabnahme 6,95 Na-Thiosulfat; in der 5fachen Menge, bei Na-Thiosulfattiter 0,0655 mg O_2 , entsprechend 2,27 mg O_2 . Wärmeversuch:

Beginn 4^{18} : 19,076° Thermostat: 18,99—19,00°

5^{18} : 19,0965—097° Anstieg (korr.): 0,024°

236 Flüssigkeit = 250 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 6,00 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{6.00}{2.27} = 2,65.$$

Die Versuchseier sind noch am Schluß ungeteilt; viele haben mehrere Kernspindeln. Die jetzt in Seewasser zurückübertragenen Eier furchen sich zu normal schwimmenden Larven. Nur etwa 20% während des Versuchs irregulär 2-geteilte Eier zerfallen später.

Kj. 127,8 $\frac{1}{10}$ - NH_3 = 179 mg N.

140 mg N geben pro Stunde 4,65 cal.

Die Atmung ist also genau so groß wie bei ungefurchten normalen Eiern (2. Stunde nach Befruchtung). Die Tragweite dieses Versuchs ist wohl recht beträchtlich; die Furchung hat keinen Einfluß auf die auf die Einheit des Sauerstoffverbrauchs gebildete Wärme.

23. Als wirksame Grenzkonzentration ausprobiert $\frac{1}{3000}$ -Phenylurethanseewasser. Eier befruchtet 2^{60} . Eingeteilt 3^{20} 1:4, sofort Phenylurethanseewasser aufgegossen.

Sauerstoffversuch 3^{41} bis 5^{01} . Gesamtabnahme 5,43 Na-Thiosulfat, oder 4,08 in 60 Minuten. Titer 0,076 mg O_2 . In der 4fachen Menge also 1,28 mg O_2 verbraucht.

Wärmeversuch: 4^{11} eingefüllt; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 4^{20} : 19,015°.

Thermostat bis 5^{50} : 19,00—19,005°;

dann 19,03—19,025°

5^{20} : 19,028—29°

Korr. 1 St. + 0,0005°

5^{50} : 19,035—0355°

2 St. + 0,0005°

6^{20} : 19,044°

Korr. Anstieg: 1 St. 0,014°, sowohl

aus 1 St. wie $1\frac{1}{2}$ St. berechnet

2 St. 0,0155°

Versuchseier: am Schluß noch ungefurcht, gut erhalten; die meisten haben Kernspindeln. Sehr viele zeigen mehrere Kerne.

235 ccm Seewasser = 249,5 Gesamtwasserwert;

In 1. Stunde 3,50 cal. erzeugt.

In 2. Stunde 3,87 cal. erzeugt.

Die Steigerung in der 2. Stunde (10%), die etwas über die Fehlergrenze geht, beruht wohl in diesem Falle nicht oder doch nicht bestimmt auf den gleichen Gründen, wie sie bei der künstlichen Membranbildung vorliegen, sondern dürfte mit der starken Kernvermehrung in der 2. Stunde im Zusammenhang stehen.

$$Q = \frac{3,50}{1,28} = 2,75.$$

N ist nicht bestimmt. Dieser Versuch bestätigt also den vorigen.

24. Der 3. Versuch mit Phenylurethan ist ungenauer, weil derselbe nicht mittlere Einteilung des Materials gemacht wurde, sondern an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit Eiern derselben Seeigelausbeute, und über den Stickstoffgehalt berechnet ist. Der Sauerstoffversuch des ersten Tages war nämlich durch einen Versuchsfehler verdorben. ²/₁₀₀₀₀ Phenylurethan.

Wärmeversuch. Eier befruchtet 2⁵⁰. 3⁴⁸ Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 3⁵⁷: 19,057—58° Thermostat: 19,00—19,005°

4⁶⁷: 19,074° Korr. Anstieg: 0,0185°

232 ccm Seewasser, 247 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 4,57 cal. erzeugt.

Kj. gibt 98,4 ²/₁₀-NH₃ = 138 mg N.

140 mg N geben 4,65 cal. in 1 Stunde.

24a. Sauerstoffversuch dazu. Eier 10³³ befruchtet. 11²⁰ in zwei gleiche Teile geteilt, für Atmung in Seewasser und in Phenylurethan-seewasser. Atmung je ³/₄ Stunden gemessen.

Urethan 11³⁰ bis 12²⁴. Gesamtabnahme 9,25 Na-Thiosulfat. Seewasser 11³³ bis 12¹⁸. Gesamtabnahme 9,76 Na-Thiosulfat.

Urethanzellen veratmen also in 1 Std. O₂ = 12,85 Na-Thiosulfat (Titer 0,0655 mg O₂) = 0,855 mg O₂.

Kj. 46,9 ²/₁₀-NH₃ = 65,7 mg N.

140 mg N verbrauchen 1,82 mg O₂ pro Stunde.

$$Q^* = \frac{4,65}{1,82} = 2,55.$$

Die Kontrollen zeigten in beiden Fällen unterbliebene Furchung; nur bei dem Wärmeversuch waren 2% früher fehlerhaft befruchtete Eier im 2- und 4-Zellenstadium irregulär zerklüftet. Zugleich sieht man in diesem Versuch, daß bei der gewählten Grenzkonzentration die Atmung im Phenylurethan der im Seewasser genau gleich ist.

c) Versuche mit unbefruchteten Eiern.

25. Eier eingeteilt 1:5.

Sauerstoffversuch 12³³ bis 4³³. Gesamtabnahme 4,43 ccm Na-Thiosulfat in 4 Stunden. Titer 0,0775 mg O₂; in 1 Stunde wird in der 5fachen Menge also 0,432 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch 2⁵⁴: 18,9925° Thermostat: 19,01° (± 0,00)
 3⁵⁴: 18,9975° (Ablesungen mit
 4⁵⁴: 19,001—015 $\frac{1}{1000}$ °-Thermometer)

Korr. Anstieg in 100 Minuten 0,0080; in 1 Stunde 0,0048°.

238 ccm Seewasser = 252 Gesamtwasserwert. In 1 Stunde 1,21 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{1,21}{0,432} = 2,8.$$

Kj.* 183 ccm $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 256 mg N (*kleine Verluste).

140 mg N geben 0,66 cal. und 0,235 mg O₂.

13a. Wärmeversuch unter 13 mitgeteilt. Kurz nachher wurde ein Sauerstoffversuch gemacht mit gleichem Material. Beides über den Stickstoffgehalt verglichen.

Pro 140 mg N waren 0,89 cal. gefunden.

Eier von 1²⁸ bis 4²⁸ gedreht. Gesamtabnahme 4,1 Na-Thiosulfat. Titer 0,0655 = 0,268 mg O₂; in 1 Stunde 0,089 mg.

Kj. 25,2 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 35,3 mg N.

140 mg N geben 0,353 mg O₂.

$$Q^* = \frac{0,89}{0,353} = 2,5 \text{ bis } 2,55.$$

Der Quotient kann natürlich nur annähernd stimmen. Wiederum sieht man, daß die absoluten Werte in diesem Falle 30% größer sind als im vorigen.

Während der früher aufgenommene Wärmeversuch (12) der Größe nach genau zu dem Versuch 13 stimmt, finden sich häufiger kleinere Werte, entsprechend 25. Z. B.:

28. Eier 3 $\frac{1}{4}$ Stunden gedreht. Gesamtabnahme 6,13 Na-Thiosulfat. Titer 0,0655. In 1 Stunde 0,123 mg O₂ verbraucht.

Kj. 54,0 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 75,6 mg N.

140 mg N verbrauchen 0,23 mg O₂.

d) Versuche mit künstlichen Membranen.

Die künstliche Membranbildung wird stets durch Valeriansäure bewirkt. Es wird durch Vorversuche ausprobiert, daß die Membranbildung am besten gelingt, wenn die Eier für genau 2 Minuten einem Gemisch von 20 ccm Seewasser und 1 ccm $\frac{1}{10}$ -Valeriansäure ausgesetzt werden. (O. Warburg gibt die doppelte Menge Valeriansäure an.) Die Membranen sind nicht immer gleichmäßig gut, auch bilden sie sich zuweilen erst innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde; doch bilden stets die weitaus meisten Eier Membranen. Um das sofortige Wegwaschen der Valeriansäure bei der sehr großen Menge Eier schnell ausführen zu können, wurde so verfahren, daß der Valeriansäurezusatz geschah, nachdem die Eier sich im Zylinder auf ein kleines Volumen abgesetzt hatten und man dann für die Herstellung der richtigen Konzentration nur sehr kleiner Mengen Valeriansäure bedurfte. Nach Ablauf von 2 Minuten wurde diese kleine Flüssigkeitsmenge samt den Eiern schnell in 4 bis 5 große mit Seewasser

gefüllte Schalen verteilt, so daß die Konzentration der Valeriansäure dadurch ganz minimal wurde. Nach dem Absetzen der Eier wurden sie noch mit Seewasser gewaschen. Es wurde bemerkt, daß die Eier mit sehr gut gebildeten Befruchtungsmembranen schneller zerfallen, als die mit eng anliegenden.

27. Eier von 2⁵⁵ bis 3⁰⁰ in 40 ccm Seewasser + 2 ccm $\frac{2}{10}$ -Valeriansäure. 95% der Eier bilden gute, weitabstehende Membranen. Eingeteilt 3⁵⁵ 1:4.

Sauerstoffversuch 3⁵⁵ bis 4³⁰. Gesamtabnahme 2,65 Na-Thiosulfat. Titer 0,076 mg O₂. In der 4fachen Menge 0,804 mg O₂-Verbrauch pro Stunde.

Wärmeversuch 4⁰²: 18,912°

Thermostat: 19,02—19,03°

5⁰²: 18,924°

korr. Anstieg: 0,0064° in 1 St.

236 ccm Seewasser = 250 Gesamtwasserwert. In 1 Stunde 2,10 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{2,10}{0,804} = 2,6.$$

Kj. 62,3 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 87,2 mg N.

140 mg N geben in 1 Stunde 3,4 cal. Absolut ist dieser Wert also etwas kleiner, als er in der Regel bei normal befruchteten Eiern ist. In den späteren Versuchen jedoch ist er ebenso groß.

28. Eier 2⁴⁵ bis 2⁴⁷ in Valeriansäure exponiert. 3⁵⁰ 1:5 geteilt, ca. 80% bilden Membranen; meist eng anliegend.

Sauerstoffversuch 3⁵⁵ bis 4³⁰ bei 19,2°. Gesamtabnahme 3,47 Na-Thiosulfat. Titer 0,0762 mg O₂. In der 5fachen Menge 1,325 mg O₂ verbraucht. Temp. korr. 1,30 mg O₂.

Wärmeversuch 3⁵⁵: 18,9515°

Thermostat: 19,01—19,03°

4⁴⁴: 18,965°

5⁴⁴: 18,9725°

5⁴⁴: 18,9835—84°

Korr. Anstieg 1. St.: 0,0115°, berechnet aus 1 St.; 0,012° aus 1 $\frac{1}{2}$ St.

Korr. Anstieg 2. St.: 0,017°; im Mittel beider Stunden 0,0142°.

238 ccm Flüssigkeit, 252 Gesamtwasserwert.

Für die ersten 1 $\frac{1}{2}$ Stunden ergibt sich als Calorienerszeugung pro Stunde 3,02 cal., für die zweite 4,25 cal.

Wird der Quotient aus der ersten Stunde allein gebildet, so ergibt sich

$$Q = \frac{3,02}{1,30} = 2,3.$$

Wird er aus dem Mittel der beiden Stunden gebildet:

$$Q = \frac{3,55}{1,40} = 2,55.$$

Dieser letztere Wert ist sicher der richtigere. Er zeigt auch zugleich, daß jedenfalls die Stundenzwischentemperaturen nicht sehr genau waren. Wir werden auch in den folgenden Experimenten einen Anstieg der Wärmeproduktion pro Stunde finden, aber in diesem Fall war er,

wie man schon aus den Größen sieht, als zu groß gefunden (Ableseung mit $\frac{1}{1000}^{\circ}$ -Thermometer, das gelegentlich zu Ableseungsfehlern Anlaß gab).

Kj. $102 \frac{2}{10} \text{-NH}_3 = 143 \text{ mg N.}$

Pro 140 mg N 2,96 und 4,15 cal. Diese Werte sind relativ klein; sie erklären sich aber daraus, daß 20% der Eier keine Membranen gebildet hatten und daher jedenfalls wie unbefruchtete Eier gestmät haben.

29. Eier 2° in Valeriansäure. 3^{st} 1:4 geteilt.

Sauerstoffversuch 3^{44} bis 4^{56} (62 Minuten) bei $19,2^{\circ}$.

Gesamtabnahme 4,30 Na-Thiosulfat. Titer 0,076 mg O_2 . In 4facher Menge 1,31 mg O_2 verbraucht; oder 1,29 bei 19° in 62 Minuten; in 60 Minuten 1,25 mg.

Wärmeversuch.

Beginn 4^{02} : 18,9785—79°

Thermostat bis 5^{42} : 19,00—19,01°

5^{02} : 18,9925°

von da an: 19,01—19,03°

5^{42} : 19,0025°

Anstieg korr. 1. St.: 0,0132°

6^{02} : 19,0095°

(0,0138 berechnet aus 100 Minuten)

Sauerstoff eingeleitet.

Neubeginn 6^{22} : 19,018°

2. St.: 0,0165°

7^{22} : 19,038°

3. St.: 0,020°

Kontrollen: Etwa 90% bilden eng anliegende Membranen. Gegen 7° beginnen einzelne Eier zu zerklüften. Deshalb wird der Versuch abgebrochen.

230 com Seewasser. 245 Gesamtwasserwert.

Gebildet in 1. St. = 2. St. nach Membranbildung: 3,24 (— 3,38) cal.

2. St. = 3. St. „ „ 4,05 cal.

3. St. = $4\frac{1}{2}$ St. „ „ 4,90 cal.

$$Q = \frac{3,24}{1,25} \left(\text{bis } \frac{3,38}{1,25} \right) = 2,6 \text{ (bis } 2,7).$$

Kj. $72,8 \frac{2}{10} \text{-NH}_3 = 102 \text{ mg N.}$

140 mg N geben in 2. St. nach Membranbildung 4,45 cal.

3. St. „ „ 5,6 cal.

$4\frac{1}{2}$ St. „ „ 6,4 cal.

Dieses Experiment stimmt also in jeder Hinsicht überein, zum Beweise, daß auch ohne Zellteilung die Wärmebildung nach der Membranbildung ansteigt; daß dieses auf der Steigerung der Atmung beruht, was ja ziemlich selbstverständlich ist, wird noch durch das folgende Experiment, den Sauerstoffversuch zu zwei Zeiten, bestätigt. Man sieht, daß auch die Größe des Anstiegs, ebenso wie die absoluten Größen in diesem Falle genau dem normalen Verhalten entsprechen, 15 bis 20% Anstieg pro Stunde, und, obwohl nicht alle Eier Membranen bildeten, die gewöhnliche Größenordnung haben. Ganz so genau ist dies in den andern Versuchen nicht herausgekommen.

30. Eier 11^{56} in Valeriansäure exp. Geteilt 1:1:4

Sauerstoffversuche:

1. 12^{41} bis 2^{41} (100 Minuten) bei $19,2^{\circ}$. Gesamtabnahme 7,8 Na-Thiosulfat, oder 1 Stunde 4,67 Na-Thiosulfat; korr. 4,58.

2. 2⁵¹ bis 4¹¹ (80 Minuten). Gesamtabnahme 6,83 Na-Thiosulfat, oder 1 Stunde 5,12 Na-Thiosulfat (Zunahme 12%). (Die Eier hatten bis dahin in offenen Schalen gestanden.) Titer 0,0765 Na-Thiosulfat. Entsprechend der zweiten Messung in der 4fachen Menge pro Stunde 1,57 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch. Eier von etwa 1⁰⁰ bis 3⁰⁰ im Thermostaten abgesetzt. 3¹⁶ Sauerstoff eingeleitet.

Versuchsbeginn 3⁴¹: 19,038° Thermostat schwankt infolge zu hoher Außentemperatur

4⁴¹: 19,055° 3⁴¹ bis 3⁴⁹: 19,04—18,95°; dann

korr. Anstieg: 0,0019° konstant 18,97—18,975°

235 ccm Flüssigkeit = 249,5 Gesamtwasserwert. In 1 Stunde 4,79 cal. gebildet.

$$Q = \frac{4,79}{1,57} = 3,05.$$

(Dieser Wert dürfte sicher zu hoch sein. Wenn man seine Ursache nicht in der möglichen Addition von Versuchungenauigkeiten sehen will, ist noch die Steigerung der Atmung in Betracht zu ziehen, da der Wärmeversuch erst gegen Schluß des Sauerstoffversuchs begann, was durch das vorherige Abätzen der Eier nicht ganz ausgeglichen zu sein braucht.)

Kj. 84,0 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 116,6 mg N.

140 mg N geben 5,7 cal. pro Stunde.

Kontrollen: Eier mit geringen Ausnahmen Membranen gebildet, gut abstehend.

31. Eier 2⁴⁰ in Valeriansäure. 3⁰⁸ geteilt 1:3.

Für Sauerstoffversuch Eier in Schalen ausgebreitet bis 4³⁰.

Versuch 5⁰⁰ bis 6⁰⁴. Gesamtabnahme 6,62 Na-Thiosulfat. Titer 0,076 mg O₂.

In 3facher Menge pro Stunde 1,51 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch.

Beginn 3⁵⁷: 18,9375°

Thermostat: 18,98—18,99°

4⁵⁷: 18,956°

korr. Anstieg: 0,017° in 1 St.

Sauerstoff eingeleitet:

Neubeginn 5⁵⁷: 18,963°

korr. Anstieg: 0,0245° in 80 Min.

6⁴⁷: 18,988°

0,0184° in 1 St.

(ebenso aus Zwischentemperaturen)

237 ccm Seewasser = 251 Gesamtwasserwert.

In 1 St. 4,27 cal. } Mittel 4,45.
In 2 St. 4,63 cal. }

Kontrollen: Von 5⁴⁰ an beginnen einzelne Eier zu zerklüften (80% haben Membranen).

Für den Vergleich mit der Atmung ist es wohl am richtigsten, das Mittel beider Werte zu nehmen, weil dies mit der Zeit des Sauerstoffversuches am besten übereinstimmt; dann erhält man

$$Q = \frac{4,45}{1,51} = 2,95;$$

bei Benutzung der ersten Stunde ergibt sich $Q = 2,8$; der zweiten Stunde 3,05.

Kj. $87,0 \frac{1}{10}\text{-NH}_3 = 122 \text{ mg N.}$

In 1. Stunde 4,9, in 2. Stunde 5,25 cal. erzeugt auf 140 mg N.

In diesem Fall fand also nur eine sehr unbedeutende Vermehrung der Atmung statt, die gerade an der Fehlergrenze liegt. Doch kann man dafür vielleicht das frühe Zerfallen von Eiern während des zweiten Versuchs anschuldigen (Ähnliches wäre dann auch im Sauerstoffversuch der Fall).

Zusammengefaßt ergibt sich für Eier mit künstlicher Membran:

27. $Q = 2,6$. 28. $Q = 2,75$ (unsicher bis 2,3). Ungenauer Anstieg der Wärmebildung pro Stunde von 3,0 auf 4,2 cal. 29. $Q = 2,6$ bis 2,7. Anstieg pro 140 mg N nach Membranbildung: 2. Stunde 4,45, 3. Stunde 5,6, $4\frac{1}{2}$ Stunde 6,4 cal. 30. $Q = 3,05$. Atmungszunahme ca. 12% auf je $1\frac{1}{2}$ Stunden. 31. $Q = 2,95$ (zwischen 2,8 und 3,05). 2. Stunde nach Membranbildung 4,9, $3\frac{1}{2}$ Stunden 5,25 cal. erzeugt pro 140 mg N. Mittel aus 5 Versuchen: $Q = 2,78$.

Die maximalen Unterschiede von Q betragen hier also etwa 15%; daran ist wohl zum Teil die nicht so gute Zeitparallelität schuld. Als Resultate der Messungen entnehmen wir aber, daß der Quotient mit Wahrscheinlichkeit kein anderer ist als in den bisherigen Fällen, also auch zwischen 2,7 und 2,8 gelegen sein dürfte; jedenfalls ist er innerhalb der Fehlergenauigkeit von den bisher gefundenen nicht zu unterscheiden. — Ferner ist eine Steigerung der Atmung pro Stunde als sicher anzunehmen. Dieselbe ist wechselnd, was wohl wesentlich von der mehr oder minder guten Konservierung der Eier für mehrere Stunden abhängt, die nach einiger Zeit stets zu zerklüften beginnen oder sonst geschädigt sind. Der mögliche Einwand, die Zunahme beruhe auf einem allmählichen Neuentstehen von Membranen, ist wohl abzuweisen, da dieses nicht noch nach mehreren Stunden nach der Valeriansäurebehandlung eintreten dürfte. Eine andere Erklärung: die Zunahme beruhe auf einer allmählichen Annäherung an die Cytolyse der Eier, wäre wohl falsch formuliert. Soviel wir wissen, ist die Cytolyse häufig die Folge zu starker Atmung (NaCl!), wobei als „zu stark“ bei sich nicht furchenden Eiern schon eine kleinere Größe als bei sich furchenden Eiern angenommen werden muß. Die Membraneier cytolysieren also, weil sie, ohne sich zu furchen, normal und normal ansteigend atmen. Aber sie atmen nicht ansteigend, weil sie cytolysieren. Wir müssen uns also vorstellen, daß mit der Membranbildung ein Oxydationsvorgang hervorgerufen wird, der automatisch allmählich stärker wird, wobei wohl erst später aus der Kern- und Zellteilung resultierende Faktoren für seine Größe bestimmend werden.

e) Befruchtete Eier in Ammoniakseewasser.

Im Gegensatz zu allen vorigen finden wir in den folgenden Versuchen eine bedeutende Steigerung des Quotienten, auf deren Bedeutung wir oben schon eingegangen sind.

32. Alle Versuche werden in Ammoniakseewasser angestellt, in dem sich auf 100 ccm Seewasser 4 ccm $\frac{1}{10}$ -NH₃ befinden. Dadurch wird die Furchung verhindert. Eier 3⁰⁶ befruchtet. 3⁶⁰ 1:4 geteilt; NH₃-Wasser bis zur richtigen Konzentration aufgegossen.

Sauerstoffversuch 4¹⁵ bis 5³⁵ (80 Min.) bei 19,6°, Gesamtabnahme 10,65 Na-Thiosulfat (Titer 0,075 mg O₂), in 4facher Menge in 1 Stunde 2,39 mg O₂. Temperatur korr. gegen den Wärmeversuch um 5%
= 2,27 mg O₂.

Wärmeversuch:

Beginn 4¹⁵: 19,032° Thermostat: 18,97—19,05°

5³⁵: 19,062—61° korr. Anstieg 0,0312°

(normal weiter steigend).

230 ccm Seewasser = 245 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde erzeugt 7,65 cal.

$$Q = \frac{7,65}{2,27} = 3,35.$$

Kj.: 108 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 151 mg N.

140 mg N geben 7,07 cal.; dividiert durch $\frac{3,35}{2,75}$, um einen Atmungs-

vergleich mit der Normalatmung zu gewinnen, ergäben sich auf 140 mg N 5,82 cal., also eine absolute Steigerung von 10 bis 20%.

33. Eier 2³⁰ befruchtet. Geteilt 1:3.

Sauerstoffversuch 3¹⁰ bis 4³⁰. Gesamtabnahme 6,50 Na-Thiosulfat. Titer 0,074 mg O₂.

In 3facher Menge in 1 Stunde 1,44 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch:

3¹⁰: 18,873—735° Thermostat: 18,975—18,99°

(4³⁵: 18,894—95° ungenau)

5¹⁰: 18,9005—18,901°.

Korr. Anstieg in 1 Stunde 0,0188°.

236 ccm Seewasser = 250 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 4,70 cal. erzeugt,

$$Q = \frac{4,70}{1,44} = 3,25.$$

Kj.: 76,7 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 108 mg N.

140 mg N geben 6,12 cal. in 1 Stunde.

34. Eier befruchtet 10⁴⁵. 11³⁰ geteilt 1:4.

Sauerstoffversuch: 11³⁰ Ammoniakseewasser aufgegossen. Versuch 11⁵⁰ bis 12⁵⁰. Gesamtabnahme 8,80 Na-Thiosulfat. Titer 0,0740 mg O₂. In 4facher Menge 2,60 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch: 11⁵⁵ Ammoniakwasser aufgegossen.

Beginn 12¹⁵: 18,885° Thermostat: 18,985° (5 Min. am Anfang 18,99°).

1¹⁵: 18,922° Anstieg korr. 0,0343°.

237 ccm Seewasser = 251 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 8,60 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{8,60}{2,60} = 3,3.$$

Kj.: $118 \frac{1}{10} \text{-NH}_3 = 165 \text{ mg N.}$

140 mg N geben 7,3 cal. pro Stunde.

35. Eier 3^{20} befruchtet. 1 : 4 geteilt.

Sauerstoffversuch: 4^{14} NH_3 -Seewasser aufgegossen. Versuch 4^{24} bis 5^{24} . Gesamtabnahme 8,60 Na-Thiosulfat. Titer 0,0740 mg O_2 . In 4facher Menge 2,55 mg O_2 in 1 Stunde verbraucht.

Wärmeversuch: 4^{25} NH_3 -Seewasser aufgegossen.

Beginn 4^{45} : 18,898° Thermostat: Bis 5^{14} 18,99—19,01°; dann 18,985°;
 5^{45} : 18,935° korr. Anstieg 0,0344°

(regulär weiter steigend).

236 ccm Seewasser = 250 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 8,59 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{8,59}{2,55} = 3,35.$$

(Keine N-Bestimmung.)

36. Eier befruchtet 2^{45} . Geteilt 1 : 4.

Sauerstoffversuch: NH_3 -Seewasser aufgegossen 3^{27} . Versuch 3^{44} bis 4^{44} . Gesamtabnahme 11,6 Na-Thiosulfat. Titer 0,0692 mg O_2 . In 4facher Menge 3,20 mg O_2 verbraucht.

Wärmeversuch: 4^{14} NH_3 -Seewasser aufgegossen.

Beginn 4^{27} : 19,042° Thermostat: 19,02° ($\pm 0,00^\circ$);

5^{27} : 19,0825—83° korr. Anstieg 0,0422°.

235 ccm Seewasser = 249,5 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde erzeugt 10,5 cal.,

$$Q = \frac{10,5}{3,20} = 3,3.$$

Kj.: $116 \frac{1}{10} \text{-NH}_3 = 162,5 \text{ mg N.}$

140 mg N geben 9,05 cal. pro Std. (50% Atmungssteigerung).

In allen Versuchen wurden Kontrollen angesetzt. Versuchsbeginn war meist nach der Kernteilung, der im NH_3 -Seewasser dann keine Zellteilung nachfolgte. Wenige Zellen zerklüfteten irregulär. Die anderen schollen nur um $\frac{1}{13}$ im Durchmesser an, aber blieben intakt. Nach Zurückbringen in Seewasser furchten sich die meisten weiter. Doch waren die schwimmenden Larven vielfach irregulär, schwammen am Boden usw.; viele cytolysierten auch vorher. Im letzten Versuch fand im NH_3 bei vielen Eiern Zweiteilung statt.

Fassen wir zusammen, so ergaben die vorstehenden Versuche:

32. $Q = 3,35$, 33. $Q = 3,25$, 34. $Q = 3,3$, 35. $Q = 3,35$, 36. $Q = 3,3$.
 Zugleich eine absolute Atmungssteigerung um 20% (10 bis 50%). Q im Mittel von 5 Versuchen = 3,32.

Die Übereinstimmung ist vorzüglich. Sie ist nicht zufällig, sondern liegt an mehreren Umständen. Erstens wurden alle Versuche außer dem ersten im gleichen Thermostaten angestellt. Es wurde auf das sorgfältigste beachtet, die Zellen vorher gleich lange in NH_3 -Seewasser zu lassen. Ferner konnten große Ausschläge benutzt werden, wodurch die Genauigkeit sehr steigt. Das Wichtigste ist aber wohl, daß die Eier infolge des Aufschwellens leichter sind, sich deshalb erst nach viel

längerer Zeit absetzen, so daß von der Ballkompression, durch die immer einige Eier geschädigt und kleine Unregelmäßigkeiten bewirkt werden, viel seltener als sonst Gebrauch gemacht wurde. All dies sicherte ein gleichmäßiges Verhalten. Ebenso gut stimmen nur die Versuche an Aplysialarven, wo die Bedingungen annähernd ebenso günstig sind.

Wie oben gesagt, muß der Wert für $Q = 3,3$ in diesem Fall stärker reduziert werden, wegen der Neutralisation von CO_2 durch NH_3 . Es ergab sich eine Reduktionsgröße von 0,37 cal. auf 1 mg O_2 .

Q_{red} ist also für Atmung in NH_3 -Seewasser 2,95, während er in den vorigen Fällen auf 2,6 angenommen wurde (2,7 bis 2,8 red. um 0,17). Er ist also auch dann noch 12% höher.

f) Versuche mit hypertonischen Lösungen.

Die Versuche mit hypertonischem Seewasser machten verschiedene Schwierigkeiten. Erstens wurden in den stärkeren hypertonischen Lösungen besonders die befruchteten Eier oft schnell zerstört, deshalb mußten 3 bis 4 Versuche aufgegeben werden, weil eine Berechnung des Quotienten dadurch unmöglich wurde, zweitens war es sehr umständlich, für beide Versuche ganz genau die gleiche Salzkonzentration zu erhalten; das war aber unbedingt erforderlich, weil schon Veränderungen der Salzkonzentration um 0,1% bei hypertonischen Lösungen unter Umständen die Atmung um 5% verändern können. Dazu kommt noch für die befruchteten Eier, daß dieselben auch genau zur gleichen Zeit nach der Befruchtung in die hypertonischen Lösungen gebracht werden müssen, da Warburg gezeigt hat, daß für die ersten 2 Stunden nach der Befruchtung der Sauerstoffverbrauch der befruchteten Eier in den hypertonischen Lösungen stark zunimmt, je längere Zeit zwischen Befruchtung und Einbringen in die Lösung verstrichen ist. Mußte auch aus diesen Gründen eine Reihe von Versuchen aufgegeben werden, da eben nur ganz genau übereinstimmende Parallelversuche einen Sinn haben, so begegneten die schließlich übrigbleibenden Versuche, bei denen alle Klippen vermieden waren, in ihrer Deutung neuen Schwierigkeiten, weil die Temperatur bei der Mehrzahl derselben ungleichmäßig anstieg. Zwar waren geringe Wellenbewegungen schon bei anderen Versuchen vorgekommen und sind im vorstehenden erwähnt worden. Für längere Zeiten spielten diese jedoch keine Rolle, und die Berechnung der erzeugten Wärmemenge im Vergleich zum Sauerstoffverbrauch hatte dadurch nur eine geringe Unsicherheit bekommen. Dagegen

wurde es bei der Messung in hypertonischem Meerwasser wiederholt und — ausschließlich in diesem — festgestellt, daß die Temperatur nicht nur zeitweilig nicht anstieg, sondern sogar nicht unbeträchtlich zurückging, um dann wieder zu steigen. Leider wurde dies wiederholt anfangs mißdeutet und Sauerstoff eingeleitet, um eine mögliche Verarmung an Sauerstoff auszuschließen; trotzdem geht dasselbe noch aus mehreren Ablesungen deutlich hervor. Da insbesondere am Anfang die Temperatur nicht gestiegen war, wurden später wiederholt Versuche erst nach längerem Einbringen in die hypertonische Lösung begonnen, und soviel ich sehe, sind dies die einzigen, wo überhaupt eine bestimmte Berechnung der Größe Q möglich war. Da meistens das Interesse, diese Berechnung ausführen zu können, überwog, so ist leider nicht genügend Gelegenheit gewesen, den Gründen des sonderbaren Verhaltens der Eier in hypertonischen Lösungen näher nachzuspüren. Nur das wurde festgestellt, daß die Temperatur anfangs so lange nicht stieg, als die Eier der Kontrollen Verkrümpelungen zeigten, und daß erst, wenn diese ihre normale Gestalt angenommen hatten, auch die Temperatursteigerung einsetzte. Im folgenden teile ich von den ungefähr 20 Versuchen, die mit hypertonischen Lösungen angestellt wurden, diejenigen mit, die nicht aus den oben genannten Gründen als mißglückt zu bezeichnen sind.

Es wurden benutzt hypertonische Lösungen, die 2,3%, ca. 3,5% und 4,3% NaCl-Zusatz zum Seewasser enthielten. Die absoluten Konzentrationen wurden nicht sehr genau bestimmt. — Es zeigte sich, daß auch wiederholt der Sauerstoffversuch einen relativ sehr kleinen Wert gab (berechnet auf Milligramm N und verglichen mit dem Wärmeversuch); und dieser Umstand spricht besonders dafür, daß wenigstens ein Teil der Anomalität bei vielen Versuchen mit Unterbrechung oder Nachlassen der Sauerstoffatmung zusammenhängt. Die endothermen Vorgänge werden natürlich nicht dadurch erklärt.

Zwischen befruchteten und unbefruchteten Eiern sah ich keinen prinzipiellen Unterschied. Ich teile zuerst die Versuche mit, wo ein kontinuierlicher und linearer Temperaturanstieg erfolgte, und die eine Berechnung von Q ermöglichten. Dies war 4 mal bei unbefruchteten, 1 mal bei befruchteten Eiern der Fall. Q hatte dann die Normalgröße. Einmal fand

auch scheinbar ein linearer Anstieg statt, Q war aber erheblich zu klein. Dieser Versuch gehört daher zu den irregulären. Während bei den erstgenannten Versuchen die Anstiegskurve keine Besonderheiten enthält (es fehlen sogar die sonst gelegentlich aufgezeichneten schwachen Wellenanstiege) und ihre Abbildung daher unterbleiben kann, teile ich für die zweiten Versuche einige solche Kurven mit.

1. Reguläre Versuche.

37. Unbefruchtete Eier in hypertotonischer Lösung: 2,3% NaCl (auf 100 ccm Seewasser 1,6 bis 1,8 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH).

Eier eingeteilt 2^{20} 1 : 5.

Sauerstoffversuch: 2^{20} bis 3^{20} . Gesamtabnahme 7,2 Na-Thiosulfat. Titer 0,0655 mg O_2 . In der 5fachen Menge 2,36 mg O_2 verbraucht.

Wärmeversuch: 2^{18} in hyperton. Lösung gefüllt.

Beginn 2^{41} : 18,928° Thermostat: 19,00—19,01°;

3^{41} : 18,958° korr. Anstieg 0,028° in 1 St.

235 ccm hyperton. Seewasser, spez. Wärme zu 0,94 gerechnet = 221 ccm Wasser + 24 = 245 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 6,85 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{6,85}{2,36} = 2,9.$$

Kj. 122,2 $\frac{1}{10}$ - NH_3 = 171 mg N.

140 mg N geben 5,6 cal.

Die absolute Atmungsgröße ist also etwa 6 bis 7 mal so groß wie die normale.

Kontrolle: Viele Eier haben Membranen gebildet, im übrigen sind die Zellen normal. Doch cytolysieren sie alsbald, in Seewasser zurückübertragen; einige furchen sich auch alsdann.

38. Unbefruchtete Eier in hypertotonischer Lösung: 3,5% NaCl (auf 100 ccm Seewasser 2,4 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH).

Eier 2^{60} in hyperton. Lösung 3,5% gebracht. 3^{20} eingeteilt 1 : 4.

Sauerstoffversuch: 3^{21} bis 5^{11} (90 Min). Gesamtabnahme 6,49 Na-Thiosulfat. In 1 Stunde 4,32. Titer 0,0788. In 4facher Menge 1,36 mg O_2 verbraucht.

Wärmeversuch. 4^{18} : 18,908—085° Thermostat: 18,98—18,99°;

5^{20} : 18,932—35° korr. Anstieg 0,0213° in 80 Min., 0,016° in 1 St.

235 ccm hyperton. Seewasser, spez. Wärme = 0,925 gerechnet = 217 ccm Wasser = 241 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 3,86 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{3,86}{1,36} = 2,8 \text{ bis } 2,85.$$

Kj.* 50 $\frac{1}{10}$ - NH_3 = 70 mg N.

140 mg N geben ca. 7,5 cal.

39. Unbefruchtete Eier in hyperton. Lösung: 4,3% NaCl.

Eingeteilt 55 : 240.

Sauerstoffversuch: 3¹⁵ bis 4¹⁶. Gesamtabnahme 10,0 Na-Thiosulfat.

Umgerechnet auf die Menge des Wärmeversuchs 45,5. Titer 0,0655 mg

O₂. 2,98 mg O₂ verbraucht bei 19,2°. Bei 19,0° 2,92 mg O₂.

Wärmeversuch. Eingefüllt 3⁴⁶.

4⁰⁰: 18,9975°

Thermostat: 18,99—19,005°;

5¹⁰: 19,031°

korr. Anstieg in 70 Min. 0,0363°

oder 0,031° in 1 St.

237 ccm hyperton. Lösung = 0,92 spez. Wärme gerechnet.

218 ccm Wasser = 242 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 7,5 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{7,5}{2,92} = 2,55 - 2,6.$$

Kj.: 76,7 %₁₀-NH₃ = 107,5 N.

Auf 140 mg N sind 9,8 cal. erzeugt.

Diese 3 Versuche mit unbefruchteten Eiern in hypertonischen Lösungen geben also eine gute Übereinstimmung.

Lösung 2,3%, Q = 2,9 auf 140 mg N 5,6 cal. (ca. 7mal normal).

Lösung 3,5%, Q = 2,8—2,85: auf 140 mg N ca. 7,5 cal. (ca. 9mal normal).

Lösung 4,3%, Q = 2,55—2,6: auf 140 mg N ca. 9,8 cal. (ca. 11mal normal).

40. Hieran reihe ich noch einen 4. Versuch, der den vorigen entspricht.

Unbefruchtete Eier in hypertonischer Lösung 3,5%. Geteilt 1 : 3.

Sauerstoffversuch: 3⁰⁴ hyperton. Lösung aufgegonnen. Versuch 3²⁰ bis 4²⁰. Gesamtabnahme 8,07 ccm Na-Thiosulfat. Titer 0,0706 mg O₂.

In der 3fachen Menge 1,71 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch: 3¹⁸ in hyperton. Lösung gebracht.

Beginn 3²⁸: 19,065° Thermostat: 18,975—19,01°; meist 18,99°.

4²⁸: 19,080—805°

4³²: 19,0845°

In 75 Min. korr. Anstieg 0,0227°.

In 1 Stunde 0,0182° gestiegen.

235 ccm Seewasser, 0,925 spez. Wärme = 241,5 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 4,40 cal. gebildet.

$$Q = \frac{4,40}{1,71} = 2,55 \text{ bis } 2,6.$$

N nicht bestimmt.

Endlich folgt der einzige „reguläre“ Versuch mit befruchteten Eiern:

41. Befruchtete Eier in hypertonischer Lösung 2,3% NaCl.

Eier befruchtet 12⁴⁶. Bis 3⁰⁰ in Schalen stehen gelassen. Eingeteilt 1 : 3.

Sauerstoffversuch: 3¹⁴ hyperton. Seewasser aufgegonnen. Versuch 3²⁰ bis 4²⁰. Gesamtabnahme 6,55 Na-Thiosulfat. Titer 0,078 mg O₂.

In 3facher Menge 1,44 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch: 3²⁰ hyperton. Seewasser aufgegossen.

Beginn 3²⁰: 18,979° Thermostat: 18,985—19,05°; für 6 Min.

4²⁰: 18,995—996° (4¹¹ bis 4¹⁷) fällt die Temp. bis auf

4²¹: 19,000° 18,96° wegen Versagens der Rührung.

Anstieg (ohne Korr.) pro St. 0,0168°.

Zum Vergleich mit den folgenden irregulären Anstiegen ist die Anstiegskurve abgedruckt.

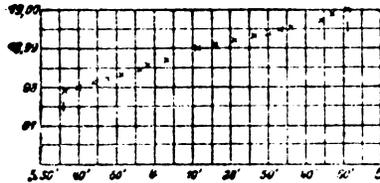


Fig. 6.

235 ccm hyperton. Seewasser, spez. Wärme 0,94 = 221 ccm Wasser = 245 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 4,12 cal. gebildet.

$$Q = \frac{4,12}{1,44} = 2,85.$$

Kj.: 62,8 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 74 mg N.

140 mg N geben 7,8 cal.

Die absolute Größe ist also sehr gering und wenig über die Norm gesteigert. Vielleicht erklärt das das reguläre Verhalten der Atmung, während alle anderen Versuche mit befruchteten Eiern Irregularitäten zeigten. Q im Mittel von 5 Versuchen = 2,75,

2. Irreguläre Versuche.

42. Unbefruchtete Eier in hyperton. Lösung 3,5%. Függestillt 1:4.

Sauerstoffversuch: 3²⁵ hyperton. Lösung aufgezogen. Versuch 3⁴⁷ bis 4⁴⁷. Gesamtabnahme 7,14 Na-Thiosulfat. Titer 0,970 mg O₂. In Menge des Wärmeversuchs verbraucht pro Stunde 2,00 mg O₂.

Wärmeversuch: 3²⁵ in hyperton. Lösung gebracht.

Beginn 4⁰⁰: 18,964° Thermostat: 18,96° (± 0,00°).

4¹⁰: 18,964°

5¹⁰: 18,993°

5²⁰: 19,001°

Korr. für die erste Stunde — 0,0005°.

235 ccm Seewasser, 0,925 spez. Wärme. 241,5 ccm Gesamtwasserwert.

Die Kurve ist abgebildet (Fig. 7.) Die gebildeten Calorien pro Stunde sind natürlich verschieden, je nach dem Abschnitt, den man rechnet.

Von 4¹⁰ bis 5¹⁰ (und ebenso von 4⁰⁰ bis 5²⁰, weil bis 4¹⁰ das Thermometer nicht stieg) beträgt der korr. Anstieg 0,0367°, entsprechend 0,0285° pro Stunde; genau so groß ist der korr. Anstieg 4¹⁰ bis 5¹⁰;

dann ist also die Steigerung regelmäßig. In dieser Zeit werden demnach pro Stunde 6,87 cal. gebildet. Würde man den Atmungsversuch auf diesen Abschnitt beziehen (2,00 mg O_2), so würde $Q = 3,3$ werden. Daraus geht also mit Sicherheit hervor, daß man nicht nur einen früheren Abschnitt zum Vergleich wählen muß (das ist ja schon durch die Zeitangaben von selbst gegeben), sondern daß auch entsprechend dem nicht angestiegenen Temperaturverlauf in den ersten 20 Minuten

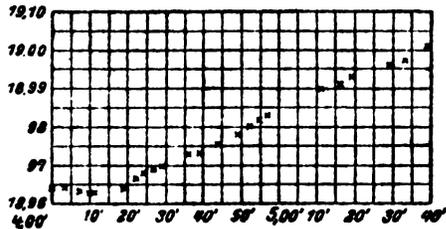


Fig. 7.

die Atmung geringer gewesen sein muß oder gefehlt hat. Die horizontale Strecke der Temperaturkurve muß also sicherlich wenigstens teilweise durch mangelhafte Atmung bedingt sein. (Der dazwischenliegende Temperaturabfall erreicht in diesem Fall nur die Fehlergrenze.) Wird nun die erste Stunde allein berechnet 4⁰⁰ bis 5⁰⁰ (4⁵⁷) so ist in 57 Min. korr. Anstieg $0,0185^\circ = 4,47$ cal.; oder in 1 St. 4,7 cal. Dann ist $Q = 2,3$ also entschieden zu klein. Es entspricht also irgend ein Zwischenstück dem Sauerstoffversuch; oder es finden am Anfang neben Atmungsdefekten noch irgendwelche endothermen Prozesse statt.

43. Unbefruchtete Eier in hypertonscher Lösung 2,3% NaCl. Geteilt 1:3. Sauerstoffversuch: 2⁵¹ hypertonsche Lösung aufgegonnen. Versuch 3⁵¹ bis 4⁵¹.

Gesamtabnahme 12,3 ccm Na-Thiosulfat. Titer 0,0706 mg O_2 . In 3facher Menge 2,61 mg O_2 Gesamtabnahme.

Wärmeversuch: 3⁰⁴ in hyp. Seewasser gebracht.

Beginn 3⁴⁰: 19,025° Thermostat: ($\pm 0,00^\circ$).

4⁵⁷: 19,049° korr. pro St. $+ 0,0012^\circ$.

4⁴⁵: 19,042°.

Sauerstoff eingeleitet. Neubeginn 5⁰⁶. Siehe hierzu die Temperaturkurve (Fig. 8.)

235 ccm hyp. Seewasser. 245 ccm Gesamtwasserwert.

Wird nur der Anstieg gerechnet, so ist die Temperatur in 57 bzw. 50 Minuten um korr. $0,0252^\circ$ gestiegen, was 6,17 cal. entspricht. Pro Stunde sind je nachdem 6,5 oder 7,4 cal. gebildet.

Q danach 2,5 oder 2,85, wobei jedenfalls der zweite Wert der richtigere ist. Dagegen lassen sich die Temperaturabstürze, der zweite $0,011^\circ$, gar nicht einordnen und nur sehr schwer verständlich machen.

Genau dieselben sind jedoch auch bei befruchteten Eiern in hypertonschen Lösungen festgestellt. — Weitere Versuche mit unbefruchteten

Eiern teile ich nicht mit. In einem Fall ergab ein scheinbar homogen ansteigender Temperaturverlauf (hypertonische Lösung 4,3% NaCl) gegen den Sauerstoffversuch $Q = 2,2$ bis 2,1. Alle übrigen waren auch irregulär.

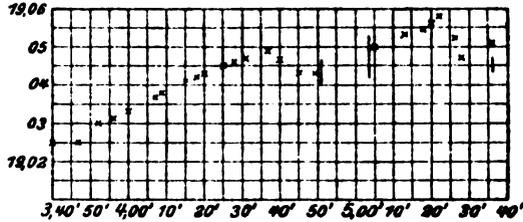


Fig. 8.

44. Befruchtete Eier in hyp. Lösung 2,3% NaCl. Dieser Versuch hat Ähnlichkeit mit 42.

Befruchtet 12²². 1⁰² geteilt 1:5.

Sauerstoffversuch 2⁶² bis 3⁶². 3,6 Na-Thiosulfat Gesamtabnahme (Titer 0,0655 mg O₂). In 5facher Menge 1,18 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch 3⁶² in hyp. Lösung.

Beginn 3¹⁶: 18,912° Thermostat: 19,00°—19,005°.

3³⁷: 18,912° korr. — 0,0025°.

4⁴²: 18,938°.

220 ccm hyp. Seewasser. 0,94 spez. Wärme. 230 ccm Gesamtwasserwert.

Während der Zeit 3³⁷ bis 4⁴² korr. Anstieg 0,0235° in 66 Min. (für 3¹⁶ bis 4⁴² 0,0225°, weil korr. — 0,001° für die ersten 20 Min.).

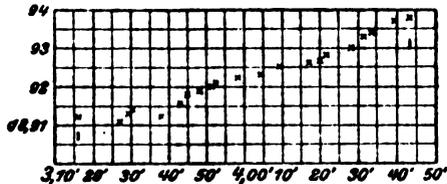


Fig. 9.

In 66 Min. 5,4 cal., in 60 Min. 4,9 cal. erzeugt. Q wäre dann 4.

3¹⁶ bis 4¹⁷ korr. Anstieg 0,011° oder 2,53 cal. Q wäre 2,1.

Also wieder wie in Nr. 42 ist irgend ein Zwischenstück mit dem Sauerstoffversuch in Parallele zu setzen. Es gelänge natürlich leicht, ein solches zu finden, für das Q gerade 2,8 wäre; aber eine solche Rechnung wäre selbstverständlich ohne Bedeutung.

Kj.: 49,2 $\frac{1}{10}$ -NH₃ = 68,9 mg N. Für 140 mg N also die doppelten obengenannten Zahlen.

45. Befruchtete Eier in hyp. Lösung 2,3%. Dieser Versuch ist Nr. 43 ähnlich.

Eier 12⁴ befruchtet. Geteilt 4:1. Sauerstoffversuch 2⁵⁰ bis 3⁵⁰. 4,63 Gesamtabnahme. Titer 0,0655 mg O₂. In der 4fachen Menge 1,21 mg O₂ verbraucht.

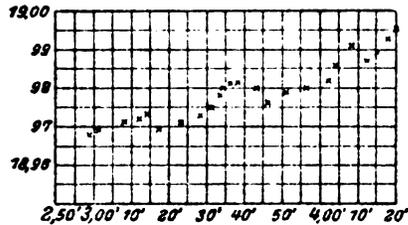


Fig. 10.

Wärmeversuch 2¹³ hyp. Lösung aufgegossen.

Beginn 2⁵⁰: 18,958° Thermostat: 18,99—19,00°.

4⁵⁰: 18,995° Zwischentemperaturen a. Kurve.

Korr. Anstieg in 1 St. 21 Min. 0,0265°.

Pro Stunde 0,0197°. 236 ccm hyp. Seewasser. 246 ccm Gesamtwasserwert.

Pro Stunde 4,85 cal. erzeugt. Q wäre danach 4.

Dagegen ist der korr. Anstieg der ersten Stunde allein 0,013°, dies ergäbe 3,2 cal. $Q = 2,65$, also innerhalb der Fehlergrenzen richtig.

Die Temperaturkurve zeigt alle 30 Minuten Tiefpunkte, die ich nicht anders als durch endotherme Prozesse zu erklären weiß.

Kj.: 52,3 %₁₀-NH₃ = 73,2 mg N. Absolut war also die Sauerstoffatmung ebenso groß wie im vorigen Fall.

46. Befruchtete Eier in hyp. Lösung 2,3% NaCl.

In diesem Fall fand kein Zurückgehen der Temperatur, aber ein rapides Ansteigen statt, das zu dem Sauerstoffverbrauch nicht paßt; allerdings war der Zeitvergleich ungenau.

Eier befruchtet 2⁴². Eingeteilt 1:5.

Sauerstoffversuch 3²⁸ bis 4¹² (3/4 St.). 3,43 ccm Gesamtabnahme, oder 4,7 in 1 Stunde. Titer 0,0655 mg O₂. In 1 Stunde 1,55 mg O₂ verbraucht.

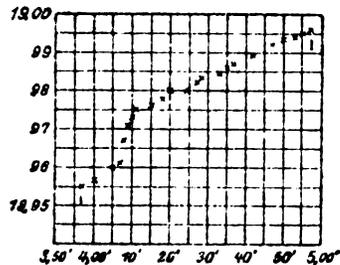


Fig. 11.

Wärmeversuch 3^{tes} hyp. Lösung aufgegossen.

Beginn 3⁵⁷: 18,955° Thermostat: 18,99—19,00°.

4⁵⁷: 18,996° korr. Anstieg 0,0405° in 1 St.

227 ccm hyp. Seewasser 0,94 spez. Wärme. 237 ccm Gesamtwasserwert. In 1 Stunde 9,6 cal. gebildet. Q wäre danach 6. Aber auch ohne den steilen Anstieg wäre Q erheblich zu groß.

Kj.: 80,0 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 112 mg N. Also auch absolut ist der Sauerstoffverbrauch hier recht klein; und wenig mehr als bei normaler Entwicklung 1 Stunde nach der Befruchtung. Auch reicht der Zeitunterschied, der allerdings ein so genaues Versuch nicht ermöglichen würde, nicht aus, die große Differenz beider Versuche zu erklären.

g) Andere Versuche mit Seeigeleiern.

Es wurden zwar noch verschiedene andere „kombinierte Atmungsversuche“ mit Seeigeleiern gemacht, in solchen Lösungen, bei denen O. Warburg eine besondere Steigerung des Sauerstoffverbrauchs festgestellt hatte, in reinen NaCl-Lösungen, Seewasser mit Metallsparan, „alkalischen Salzlösungen“, aber ich verfüge über keine einwandfreien exakten Versuchserien hiervon. Da nur äußerst sorgfältige Versuche überhaupt benutzt werden können und da die zu erwartenden Differenzen nur minimal sind, so ist es auch nicht von großer Bedeutung, daß ich aus den verschiedenen Versuchen mit den genannten Lösungen entnehmen kann, daß die Größenordnung der Wärmetönung der Oxydationen in diesen Fällen jedenfalls die gleiche ist, wie die bisher gefundene (zwischen 2 und 4 liegt).

Hier sind noch die Versuche anzufügen, die über die für die Oxydation in Betracht kommenden Zeilsubstanzen gemacht sind. Eine genaue Fettbestimmung in den Eiern nach der Methode von Kumagawa und Sato verdanke ich der freundlichen Hilfe des Herrn Dr. Graf v. Schönborn, dem ich auch hier dafür herzlich danke.

47. Eier befruchtet. Geteilt 1:4. $\frac{1}{8}$ verascht nach Kjeldahl gibt 29,0 $\frac{2}{10}$ -NH₃ = 40,6 mg N. Die $\frac{4}{8}$ werden absitzen gelassen und kräftig zentrifugiert. Der Eier-Seewasserbrei willkürlich geteilt, 21,341 g werden zur Fettbestimmung, 4,0005 g zur Bestimmung der Trockensubstanz benutzt. Nachher wird alles einheitlich umgerechnet.

Es wurde genau nach der Originalvorschrift verfahren. Der getrocknete Ätherextrakt betrug 0,313 g. Die unverseifbaren Substanzen werden mit Petroläther entfernt, sie betragen 0,945 g.

In der andern Portion wurde 0,460 g Trockensubstanz (mit Gewichtskonstanz) gefunden; davon ließ sich 0,135 g Asche als Sulfat ge-

winnen. Umgerechnet von Na_2SO_4 auf NaCl (was ja mit großer Annäherung zutreffen wird, weil es sich größtenteils um Seewasserbeimengungen handelt) entspricht dies 0,1116 g NaCl .

Also ist 0,385 g aschenfreie Trockensubstanz vorhanden.

Umgerechnet ergibt sich: auf 2,21 g aschenfreie Trockensubstanz 162,4 mg N und 0,375 g „Ätherextrakt“; von letzterem sind 0,0635 g unverseifbare Substanzen; 0,3225 g freie Fettsäuren und entsprechend 0,327 g verseifbares Fett.

Auf 140 mg N also 1,906 g Trockensubstanz,

0,282 g Fett,

0,046 g unverseifbare Substanzen im Ätherextrakt.

Außerdem wurde eine, nur der Größenordnung nach zutreffende Volumenbestimmung der Eier gemacht, was ursprünglich für eine Ermittlung ihrer spezifischen Wärme dienen sollte. 6,5 ccm zentrifugierter befruchteter Eier, die noch ihre Form gut bewahrt hatten und mit etwas Seewasser vermischt waren, ergaben 57,5 mg N. Eier, die 140 mg N enthalten, nehmen also jedenfalls erheblich weniger als 16 ccm Volumen ein. (Nach Wetzel beträgt der Wassergehalt der Eier von *Strongylocentrotus lividus* 75%; danach müßten sie also auf Grund obiger Zahlen nur etwa 6 bis 8 ccm Volumen einnehmen, was auch zutreffen kann.)

Zu den Versuchen über den Ammoniaknachweis im Seewasser vgl. Tiemann-Gärtner, Handbuch der Untersuchung und Beurteilung der Wässer. Die Mg- und Ca-Salze müssen durch reichliche Mengen Na_2CO_3 und NaOH ausgefällt werden, und vom Niederschlag abfiltriert werden.

Auch dann sind die Versuche im Meerwasser nicht exakt, erstens weil doch eine geringe Trübung mit Neblers Reagens auftritt, was die colorimetrische Beurteilung erschwert, zweitens weil im Meerwasser immer schon NH_3 -Spuren vorhanden sind. Ersteres läßt sich vermeiden, wenn man über MgO abdestilliert¹⁾, letzteres wenn man künstliche Salzlösungen benutzt. Da aber meine Versuche bezüglich der Zunahme des Ammoniaks (auch nach Kochen mit HCl) negativ waren, habe ich diese genauen Versuche nicht angestellt. Doch könnten sie jedenfalls quantitativ viel exaktere Aufschlüsse über einen etwaigen Eiweißabbau in den Seeigeln geben, bzw. die Größe derselben noch viel weiter einsengen imstande sein. Einigermaßen geschieht dies z. B. schon durch das folgende Experiment: Das von dem 11-Stundenversuch (10) abgeheberte Seewasser wird geteilt zu je etwa 75 ccm. Die eine Hälfte wird sogleich mit 6 ccm Na_2CO_3 und NaOH versetzt, die andere mit HCl gekocht; dann mit NaOH im Überschuß und Na_2CO_3 versetzt. Die Niederschläge werden abfiltriert und dann in beiden der Gehalt an NH_3 mit Ammoniaktestflüssigkeit in Hehnerschen Zylindern mit Neblers Reagens verglichen.

Die Testflüssigkeit besaß 0,2 mg NH_3 im Kubikzentimeter. Davon waren 2 ccm erforderlich, also im ganzen 0,4 mg NH_3 , um ungefähr im

¹⁾ Vgl. Schürmann, Tiemann-Gärtners Handbuch, 4. Aufl., S. 131.

80 ccm Wasser eine ähnliche Färbung zu erzeugen, wie sie in gleicher Menge Seewasser auftrat. Dies war auch ungefähr bei dem letzten Waschwasser der Seeigeleier zugefallen, das in gleicher Menge wie die Versuchsflüssigkeit gewählt war und ca. $\frac{1}{2}$ Stunde über den Seeigeleiern gestanden hatte. Es ist also wahrscheinlich in den 11 Stunden gar kein N in das Seewasser gegangen (die mit HCl gekochte Menge war entsprechend der etwas größeren Verdünnung heller; jedenfalls war durch das Kochen mit HCl auch kein NH_3 mehr entstanden) maximal könnten aber nur gegen 1 mg NH_3 entstanden sein, weil annähernd soviel in dem Versuchseewasser vorhanden war.

Es war berechnet, daß in den 11 Stunden etwa 80 Calorien gebildet sind; dies entspräche bei Eiweißverbrennung etwa 14 mg Eiweiß oder 2 bis 3 mg NH_3 . Es ist also sicherlich weniger als $\frac{1}{3}$ der positiven Wärmetönung durch Eiweißzerfall bedingt.

Für die Färbung der Eier mit Sudan wurden von einer Zucht während 12 Tagen, anfangs fast stündlich, später täglich eine Menge entnommen, mit Formol getötet und fixiert, in Alkohol gebracht und dann mit Sudan gefärbt. Während der ersten Stadien inkl. des Blastulastadiums sieht man keine Veränderung der Rotfärbung und auch bei den Gastrulen und erstem Pluteenzustand ist es jedenfalls ganz unklar. Erst bei den Skelettpluteen sammelt sich der Farbstoff nur an einzelnen Stellen an, die ganzen Tiere erscheinen heller. Eine große Beweiskraft kommt aber diesen Versuchen nicht zu. Doch ist offenbar die starke Aufhellung der Larven schon im Blastulastadium auch auf eine Abnahme der Fettsubstanz zu beziehen.

Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen Oxydationsvorgänge in Eiern. III.

Von

Otto Meyerhof.

(Aus der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 9. Juli 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

Versuche am Samen von *Strongylocentrotus lividus*, an Eiern und Larven von *Aplysia limacina*.

1. Versuche am Samen von *Strongylocentrotus lividus*.

Für die Sauerstoffbestimmungen ist zu bemerken, daß die Titration nach Winkler wegen der organischen Substanz Fehler geben kann. Diese werden geringer, wenn man nach dem Ansäuern etwas wartet, worauf Herr Warburg mich aufmerksam machte. Über ihre Größe habe ich mich jedesmal dadurch versichert, daß ich eine gleiche Portion Samen sofort nach Aufguß des Bestimmungswassers titrierte; gab dies, wie häufig, eine Differenz von 0,1 bis 0,3 ccm gegen den Sauerstoffgehalt des reinen Bestimmungswassers, so wurde der Wert mit Samen als Ausgangsgröße genommen. Natürlich kommt dadurch eine Unsicherheit in die Bestimmung. Dies wäre bei der Titration nach Schützenberger vermieden¹⁾, aber diese Methode ist doch zu umständlich, um sie gleichzeitig neben der Wärmemessung ausführen zu können. — Die Wärmemessung am Samen dagegen ist genauer, weil man nicht zu schütteln braucht und die Ballanordnung wegfallen kann. Die Thermostatenkorrektur ist dann 3,0%. Dagegen muß man schnell bis zur Einfüllung verfahren, damit der Samen nicht vorher an Sauerstoff verarmt. Während nämlich die Eier in Abwesenheit von Sauerstoff weiter leben, ja unter zahlreichen, durch J. Loeb bekannt gewordenen Umständen dadurch länger konserviert werden, als bei Gegenwart von Sauerstoff, geht der Samen bei Sauerstoffarmut rasch zugrunde. Aber auch das Durchleiten reinen

¹⁾ Vgl. Henze in Abderhaldens Handbuch d. biochem. Arbeitsmethoden 3, 2, 1070.

Sauerstoffs schädigt denselben sehr bald, so daß er nachher agglutiniert und schneller abstirbt als die freistehenden Kontrollen.

Außerdem wurde beim Durchleiten von Sauerstoff häufig eine nicht recht erklärbare vermehrte Wärmebildung gefunden, die davon herrühren könnte, daß die Bewegung der Spermatozoen, sei es durch das Umwirbeln der Flüssigkeit, sei es durch die Gegenwart von freiem Sauerstoff, vermehrt ist und dies die Verbrennungen steigert. NB. merke ich hier an, daß sonst natürlich das Umschütteln, Rühren usw. niemals so stark war, daß eine meßbare Wärmemenge dadurch erzeugt werden konnte, und ebenso gab das Durchleiten gut temperierten Sauerstoffs durch reines Meerwasser niemals eine erkennbare Wärme.

Bei den meisten und genaueren Experimenten wurde so verfahren, daß aus einer starken Samenaufschwemmung mit einer Pipette eine abgemessene Menge (5 oder 10 ccm) Samen in das mit O₂-gesättigtem Meerwasser gefüllte Dewargefäß eingespritzt wurde (durch das Sauerstoffleitungsrohrchen), und je ein aliquoter Teil (2 oder 2,5 ccm) in zwei Versuchsfaschen, wovon der eine zur sofortigen Titration nach Aufguß des Bestimmungswassers — mit etwas CNK vergiftet —, der andere zur Atmung diente. Außerdem wurde das Bestimmungswasser rein titriert. Vor allem mußten die Zeiten gut übereinstimmen wegen des zeitlichen Abschwächens der Atmung.

Für die absoluten Größen wurde eine Probe mit Osmiumdämpfen fixiert und in der Zeißschen Kammer gezählt. Erst zu spät kam ich dazu, dies ebenso ungenaue wie lästige Verfahren durch die Veraschung nach Kjeldahl zu ersetzen (natürlich wird eine andere Menge der konzentrierten Samenlösung — der der Versuchsmenge verascht). Auch habe ich nicht mehr Erfahrungen darüber sammeln können, ob das Ver-

hältnis $\frac{\text{Zahl}}{\text{Stickstoff}}$ konstant ist. — Anfangs sind sehr viel Experimente mit Samen mißraten, weil zu viel genommen wurde, da erstens die Zahl sehr schwer aus der Intensität der Weißfärbung abzuschätzen ist; ferner waren die von Warburg angegebenen Zahlen zu hoch, was alsbald aus den Wärmemessungen bemerkt wurde, und endlich gibt das Material dazu Anlaß, weil ein einzelnes gut gefülltes Männchen 5 bis 10mal so viel Samen enthalten kann, als zu einem Versuche hinreicht.

Für die Deutung der auftretenden Wärmetönung brauche ich wohl nicht dem Mißverständnis entgegenzutreten, als ob die Bewegung der Spermatozoen wegen der für sie aufzuwendenden Arbeit den zu erhaltenden Betrag der Oxydationswärme verringern, oder dem umgekehrten, daß die Bewegung infolge der erzeugten Reibungswärme einen Mehrbetrag über die Oxydationswärmen der verbrennenden Substanzen liefere. Bekanntlich sind diese beiden Beträge nach dem ersten Hauptsatz der Thermodynamik gleich. Soviel chemische Energie sich erst in kinetische, anstatt unmittelbar in Wärme verwandelt, erscheint in der Reibungswärme vollständig wieder. Es fehlt nur die kinetische Energie, die im Schlußaugenblick noch vorhanden ist — sich noch nicht in Wärme umgewandelt hat —, ebensoviel ist aber auch im Anfangs-

moment hineingebracht. Diese natürlich nur differentielle Größe spielt also schon aus dem Grunde keine Rolle.

Übrigens könnte man über diesen unmeßbar kleinen Betrag beim Tod der Spermatozoen noch einen größeren finden, wenn dem Lebensprozeß als solchem noch ein physiologisches Energiepotential zukäme, das sich im Moment des Todes in Wärme verwandeln müßte. Infolge einer gelegentlichen mündlichen Mitteilung des Herrn Warburg, daß beim Tode von Spermatozoen eine solche Wärmetönung auftreten könnte, kam ich darauf, zu probieren, ob man bei Vergiftung des Spermas durch Einspritzen einiger Tropfen konz. CNK einen Temperaturanstieg fände. Dies ist jedoch nicht der Fall. Dem Tod kommt keine meßbare Wärmetönung zu, und daher auch dem Lebensprozeß kein auf solche Weise erkennbares Energiepotential¹⁾.

a) Bloße Wärmeversuche.

48. Ganz frischer Samen, 6²⁸ ins Dewargefäß gefüllt; Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 6 ²⁸ : 18,955°	Thermostat: 18,98° (+ 0,00)°.
7 ⁰⁸ : 19,001°	0,046° in 30 Min. gestiegen.

Sauerstoff eingeleitet:

7 ¹⁶ : 19,010°	0,0205° (korr.) in 20 Min.
7 ³⁶ : 19,030°	

224 ccm Seewasser. 239 Gesamtwasserwert.

Nach der ersten Moesung 22,9 cal. in 1 Stunde — aber rasch nachlassend (schon die letzten 10 Minuten der ersten 1/2 Stunde geringerer Anstieg, wohl Schädigung durch das Sauerstoffdurchleiten, vielleicht auch durch Sauerstoffarmut).

Zahl: 60 Milliarden (107 gezählt). 10 Milliarden geben 3,8 cal. pro Stunde.

49. Frischer Samen. Sauerstoff eingeleitet 11²⁰.

Beginn 11 ²⁰ : 19,011°	Thermostat: 18,97—18,98°.
-----------------------------------	---------------------------

12 ²⁰ : 19,027°	Korr. Anstieg 0,175° pro St. (genau, nach
11 ² : 19,035°.	beiden Intervallen).

225 ccm Seewasser. 240 Gesamtwasserwert.

In 1 Stunde 4,2 cal.

Zahl: 9,8 Milliarden (219 gezählt). 10 Milliarden geben 4,3 cal. pro Stunde.

50. Samen entnommen 5²⁰. Kurze Zeit Sauerstoff eingeleitet (5⁰⁰ bis 5⁴⁵).

Beginn 5 ⁴⁷ : 19,015°	Thermostat: 18,995°.
----------------------------------	----------------------

6 ⁰⁰ : 19,049°	korr. Anstieg in 21 Min. 0,0344°.
---------------------------	-----------------------------------

¹⁾ Im Chem. Centralbl. 1, 930, 1897 findet sich ein Referat einer Arbeit von Loew, Tokio, der hiernach behauptet, der Übergang von lebendem zu totem Protoplasma sei mit Wärmeerzeugung verbunden. Es ist leider nicht angegeben, ob diese Behauptung sich auf Versuche stützt, und auf welche.

Demnach in 1 St. 0,098° Anstieg.

230 ccm Seewasser. 245 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 24,1 cal. erzeugt.

Zahl 55 Milliarden (79 gezählt). 10 Milliarden geben 4,4 cal. pro St.

51. Frischer Samen, geteilt 50:25 ccm. 25 ccm in offener Schale stehen gelassen.

50 ccm ins Wärmegefäß

Beginn 11⁵⁰: 18,930°

12⁵⁰: 18,967°

Sauerstoff eingeleitet.

Thermostat: 19,00—19,005°.

korr. Anstieg: 0,0355° in 1 St.

Neubeginn 1¹⁰: 18,975°

2⁴⁰: 18,989°

Thermostat: 19,00—18,995°.

korr. Anstieg: 0,0134° in 1½ St.

235 ccm Seewasser. 249,5 ccm Gesamtwasserwert.

In 1 St. erzeugt 8,85 cal. (In 2 und 3 St. je 2,2 cal.)

Die zurückgestellten 25 ccm eingefüllt 4⁰⁰.

Neubeginn 4¹⁰: 19,084°

5⁴⁰: 19,098°

Thermostat: 19,00—19,005°.

korr. Anstieg: 0,018° in 1½ St.
0,012° in 1 St.

235 ccm Seewasser. 249,5 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 2,99 cal. erzeugt.

In 50 ccm befanden sich 19,0 Milliarden (gezählt 403 und 215), in 25 ccm also halb soviel. Es ergeben also 10 Milliarden unmittelbar nach der Entnahme 4,65 cal; von der gleichen Mischung 10 Milliarden 4½ Stunden nach der Entnahme 3,15 cal. pro Stunde. Dagegen gaben die zu dem ersten Versuch dienenden in den darauf folgenden beiden Stunden auf 10 Milliarden nur 1,15 cal. Aus diesem Versuch geht also hervor, was wiederholt bestätigt wurde, daß ein „physiologisches“ Nachlassen der Atmung bei Spermatozoen stattfindet, das mit verschiedener Geschwindigkeit nach der Hodenentnahme eintritt; aber auch, daß die Versuchszellen selbst immer stärker geschädigt sind, als das in offenen Schalen stehende Sperma derselben Entnahme. Worauf das liegt, ist nicht ganz klar. Da das später gelegentlich auch dann eintrat, wo kein Sauerstoff während des Aufenthalts des Spermas im Gefäß durchgeleitet wurde, kann man hier nur entweder den zu hohen — oder auch den in späterer Zeit immer möglichen — zu geringen Sauerstoffgehalt für diesen auffälligen Unterschied in Anspruch nehmen.

Ferner sieht man aus den bisher mitgeteilten wie aus den folgenden

Versuchen, daß ungefähr bei frischem Sperma die Beziehung $\frac{\text{cal.}}{\text{Zahl}}$ von

gleicher Konstanz ist wie bei Eiern $\frac{\text{cal.}}{N}$. Die größten Variationen sind ungefähr 30 bis 40%; das hängt jedenfalls von zufälligen Umständen ab, da fast immer nicht jedes Spermatozoon einer Aufschwemmung beweglich oder lebend ist.

b) Kombinierte Atmungsversuche.

52. Frischer Samen geteilt 1:5 (2 und 10 ccm).

2 ccm für Sauerstoffversuch (und 2 ccm für Kontrolltitration, vergiftet).

Atmung 3⁵⁵—4⁵⁵. Gesamtabnahme 14,6 Na-Thiosulfat. Titer 0,0655 mg O₂.In fünffacher Menge 3,80 mg O₂ erzeugt.Wärmeversuch 4¹⁹: 19,001° Thermostat: 19,00—19,01°.5¹⁹: 19,0515° korr. Anstieg: 0,051°.

228 ccm Seewasser. 243 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 12,4 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{12,4}{3,80} = 3,25.$$

Zahl: 33,5 Milliarden (228 gezählt). 10 Milliarden geben 3,7 cal.

53. Samen 2⁵⁵ entnommen. Teilung 2:5.Sauerstoffversuch 3³¹ bis 4³¹. Gesamtabnahme 9,2 Na-Thiosulfat. Titer 0,0655.In $\frac{5}{2}$ Menge also 1,51 mg O₂ verbraucht.Wärmeversuch 3²³: 19,099° Thermostat: 18,99—18,995°.4²³: 19,114° korr. Anstieg: 0,0185°.(4³⁰: 19,117°) (aus 67 Min. 0,0195, weniger genau).

235 ccm Seewasser. 249,5 ccm Gesamtwasserwert.

In 1 St. erzeugt 4,61 cal.

$$Q = \frac{4,61}{1,51} = 3,05.$$

Zahl: 9,6 Milliarden (247 und 205 gezählt). 10 Milliarden geben 4,8 cal.

54. Samen, ganz frisch. Geteilt 1,63:10,0 ccm.

Sauerstoffversuch mit 1,63 ccm 4¹³ bis 4⁴³. 6,35 Gesamtabnahme (nur reines Bestimmungswasser, titrierte Differenz also etwas zu groß!). In Menge des Wärmeversuchs $\bar{\approx}$ 39 Thiosulfat (Titer 0,072 mg O₂) $\bar{\approx}$ 2,8 mg O₂, in 1 St. 5,6 mg O₂.Wärmeversuch 4⁰⁸: 18,930° Thermostat: 19,00—19,01°4³⁸: 18,967—68° In 32 Min. korr. 0,0358° gestiegen.

In 1 St. 0,067°.

230 ccm Seewasser. 245 ccm Wasserwert. 16,4 cal. erzeugt in 1 St.

Samen nicht gezählt.

$$Q = \frac{16,4}{\bar{< 5,6}} > 2,95.$$

55. Samen 11³⁰ ausgenommen. Geteilt 2,6:10,0 ccm.Sauerstoffversuch 11⁵³ bis 12⁵³. Gesamtabnahme 6,3 Na-Thiosulfat (Titer 0,072 mg O₂). In Menge des Wärmeversuchs pro St. 1,74 mg O₂ verbraucht.Wärmeversuch 11⁴⁵: 19,046—465° Thermostat: bis 12⁴⁵: 19,005° (\pm 0,00°),12⁴⁵: 19,068°

dann 18,98°.

1¹⁰: 19,073°

korr. Anstieg 0,0232° (aus beiden Intervallen) pro St.

232 ccm Seewasser. 247 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 5,72 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{5,72}{1,74} = 3,3.$$

56. Samen ausgenommen 4⁰⁰. Geteilt 1:4.

Sauerstoffversuch: 4²⁶ bis 5²⁶. 6,4 Gesamtabnahme Na-Thiosulfat. (Titer 0,072 mg O₂.)

In Menge des Wärmeversuchs 1,85 mg O₂ verbraucht.

Wärmeversuch:

Beginn 4²⁰: 19,005° Thermostat: 18,99—1900°.

5²⁰: 19,030° korr. Anstieg in 1 St. 0,0256°.

230 ccm Seewasser. 245 ccm Gesamtwasserwert. 6,25 cal. in 1 St. erzeugt.

$$Q = \frac{6,25}{1,85} = 3,35 \text{ bis } 3,4.$$

57. Samen ausgenommen 11⁴⁰. Geteilt 2:5.

Sauerstoffversuch: 11⁵⁹ bis 12²⁰. 9,0 Gesamtabnahme Na-Thiosulfat. (Titer 0,074 mg O₂.)

In 2 $\frac{1}{2}$ facher Menge 1,70 mg O₂ verbraucht in $\frac{1}{2}$ St.

Wärmeversuch 12²⁴: 19,015° Thermostat: 18,99—19,00° [nachher 18,98°].

12²⁴: 19,037° korr. Anstieg 0,0225° in $\frac{1}{2}$ St.

[1⁰⁴: 19,054°] [berechnet aus 1 St. 0,0205° wegen

des Nachlassens der Atmung, doch ist zum Vergleich mit dem Sauerstoffversuch die erste halbe Stunde zu gebrauchen].

227 ccm Seewasser = 242 ccm Gesamtwasserwert.

In $\frac{1}{2}$ St. 5,45 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{5,45}{1,70} = 3,2.$$

In 1 St. 9,92 cal.

Zahl: 14,5 Milliarden (299 gezählt). 10 Milliarden geben in der ersten Stunde 6,85 cal. Diese Zahl ist ungewöhnlich hoch. (Falsche Zählung?)

Zusammengefaßt ergab sich (52) $Q = 3,25$. (53) $Q = 3,05$. (54) $Q > 2,95$. (55) $Q = 3,3$. (56) $Q = 3,35$ bis 3,4. (57) $Q = 3,2$. Dies ist angesichts der Unsicherheit bei der Winkler-Titration eine recht gute Übereinstimmung; abgesehen von dem sicherlich etwas zu kleinen Wert (54) ist die maximale Differenz nur 10%. Q im Mittel von 5 Versuchen = 3,24, darf also auf 3,2 bis 3,25 angenommen werden. Q red. für Samen also 3,05.

2. Versuche mit Eiern und Larven von *Aplysia limacina*.

Hatten schon die Versuche am Samen von *Strongylocentrotus* den Beweis geliefert, daß Zellen, die keine Nahrung aufnehmen, und sogar Zellen derselben Tiergattung: Spermia und Ei, einen verschiedenen calorischen Quotienten der Sauer-

stoffatmung haben, mithin die Oxydationsvorgänge bei beiden wesentlich verschieden sind, so war es von Interesse, bei den Eiern einer anderen Tierspezies — zugleich einem anderen Tierkreis angehörig — den calorischen Quotienten zu untersuchen, und zwar insbesondere bei größerer Dottermenge. Denn nicht so sehr ein vergleichend-physiologischer Gesichtspunkt (für den natürlich diese Wärmemessungen nicht genau genug wären), als der allgemein-physiologische war maßgebend, ob nämlich die Kleinheit des calorischen Quotienten mit dem Überwiegen der protoplasmatischen Vorgänge bei Seeigeleiern zusammenhänge. Je mehr die Verbrennung von Dottermaterial im Vordergrunde stände, um so mehr muß sich der calorische Quotient den Standardwerten von Fett-, Eiweiß- und Kohlenhydratverbrennung (3,2 bis 3,5) annähern.

Bei den Versuchen wurde so verfahren, daß dieselben Schläuche, die zum Wärmerversuch dienten, vorher oder nachher zum Sauerstoffversuch benutzt wurden. Dies konnte wegen der annähernden Konstanz der Atmung für nicht zu lange Zeiträume ohne Fehler geschehen, zumal häufig durch 2 Messungen vor und nach einem Parallelversuch diese Konstanz kontrolliert wurde. Insbesondere scheint sich bei schwimmenden Larven die Atmungsgröße nur noch wenig zu verändern, und die Versuche mit diesen zeigen daher eine erstaunlich gute Übereinstimmung. Um für den Sauerstoffversuch genügend Sauerstoffvorrat zu haben, wurde nicht luftgesättigtes, sondern halb oder ganz sauerstoffgesättigtes (d. h. unter Sauerstoffatmosphäre gesättigtes) Bestimmungswasser benutzt. Man kann sich dessen bei genügender Sorgfalt mit der gleichen Sicherheit bedienen, wie luftgesättigten Wassers. Man muß nur eine Reihe Vorsichtsmaßregeln beachten, die man aus Kontrollmessungen leicht feststellt (zur Sicherheit wurde das Bestimmungswasser in diesen Fällen meist doppelt titriert). Da die Schläuche selbst ein beträchtliches Wasservolumen einschließen, dessen Nichtberücksichtigung große Fehler geben würde, so muß man vorher durch wiederholtes Schütteln der Schläuche im Bestimmungswasser dafür sorgen, daß das Innenwasser den hohen Sauerstoffgehalt des Bestimmungswassers annimmt. Aus Trockenbestimmungen der Schläuche wurde die für das Gefäßvolumen nötige Korrektur entnommen (nur 1 bis 2 com). Bei Seeigeleierversuchen war dies ganz zu vernachlässigen.

Die Wärmemessung gestaltet sich wieder bequemer, weil kein Umwirbeln der Eier erforderlich ist. Diese erhalten vielmehr in ihren langgestreckten Schläuchen stets genug Sauerstoff aus dem umgebenden Wasser. Natürlich muß für Temperaturhomogenität durch vorsichtiges Umschwenken gesorgt werden. Da die Eier in seewassergefüllten Schläuchen leben, so habe ich noch eine andere Wärmemessung anwenden können, indem ich die Schläuche in das mit seewasserdampfgesättigter Luft

oder Sauerstoff gefüllte Dewargefäß tat und den Temperaturanstieg in Luft verfolgte. Dies bietet natürlich sehr deutliche Vorteile. Infolge der außerordentlichen Reduktion der Wärmekapazität auf etwa $\frac{1}{2}$ ist entsprechend der Temperaturanstieg bei gleicher Wärmebildung 8mal so groß; ferner ist ein ungeheuer viel größerer Sauerstoffvorrat vorhanden, anstelle von etwa 4 ccm O_2 :200; man kann also ganz beliebige Temperaturanstiege erhalten. Diese außerordentlichen Vorteile werden aber mehr als aufgewogen durch den Nachteil eines etwa 8fach so großen Abkühlungskoeffizienten (dieser ist der Wärmekapazität ungefähr proportional) und daher einer Thermostatenkorrektur, die natürlich bei großen Anstiegen auch absolut viel größer wird. Obendrein ist derselbe nicht einmal konstant, sondern ist bei großen Differenzen größer — jedenfalls wegen Luftströmungen —, da ein ganz luftdichter Verschluss nicht möglich war. Außerdem ist in diesem Fall die Wärmekapazität des Gefäßes und Thermometers von ausschlaggebender Bedeutung und die Fehler in ihrer Bestimmung kommen unreduziert in den Messungen zum Ausdruck; Diese Messung ist also mehr eine Kuriosität. Trotzdem stimmen die Resultate noch verhältnismäßig gut überein, vor allem wenn man den Glaszylinder über der Watte mit einer Gummikappe fest verschließt, die um den Thermometer festgebunden wird und außerdem den Gummipropfen mit Ton dichtet, so daß das Gefäß annähernd luftdicht verschlossen ist. Ein genau mit gleichzeitiger gewöhnlicher Messung übereinstimmender Versuch ist im folgenden mitgeteilt und die aufgenommene Kurve abgebildet.

Ich teile zuerst die Versuche mit Larven von *Aplysia* mit, die die beste Übereinstimmung geben.

a) Versuche an schwimmenden Larven.

58. Benutzt 19,3 g Schläuche, enthaltend Larven im höchsten Stadium (Mazzarelli, a. a. O., Tafel 11, Stadium 19 oder etwas früher), ca. 150 bis 200 Stunden seit Ablegung.

Eingefüllt ins Wärmegefäß.

Beginn 12¹⁰: 18,991° Thermostat: 18,985—18,99°.

1¹⁰: 19,0135—14° Korr. Anstieg 0,0232° in 1 St.

Sauerstoff eingeleitet.

Beginn 2⁴⁵: 19,045° Thermostat: 18,99° (+ 0,00°).

3⁴⁵: 19,066—0665° Korr. Anstieg 0,0232° in 1 St.

232 ccm Seewasser + *Aplysiaschläuche*. 247 ccm Wasserwert.

Pro Stunde (von 12¹⁰ bis 1¹⁰ und von 2⁴⁵ bis 3⁴⁵) 5,73 cal. erzeugt.

Die Schläuche werden herausgenommen, in die Atmungsflasche gefüllt.

Sauerstoffversuch 4⁰⁰ bis 5⁰⁰. Gesamtabnahme Na-Thiosulfat 25,3 ccm,

Titer 0,0703 mg O_2 . 1,78 mg O_2 in 1 St. verbraucht.

$$Q = \frac{5,73}{1,78} = 3,2.$$

Kf.: 71,8 NH₂ = 100,5 mg N. Auf 140 mg N 8,0 cal.¹⁾

¹⁾ Dieser Zahl kommt wegen der dicken Mucinhüllen keine besondere Bedeutung zu.

59. 20 g Schläuche; 2 verschiedene Stadien schwimmender Larven; die einen etwas früher als die vorigen, die andern im Beginn des Rotierens.

Eingefüllt ins Atmungsgefäß.

Sauerstoffversuch 11⁰¹ bis 12⁰¹. Gesamtabnahme 24,3 ccm Na-Thiosulfat (0,070 mg O₂ Titer). 1,70 mg O₂ in 1 St. verbraucht.

Dieselben ins Wärmegefäß.

Beginn 12¹¹: 19,105° Thermostat bis 12³⁰ 19,01—19,015°,
dann 18,98—18,985°.

1⁵⁸: 19,1355° Korr. Anstieg in 1 St. 47 Min. 0,0372°.

In 1 St. 0,021° gestiegen. 232 ccm Seewasser + Schläuche. 247 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 5,19 cal.

$$Q = \frac{5,19}{1,70} = 3,05.$$

60. Die gleichen Schläuche, ins Sauerstoffgefäß gefüllt.

2¹⁰ bis 3¹⁰. Gesamtabnahme 26,2 ccm Na-Thiosulfat (0,070 Titer) oder 1,83 mg O₂ in 1 St. Ins Wärmegefäß überführt.

Beginn 3²⁰: 18,890° Thermostat: 18,99—18,995°.

4²⁰: 18,915° Korr. Anstieg pro St. berechnet aus 1 St. 0,0223°,

4⁵⁹: 18,928° aus 1¹/₂ St. 0,0228°.

Gerechnet = 0,0225°. 230 ccm Seewasser + Schläuche. 245 ccm Gesamtwasserwert. 5,52 cal. erzeugt in 1 St.

$$Q = \frac{5,52}{1,83} = 3,0 \text{ bis } 3,05.$$

61. Die Schläuche vom Versuch 60 am folgenden Tage mit ganz geringen Verlusten benutzt. Ins Sauerstoffgefäß gefüllt.

Versuch 10¹⁵ bis 11¹⁵. Gesamtabnahme 24,1 ccm Na-Thiosulfat. (Neues Na-Thiosulfat: Titer 0,0757 mg O₂.) In 1 St. 1,83 mg O₂ verbraucht (genau soviel wie am Tage vorher). Gefüllt ins Wärmegefäß.

Beginn 11²⁵: 18,999° Thermostat: 18,98—19,00°.

12²⁵: 19,021°. In 1 St. korr. Anstieg 0,0226°.

234 ccm Seewasser + Schläuche. 248,5 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 5,61 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{5,61}{1,83} = 3,05.$$

62. Die gleichen Schläuche vom Versuch 61 mit geringen Verlusten am folgenden Tage. Gefüllt ins Wärmegefäß.

Beginn 12²²: 19,050° Thermostat: 18,99—19,00°.

1⁰²: 19,090—0995° Anstieg 0,022° in 1 St.

235 ccm Seewasser + Schläuche. 249,5 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 5,49 cal. erzeugt.

Ins Sauerstoffgefäß gefüllt: Versuch 3¹² bis 3⁵⁷ (3¹/₄ St.). In 3¹/₄ St. Gesamtabnahme: 17,7 ccm Na-Thiosulfat, Titer 0,0757 mg O₂. In 1 St.

1,79 mg O₂ verbraucht (2% weniger als am Tage vorher, wohl infolge der kleinen Verluste).

$$Q = \frac{5,49}{1,79} = 3,05.$$

Diese Versuche geben also eine vorzügliche Übereinstimmung: dreimal ergibt sich $Q = 3,05$, einmal 3,0 bis 3,05, einmal 3,2. Noch hinzuzufügen ist, daß dazwischen mit denselben Schläuchen gelegentlich Atmungsbestimmungen für kürzere Zeiten mit luftgesättigtem Wasser gemacht wurden. Dann wurden stets erheblich zu kleine Ausschläge gefunden. Wahrscheinlich vertragen die Larven keine erhebliche Verringerung des Sauerstoffgehalts unter den Sättigungsdruck wegen zu langsamer O₂-Diffusion in die Schläuche. Doch werden sie jedenfalls nicht dadurch geschädigt. Dieselben Larven geben in sauerstoffgesättigtem Wasser nachher normale Werte. An eine direkte Abhängigkeit der Atmungsgröße vom Sauerstoffdruck ist indes nicht zu denken, indem bei reichlichem Sauerstoffgehalt stets die gleichen Werte gefunden wurden und keine Beziehung zum vorhandenen O₂-Gehalt zu erkennen war.

Außerdem wurde dazwischen wiederholt eine Wärmemessung in „Luft“ vorgenommen, wobei jedoch öfters Fehler vorkamen. Insbesondere war die Einstellung des Anfangspunktes schwierig. Ein gut stimmendes Experiment ist das folgende:

63. Schläuche vom Versuch 62 am selben Tage (19,2 g Gewicht) eingefüllt mit 1 cem Seewasser ins Dewargefäß, das vorher etwas unter Thermostatentemperatur gebracht war. Der Glaszylinder wird mit Gummikappe geschlossen und der Gummistopfen mit Ton gedichtet.

Die Kurve ist beige gedruckt¹⁾ (Fig. 12). Zu benutzen ist wegen der Veränderlichkeit der Korrektur nur die Zeit der Überschreitung der Thermostatentemperatur. Diese Zeit ist:

$$\begin{array}{ll} 62: 18,918^{\circ} & \text{Thermostat;} \\ 65: 18,980^{\circ} & \longleftrightarrow 18,98^{\circ} (\pm 0,00^{\circ}). \\ 75: 19,032^{\circ} & \end{array}$$

In 28 Min. vorher bei durchschnittlicher Thermostatendifferenz 0,03° Anstieg 0,062°, in 24 Min. nachher bei durchschnittlicher Differenz 0,025° um 0,052°. In 23 Min. wäre das Thermometer demnach 0,060° gestiegen. Die Differenz gegen den Wert vor Erreichen des Thermostaten ist relativ klein, und wir können ohne Fehler als wahren Anstieg in 28 Min. 0,061° annehmen, bzw. für die genannte Zeit die beiden Korrekturen sich aufheben lassen. (Rumfordscher Kunstgriff.) Der Anstieg in 52 Min. ist also (ohne Korr.) 0,114° oder in 56 Min. (korr.) 0,122°. Aus letzterem ergibt sich für 52 Min. 0,1135°.

In 1 St. berechnet: 0,131° Anstieg.

Der Wasserwert setzt sich zusammen aus dem Gefäß + Thermometer = 24, 19,2 g Aplysiaschläuche, 1 cem Seewasser.

Bei einer Trockenbestimmung wurden auf 3,212 g Aplysiaschläuche

¹⁾ Sie ist eigentlich doppelt so steil. Als Abzisseneinheit ist 1 Min., als Ordinateneinheit 0,002° gerechnet.

0,363 g feste Substanz gefunden. Da indessen die Schläuche zum überwiegendsten Teil aus Meerwasser bestehen, so sind etwa 3% für Meerwassersalze abzuziehen, 0,1 g. Es bleiben nur 0,26 g. In 19,2 g sind also 1,56 g organische Substanz, das übrige ist Meerwasser. $17,6 + 1,0$ ccm Meerwasser und 1,56 g organische Substanz von unbekannter spezifischer Wärme, die wir willkürlich auf 0,3 annehmen. (Die spezifische Wärme

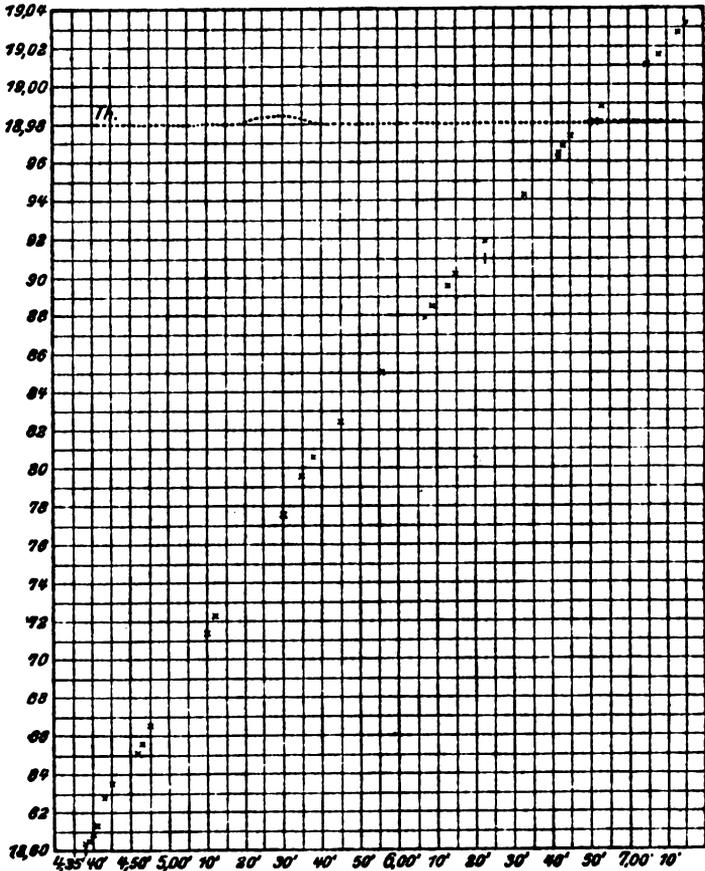


Fig. 12.

fester organischer Substanz ist meist um 0,3 bis 0,4.) Der Gesamtwasserwert ist demnach $24 + 18,6 \times 0,96 + 0,5$, zusammen 42,4. Es sind demnach in 1 St. $0,131 \times 42,4 = 5,55$ cal. erzeugt. Einige Stunden vorher waren auf andere Weise 5,49 cal. gefunden. Man sieht die gute Übereinstimmung. Indes stimmte ein anderer Versuch in Luft trotz ähnlicher Kautelen weniger gut, wie denn dies Verfahren wegen seiner großen Ausschläge zwar äußerlich Vorrüge bietet, aber im Grunde doch weniger genau ist.

b) Versuche an früheren Entwicklungsstadien.

64. 49 g Aplysiaschläuche. Eier 2geteilt und in 4-Teilung. In Sauerstoffflasche gefüllt: 12³⁰ bis 2⁴⁰. Gesamtabnahme: Na-Thiosulfat 60,0 ccm; in 1 St. 29,5 (Titer 0,071 mg O₂) oder 2,10 mg O₂.

Wärmeversuch:

Beginn 3⁰⁰: 19,981° Thermostat: 19,015° (+ 0,00°).

4⁰⁰: 19,102° Korr. Anstieg 1. St. 0,0235°, 2. St. 0,023°.

5⁰⁰: 19,122° (Benutzt 1. St.)

235 ccm Seewasser + Schläuche = 249,5 ccm Gesamtwasserwert. In 1. St. 5,87 cal., in 2. St. 5,75 cal. erzeugt.

$$Q = \frac{5,87}{2,10} = 2,8.$$

65. Dieselben Schläuche am folgenden Tage mit geringen Verlusten. Stadium 8 bis 16zellig.

Wärmeversuch:

Beginn 11³⁰: 18,917° Thermostat: 19,015° (+ 0,00°).

12³⁰: 18,941—42° Korr. Anstieg in 66 Min. 0,0215°,
in 1 St. 0,0195°.

233 ccm Seewasser + Schläuche. 247,5 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 4,82 cal. erzeugt.

Sauerstoffversuch 12³⁰ bis 2⁴⁰. Gesamtabnahme 48,1 ccm Na-Thio-sulfat (Titer 0,071 mg O₂). In 134 Min. 3,42 mg O₂, in 1 St. 1,55 mg O₂ verbraucht.

$$Q = \frac{4,82}{1,55} = 3,1.$$

Wegen der guten Übereinstimmung der Versuche mit schwimmenden Larven könnte man an eine Variation des Quotienten denken, zumal die Ausschläge groß genug sind. Wahrscheinlicher ist aber der Grund der Variation, daß, abgesehen von der absteigenden Atmungsgröße während der Anfangszeit, die stets den zweiten Versuch benachteiligt, noch die Schläuche bei dem Umfüllen durch die engen Gefäßhalse gequetscht und ein Teil der Eier dadurch geschädigt werden; infolgedessen ist stets der zweite Wert relativ zu gering, und Q ist in Wahrheit im ersten Falle größer, im zweiten Falle kleiner:

$$Q = \frac{2,8 + 3,1}{2} = 2,95.$$

Dies wird genau bestätigt durch den folgenden Versuch, bei dem auch der zweite Wert relativ etwas kleiner als der erste war.

66. 24 g Schläuche. Stadium wie 65 (Massarelli, Tafel X, 11 u. 12).

Wärmeversuch:

Beginn 1⁰⁰: 18,912° Thermostat: 18,99—19,00°.

3⁰⁰: 18,932—9325°. In 2 St. korr. 0,0158° oder 0,0079° in 1 St.

235 ccm Seewasser + Schläuche. 250 ccm Gesamtwasserwert. In 1 St. 1,97 cal. erzeugt.

Sauerstoffversuch 3¹⁷ bis 5¹⁷. Cesazatabnahme 17,6 cem Na-Thio-sulfat (Titer 0,074 mg O₂) oder 1,30 mg O₂. In 1 St. 0,65 mg O₂ verbraucht.

Neuer Wärmeversuch angeschlossen:

Beginn 5²⁸: 18,970° Thermostat: 19,00—19,005°.

3²⁸: 18.9825° Korr. Anstieg in 1½ St. 0,0114°
oder in 1 St. 0,0076°.

232 cem Seewasser + Schläuche. 252 cem Gesamtwasserwert. In 1 St. 1.92 cal. erzeugt.

Q ist also $\frac{1.92}{0.65}$ bis $\frac{1.97}{0.65}$, 2,95 bis 3,05 oder 3,0.

Unter Berücksichtigung dieser Atmungsabschwächung haben wir also bei den Eiern dieselbe gute Übereinstimmung wie bei den Larven: aus 64 und 65 ergibt sich $Q = 2,95$; aus 66 $Q = 3,0$. Mittel aus 4 Vers. $Q = 2,98$. Larven: Mittel aus 5 Vers. $Q = 3,08$.

Q ist also bei Aplysiaeiern 2,8, bei Apysialarven 2,9.

Zum Schluß bemerke ich, daß im vorhergehenden von den reinen Wärmeeperimenten die meisten, von den kombinierten alle mitgeteilt sind, die aus experimentellen Ursachen als genau und im ganzen fehlerfrei anzusehen waren. Sehr viele aber sind durch Absterben oder Schädigung der Eier, Zurückbleiben usw. verdorben; bei anderen war die Übereinstimmung der Lösungen mangelhaft oder es kamen bei Wärme- oder Sauerstoffmessungen Fehler vor. Diese sind nicht mitgeteilt. Es wird bei der Schwierigkeit, exakte Resultate zu erhalten, nicht wundernehmen, daß etwa ein Drittel aller Experimente durch eine der genannten Ursachen mißraten sind. Für eine Zusammenfassung der erhaltenen Resultate verweise ich auf den ersten Teil.

Denjenigen, die mich mit Rat und Tat unterstützt haben, möchte ich nicht unterlassen, herzlich zu danken. Dem Großherzoglich Badischen Ministerium sage ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes an der zoologischen Station meinen ergebensten Dank. Im einzelnen möchte ich noch danken Herrn Dr. Henze und Herrn Prof. Burian, dem Leiter der chemischen und physiologischen Abteilung, für ihre stete Hilfsbereitschaft, Herrn O. Warburg für zahlreiche wertvolle Ratschläge und Herrn Cerutti für die unermüdliebe Beschaffung der Hekatomben von Scigelin, die im Dienste der Wissenschaft geopfert wurden; nicht zum wenigsten aber Herrn Prof. Reinhard Dohrn für die schöne Neapeier Arbeitsgelegenheit, durch die allein diese Arbeit zustande kommen konnte.

Eiweißstoffwechsel beim Hunde.

II. Stickstoff- und Schwefelstoffwechsel während des Hungers und bei Unterernährung mit Eiweiß, Kohlenhydraten und Fetten.¹⁾

Von

Charles G. L. Wolf unter Mitwirkung von Emil Österberg.

(Aus der chemischen Abteilung der Cornell University, Medical College, New York City.)

(Eingegangen am 21. Juli 1911.)

Die Bedeutung der Verteilung des Harnstickstoffs bei experimentell wie natürlich hervorgerufenen Krankheitszuständen ist während der letzten Jahre Gegenstand lebhafter Erörterungen gewesen. Einerseits steht es nicht ganz fest, daß anomale Stoffwechselbedingungen durch Veränderungen in der Harnzusammensetzung angezeigt werden, außer bei Krankheiten, die mit Glucosurie und Albuminausscheidung einhergehen. Andererseits ist noch nicht definitiv festgestellt worden, in welchem Maße qualitative und quantitative Veränderungen der Nahrung die Zusammensetzung des menschlichen oder tierischen Harnes beeinflussen.

In dieser Hinsicht haben Folin²⁾ den Stickstoffhunger, Benedict und Diefendorf³⁾, Cathcart⁴⁾ den absoluten

¹⁾ Diese Arbeit wurde im Januar 1907 vollendet.

²⁾ Folin, Amer. Journ. Physiol. 13, 64 und 73, 1905.

³⁾ Benedict und Diefendorf, Amer. Journ. Physiol. 18, 362, 1907. — Benedict, Carnegie Reports 1907, Nr. 77.

⁴⁾ Cathcart, Journ. Physiol. 35, 500, 1907; diese Zeitschr. 6, 109, 1907.

Hungerzustand untersucht, aber diese Experimente erschöpfen keinesfalls das ganze Gebiet. Um Grenzen festlegen zu können, jenseits welcher die Stickstoff- und Schwefelverteilung im Urin als anomal angesehen werden kann, muß noch mehr Erfahrungsmaterial über diese Punkte gesammelt werden.

Es ist klar, daß es schwer oder sogar unmöglich ist, durch Untersuchungen beim Menschen solche Aufschlüsse zu erhalten, aus dem Grunde, weil der Mensch einzelne Bestandteile der Nahrung während einer längeren Zeitdauer nicht zu sich nehmen kann. Während spezifischer Stickstoffhunger von Folin¹⁾ am Menschen, von uns²⁾ am Hunde, kompletter Hungerzustand von Cathcart³⁾ am Menschen und von uns während kürzerer Perioden am Hunde studiert worden ist, fehlen bezüglich der Wirkung von Unterernährung während längerer Zeitdauer völlig die Unterlagen.

Da wir damit beschäftigt waren, den Einfluß verschiedener Giftstoffe zu bestimmen, schien uns eine systematische Untersuchung des Einflusses von Unterernährung und desjenigen der Nahrungsbeschaffenheit auf die Stickstoff- und Schwefelverteilung notwendig. Diese Arbeit ist eine Fortsetzung der ersten Veröffentlichung in dieser Zeitschrift über den Einfluß des spezifischen Stickstoffhungers. Während in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich diese Frage behandelt wird, bot sich nebenbei die Gelegenheit, die Wirkung verschiedener Ernährungsbedingungen auf den Schwefel- und Phosphorstoffwechsel zu studieren, ein Problem, dem bis jetzt noch nicht genügende Aufmerksamkeit geschenkt worden ist. Die gegenwärtige Mitteilung faßt die Ergebnisse von sechs Versuchen an Tieren zusammen, die mit den einzelnen Nährstoffen allein, also mit Eiweiß, Fett oder Kohlenhydraten gefüttert worden waren. Die verabreichten Mengen standen unterhalb des calorischen Bedarfes des Tieres. Um genau die Wirkung der einzelnen Nährstoffe festzustellen, haben wir mit einer ausschließlich aus Kohlenhydraten, Fetten oder Eiweißstoffen bestehender Kost gefüttert.

Der Grund, weshalb wir Nahrungsmengen unter der Bedarfsgrenze des Tieres gegeben haben, war der, daß es nicht

¹⁾ l. c.

²⁾ Österberg und Wolf, diese Zeitschr. 5, 304, 1907.

³⁾ l. c.

ganz feststeht, ob nicht schon partieller Hunger einen erheblichen Einfluß auf die Harnzusammensetzung ausübt. Auf diese Weise hofften wir, eine möglichst große Veränderung durch Fütterung zu erzielen.

Wenn die Ernährungsbedingungen so exakt wie möglich getroffen waren, schlossen wir, daß alle Abweichungen über die Grenzen hinaus, die in pathologischen Fällen auftreten, mit Recht pathologischen Bedingungen und nicht der Variation in der Nahrung zugeschrieben werden konnten.

Die Versuchsanordnung war folgende: Während in unserer vorhergehenden Arbeit eine, ihrem calorischen Werte nach voll- auf genügende, aber an Stickstoffgehalt fast nullwertige Kost verfüttert wurde, haben wir in den vorliegenden Versuchen in einem Falle nur Kohlenhydrat-, im zweiten nur Fett- und im dritten nur Eiweißnahrung verabreicht. Den eigentlichen Fütterungsversuchen ging eine Hungerperiode voran, so daß die Tiere sich bei Beginn der Fütterungsversuche so weit wie möglich in einem vergleichbaren Ernährungszustande befanden. Die Hungerperiode war für diesen Zweck lang genug, nämlich 8 Tage. Da die Kenntnis über den Hungerstoffwechsel des Hundes nicht umfangreich ist, teilen wir die Analyseergebnisse während der Hungerperioden auch mit.

Es schien uns zweckmäßig, die Versuche derart vergleichbar zu gestalten, daß wir den Tieren calorisch gleichwertige Nahrungsmengen gaben und sie so zu füttern, daß die Rationen von einer Reihe zur andern zunahmen und dann während entsprechender Perioden abnahmen.

So wurden z. B. den Hunden 381 und 382, nach einer vorangehenden 8tägigen Hungerperiode, 20 Calorien Blutalbumin (Merck) vier Tage lang gegeben. In den nächsten vier Tagen wurden 30 Cal. per Kilogramm genommen. In den nächsten vier Tagen 40 Cal. per Kilogramm, in den folgenden vier Tagen 30 Cal., und in den darauf folgenden vier Tagen 20 Cal. Darauf folgte eine individuell variierte Hungerperiode, und dann wurden gewisse Versuche ausgeführt, die nicht direkt mit der Hauptfragestellung verknüpft, aber bestimmt waren, einige strittige Punkte des Stoffwechselproblems aufklären zu helfen.

Eingehend ist der Stickstoffverlust während des Hungerns an Menschen und Tieren untersucht worden, und es

genügt, die Arbeiten von Voit¹⁾, Landergren²⁾, Schulz³⁾ und Cathcart (l. c.) zu nennen, in denen fast alle älteren Forschungen kritisch beurteilt sind. Es ist eine bekannte Tatsache, daß der Hundeorganismus nach ungefähr dem dritten Tage in einen stationären Zustand der fast konstanten Stickstoffausscheidung übergeht, die jedoch bei fortgesetztem Hunger geringer wird, in dem Maße, wie sich das Tier dem ungewohnten und andauernden Fasten anpaßt (Schulz).

Bezüglich der Schwefelausscheidung während des Hungers sind wir weniger vollständig unterrichtet. Die meisten mitgeteilten Versuche behandeln die Schwefelausscheidung des Menschen. In dem Versuch (Nr. 4) von Underhill und Kleiner⁴⁾ am Hunde war die Gesamtschwefelausscheidung am dritten Hungertage geringer und sank dann mit einer anscheinenden Tendenz nach unten. Daß dies nicht immer der Fall ist, geht aus der Übersicht über unsere Versuche hervor. Die Bedingungen, die die Schwefelausscheidung bestimmen, sind wohl im hohen Grade dieselben wie bei der Stickstoffausscheidung.

Um einem Körpergewichtsverlust gänzlich vorzubeugen, soll $3\frac{1}{2}$ mal soviel Eiweißstickstoff nötig sein, als während des Hungers verloren geht.

Bei Kohlenhydraten oder Kohlenhydraten und Fetten wissen wir, daß die Hungerausscheidung an Stickstoff wesentlich durch Nahrungsaufnahme eingeschränkt werden kann. Ganz so klar steht der Fall bei Fetten allein nicht, doch stimmt die allgemeine Meinung mit Voit⁵⁾ überein, daß Fette ohne Kohlenhydrataufnahme die Hungerstickstoffausscheidung nicht verringern können.

Die neueste und ausführlichste Arbeit über Hungerstoffwechsel bei Hunden ist diejenige von Howe und Hawke⁶⁾, in der sich auch ein vorzügliches Literaturverzeichnis über das Thema befindet. Darin sind auch viele Angaben aus der russi-

1) Voit, Hermanns Handbuch d. Physiol. 6.

2) Landergren, Skand. Arch. Physiol. 14, 125, 1903.

3) Schulz, Arch. Physiol. 114, 419.

4) Underhill und Kleiner, Journ. Biol. Chem. 4, 165, 1906.

5) Voit und Korkunoff, Zeitschr. f. Biol. 32, 58, 1895.

6) Howe and Hawke, Journ. Amer. Chem. Soc. 33, 215, 1911.

sehen Literatur über das Problem des Hungers bei Tieren enthalten, die sonst in den gewöhnlichen Resumés den Interessenten nicht zugänglich sind. Wir werden hin und wieder auf die Howe und Hawkesche Arbeit hinweisen.

Die Wirkung von verschiedener Nahrung auf die Schwefel- und Stickstoffverteilung.

Die größte Aufmerksamkeit der Forscher, die den Einfluß der Nahrung studiert haben, hat sich auf die Wirkung der Stickstoffretention und auf die Wärmeproduktion konzentriert.

Einige Einzelversuche sind ausgeführt worden, um die Einwirkung verschiedener Arten von Nahrung auf gewisse Bestandteile zu ermitteln. In bezug auf die Ammoniakausscheidung haben wir zur Orientierung die Versuche von Coranda¹⁾ und von Gumlich²⁾, die behaupten, daß die Ammoniakausscheidung bei vegetabilischer Kost niedriger als bei animalischer ist.

Munk³⁾ fand, daß 3% des Gesamtstickstoffs beim Hunde als Ammoniak ausgeschieden wurden. Schittenhelm⁴⁾ erhielt nach großen Fettgaben im Urin eine gesteigerte Ammoniakmenge.

Schittenhelms Versuche wurden sämtlich an Menschen in der Absicht ausgeführt, den Einfluß der Fettnahrung auf die Ammoniakausscheidung zu ermitteln. Er fand bei seinen ersten Versuchen, daß das Verhältnis des Ammoniaks zum Gesamtstickstoff das gleiche bei einer gemischten und bei einer eiweißfreien Kost war. Das Verhältnis stieg nach großen Dosen Butterfett. Daraus schließt er, daß mäßige Mengen Fett das Verhältnis nicht beeinflussen, große aber ein Steigen desselben verursachen.

Bei einer Prüfung der Stickstoffausscheidung in Schittenhelms Untersuchungen ergibt sich, daß die Unterschiede in der ausgeschiedenen Stickstoffmenge bei stickstofffreier und N-reicher Kost nicht genügend groß waren, um ein sehr großes Schwanken in der absoluten Menge des ausgeschiedenen Ammoniakstickstoffes hervorrufen zu können.

¹⁾ Coranda, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 12, 76, 1880.

²⁾ Gumlich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 10, 1893.

³⁾ Munk, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 29, 1878.

⁴⁾ Schittenhelm, Arch. f. klin. Med. 77, 517, 1903.

Schittenhelm glaubt, daß die Hinzufügung größerer Fettmengen zur Nahrung zu einer gesteigerten Säurebildung im Organismus führe. Er behauptet ferner, die Resorption von Salzsäure beeinflusse die Ausfuhr, denn wenn die Säure im Magen gebildet wird, steigt der ausgeschiedene Ammoniak.

In bezug auf den Harnstoff hat die Arbeit von Schöndorff¹⁾ mit unserer Untersuchung die engste Beziehung. Mit Hilfe der Pflüger-Schöndorff'schen Methode der Harnstoffbestimmungen untersuchte er den Einfluß verschiedener Ernährungsweisen auf die Ausscheidung dieser Substanz. Hunde wurden während des Fastens nach Aufnahme von großen Mengen rohen Fleisches, von Reis und von Reis mit Speck in bezug auf Harnstoffausscheidung untersucht.

Während der Hungerperiode schwankte die Harnstoffmenge von 87,3 bis 90,3%, betrug also im Durchschnitt 89,6%. Nach Fleischfütterung bewegte sie sich zwischen 93,2% bis 97,98%, mit einem Durchschnitt von 94,89%. Die größte Menge wurde an einem Tage an einem Hunde, der 32 kg wog, erzielt, den man mit 2500 g rohen Pferdefleisches gefüttert hatte. Obgleich der gesamte ausgeschiedene Stickstoff in dem Versuche nicht angegeben ist, wird dieses Tier wahrscheinlich wenigstens 60 g Stickstoff in den 24 Stunden erhalten haben. Während der Versuchszeit nahm der Hund 8 kg an Gewicht zu, so daß man ein positives Stickstoffgleichgewicht während des ganzen Versuchs annehmen kann.

Bei der Fütterung mit Reis und Fleisch ergaben sich deutlich niedrigere Werte, die zwischen 90,3 und 93,7% schwankten und einen Durchschnitt von 91,71% ergeben.

Mit Reiskost allein beobachtete man noch niedrigere Mengen, 83,2 bis 87,9%, im Durchschnitt 86,64%, während bei einfacher Fettkost die Menge zwischen 82,9 und 89,2% schwankte, mit einem Durchschnitt von 85,03%. Daraus geht hervor, daß bei Hunden wie bei Menschen die Harnstoffmenge von der Eiweißaufnahme abhängig ist. Zwischen der Stärke- und Fettkost war der Unterschied nicht groß, die Abweichungsgrenze war fast die gleiche, der höchste Wert in einem der Schöndorff'schen Versuche läßt einen Spielraum von 2% für

¹⁾ Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 117, 257.

den Harnstoff und alle anderen Stoffwechselprodukte, die sich im Hundeharn befinden.

Kreatinin und Kreatin.

Bezüglich der Kreatininausscheidung im Hundeharn verfügen wir über keine große Anzahl von Untersuchungen, die den Nahrungseinfluß auf die Ausscheidung dieses Stoffes zum Gegenstand haben. Die meisten ausgeführten Versuche behandelten ihre Ausscheidung unter dem Einflusse von Giften. Wir selbst haben gezeigt, daß bei Stärke- und Fettfütterung die Kreatininausscheidung per Kilogramm Körpergewicht genau die gleiche bei zwei Versuchstieren war, und daß die täglichen Schwankungen unbedeutend waren¹⁾. Sogar bei einer Kost, die fast keinen Stickstoff enthielt, war die Kreatininausscheidung gering. Daß aber bedeutende Schwankungen in der täglichen Ausscheidung beider Stoffe vorkommen können, haben wir bei Kohlenoxyd-²⁾ und Blausäurevergiftung³⁾, durch Phosphorversuche⁴⁾ und Underhill und Kleiner⁵⁾ bei Hydrazinvergiftung nachgewiesen.

Auch Howe und Hawke besprechen ausführlich die Einwirkung des Hungers und der Ernährung auf die Kreatinin- und Kreatininausscheidung. Auf ihre Resultate werden wir später im Laufe der Arbeit verweisen.

Reststickstoff.

Die genauesten Angaben über den Reststickstoff bei Hunger und Ernährung verdanken wir Howe und Hawke. Im ersten Teil ihrer ersten Versuchreihe sank der unbestimmte Stickstoff, und in der zweiten, größeren Hungerperiode, die von der ersten durch eine eingeschobene Fütterungsperiode getrennt war, war die Reststickstoffmenge von Tag zu Tag so gut wie konstant und halb so groß wie in der ersten Hungerperiode. Wegen der täglichen geringeren Ausscheidung des Gesamtstickstoffs in dem zweiten Teil war der Prozentsatz in der ersten

1) Österberg und Wolf, l. c.

2) Österberg und Wolf, diese Zeitschr. 16, 476, 1909.

3) Loewy und Wolf, diese Zeitschr. 8, 132, 1908.

4) Lusk, Amer. Journ. Physiol. 19, 463, 1907.

5) Underhill und Kleiner, l. c.

Periode (2,89%) nur um wenig höher als der in der zweiten (2,58%).

Schwefelausscheidung.

Wir haben bereits die Haupttatsachen, die bezüglich der Schwefelausscheidung bei Hunden bekannt sind, in unserer letzten Abhandlung erwähnt, es ist deshalb nicht notwendig, sie zu wiederholen. Seit jener Zeit hat man die Schwefelausscheidung bei Hunden unter dem Einfluß verschiedener Ernährungsweisen wenig bearbeitet, obgleich diese Fragestellung doch wertvolle Aufschlüsse über die Art des Eiweißabbaues gewähren müßte. Es müßte möglich sein, festzustellen, ob bei wechselnder, schwefelfreier Fütterung Fette oder Kohlenhydrate eine deutliche Schutzwirkung auf den Abbau des viel Schwefel enthaltenden Eiweißkörper ausüben und ob, wie vorher bereits erwähnt, die Vorgänge, die zur Bildung der Sulfate und des Harnstoff führen, parallel zueinander verlaufen.

Experimenteller Teil.

Die zu diesen Versuchen benutzten Hunde waren Weibchen, an denen die Falcksche Operation ausgeführt worden war. Wegen einer Ungewißheit bezüglich der Ammoniakwerte, die wir in einer früheren Veröffentlichung mitgeteilt und auf die seitdem Underhill und Kleiner¹⁾ verwiesen haben, wurde von neuem alles versucht, nur absolut sterilen Harn nach der Katheterisierung zu erhalten. Den Tieren wurde erst, um den Darm zu entleeren, 0,15 g Kalomel gegeben und darauf drei Tage lang 0,3 g Urotropin. Einige Tage vor dem Versuchsbeginn wurde die Harnblase mit einer Argyrollösung täglich ausgewaschen. Auf diese Weise wollten wir es ermöglichen, jede Blaseninfektion so weit wie möglich zu verhüten.

Mit großer Sorgfalt wurde die bei den Versuchen verfütterte Nahrung zubereitet, und da das Verfüttern von größeren Mengen Eiweiß, Kohlenhydraten oder Fetten während längerer Zeiträume allgemein mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist, machen wir über die Zubereitung der Kost bei diesen Versuchen etwas ausführlichere Angaben.

¹⁾ Underhill und Kleiner, l. c.

Für die Eiweißernährung wählten wir Blutalbumin (Merck), da es die kleinste Menge von Extraktivstoff enthält. Es ist meines Wissens getrocknetes Blutsrum. Eine große Menge dieser Substanz wurde über Nacht in Wasser aufgeweicht, dann durch Erhitzen in einem Dampfkocher zum Gerinnen gebracht und vom anhaftenden Wasser befreit. Dann wurde sie in einer leistungsfähigen Presse abgepreßt und mehrfach in einer Fleischhackmaschine durchmahlen. Hierauf wurde sie in hermetisch verschlossenen Flaschen in einem Eisschrank aufgehoben, wo sie in gefrorenem Zustand fertig zum Gebrauch verblieb. Wiederholte Analysen dieser Substanz auf ihren Stickstoff- und Fettgehalt ergaben eine bemerkenswerte Konstanz der Zusammensetzung. Einzelne Angaben über die analytischen Bestimmungen und über die anderen Futterstoffe brauchen nicht angeführt zu werden, jedoch die Mengen der einzelnen verabreichten Nährstoffe befinden sich auf der Tabelle. Die Kohlenhydrate wurden wie in unseren früheren Versuchen bei stickstoffarmer Kost durch Diastase eines Malzextraktes auf Arrowrootstärkemehl hergestellt.

Das in den Versuchen verwendete Fett war eine Emulsion von Baumwollsaatöl, die mit der kleinstmöglichen Menge von Gummi arabicum zubereitet worden war.

All diese Futterstoffe wurden ohne Schwierigkeiten von den Tieren gefressen. Nur in einem Falle verweigerte das Tier 381 die Nahrung, wodurch die Verabreichung des Albumins eine Störung erfuhr. Wir beendigten den Versuch deshalb vor der angesetzten Zeit, ließen das Tier drei Tage hungern und gaben ihm dann so viel mageres gekochtes Fleisch, als es fressen wollte. Es nahm auf diese Weise bei einer Fütterung ein Eiweißquantum zu sich, das 39,2 g Stickstoff entspricht.

Ein Beweggrund zu diesem Versuch war die Absicht festzustellen, inwieweit die Stickstoff- und Schwefelausscheidung nach übermäßiger Fleischkost sich von derjenigen nach Serum-eiweiß bei einem Tier, dessen Ernährungs- und Ausscheidung vorher genau bestimmt worden war, unterscheidet. Gewissermaßen diente auch der Versuch zur Kontrolle der Arbeiten von Falta¹⁾ und anderer über den Zeitpunkt der Ausscheidung nach Eiweißernährung.

¹⁾ Falta, Arch. f. klin. Med. 86.

Einer der Stärkeversuche konnte nicht bis zur Vollendung durchgeführt werden. Er endete durch den Tod des betreffenden Tieres, das schon bei Beginn des Versuches in schlechtem Gesundheitszustand war.

Bei der Sektion des Tieres konnte keine deutliche Todesursache festgestellt werden.

Wir benutzten dieselben analytischen Methoden wie in unseren früheren Arbeiten über Stoffwechsel. Das Fett der Faeces wurde durch Extraktion mit trockenem Ather bestimmt.

Anmerkung: Zur Zeit der Versuchsausführung war die ausgezeichnete Methode von Kumagawa und Suto, die wir in allen unseren folgenden Versuchen angewendet haben, noch nicht beschrieben.

In bezug auf die analytischen Methoden, mit Hilfe derer der Amid- und damit der Harnstoffstickstoff bestimmt wurden, müssen wir auf die Arbeit von Kleiner und Underhill über das Vorhandensein von Allantoin im Harn eines hungernden Tieres verweisen. Bei der Vollendung dieser Arbeit (1907) war die Abhandlung von Underhill und Kleiner noch nicht erschienen. Diese Forscher haben nachgewiesen, daß der Urin von normalen Tieren während des Hungers erhebliche Mengen Allantoin enthält, deren Stickstoffmenge ihrer Meinung nach 8 bis 10%, des Gesamtstickstoffs beträgt. Es ist bekannt, daß bei der Folinischen Methode der Harnstoffbestimmung Allantoin zum Teil gespalten wird. Daher sind die prozentischen Werte für Harnstoff, und deshalb auch für Amidstickstoff vielleicht zu hoch. Leider wird auch das Allantoin bei der Folinischen Methode nicht vollständig hydrolysiert. Man kann deshalb nicht genau sagen, bis zu welchem Grade die Harnstoff- und Amidstickstoffwerte korrigiert werden müßten, um dieser Hydrolyse Rechnung zu tragen.

Andererseits legen uns die von Howe und Hawke ganz kürzlich mitgeteilten Resultate an hungernden Hunden den Gedanken nahe, daß Allantoin und andere nach der Folinischen Harnstoffmethode spaltbare Stoffe in viel geringeren Mengen im Urin vorhanden sind, als dies von Underhill und Kleiner beobachtet worden ist. Howe und Hawke behaupten sogar, daß die Mengen zu gering sind, als daß sie die Schlüsse in bezug auf den Einfluß des Hungers und der Kost auf die Harnstoffbildung beeinträchtigen könnten. Aus ihrer Zusammen-

fassung, S. 248 ihrer Abhandlung, geht hervor, daß die durchschnittlichen Allantoin-Stickstoffwerte von 0,15% bis zu 0,71% des Gesamtstickstoffs schwanken. Während des Fastens beträgt der Prozentsatz für zwei Hungerzeiten 0,26% und 0,31%. Das höchste Verhältnis von Allantoinstickstoff zum Gesamtstickstoff ist am 22. Tage der zweiten Hungerperiode, wo 1,17% des gesamten Stickstoffs als Allantoinstickstoff ausgeschieden wurde.

Stickstoff- und Schwefelverlust beim Hunger.

Unsere Kenntnisse über die Schwefelausscheidung während des Hungers sind weniger vollständig. Wie erwähnt, steigt in den Versuchen von Underhill und Kleiner beim Hunde die Gesamtschwefelausscheidung bis zum 3. Hungertage, um dann wieder abzunehmen. Aus unseren Versuchsprotokollen ist jedoch ersichtlich, daß dieses Verhalten keine Regel ist. Das Gegenteil ist beim Hund 382 der Fall. Die höchste Stickstoffausscheidung ist am 3. Fastentage, von da an fällt sie, und die Schwefelausscheidung bewegt sich auf einer identischen Kurve. Bei dem Hund 381 ist der Höhepunkt für den Stickstoff am 2. Tage; der Schwefel fällt andauernd. Es scheint, als ob eine gewisse Menge Schwefel von der Kost am vorhergehenden Tage zurückgehalten worden war und, nachdem sie am 1. Hungertage ausgeschieden, das Ansteigen am 2. Tage verdeckte. Beim Hunde 174 ging der Stickstoff am 4. Hungertage hinauf. Wir fanden keine Parallele hierzu beim Schwefel, der am 1. Tage den Höhepunkt erreicht hat. Bei Vernachlässigung dieses Tages jedoch verlaufen die Stickstoff- und Schwefelausscheidungen ganz analog.

Die Bedingungen, die für die Schwefelausscheidung maßgebend sind, bestehen augenscheinlich auch für die Stickstoffausfuhr.

Beim Hunde 179, der bei Versuchsbeginn körperlich elend war, zeigte die Schwefelausscheidung während der ganzen Fastenzeit eine Tendenz zum Ansteigen, und in Übereinstimmung damit auch die Stickstoffausscheidung.

Einfluß der Nahrung mit ungenügendem Caloriengehalt auf die Stickstoff- und Schwefelausscheidung.

In seiner Abhandlung über den menschlichen Stickstoffstoffwechsel unter dem Einfluß von spezifischem Stickstoffhunger

erwähnt Landergren, daß es für pathologische Zwecke wichtig ist, den Einfluß calorisch unzureichender Kost auf die Stickstoffausscheidung zu kennen. Bis zu einem gewissen Grade beantworten unsere Ergebnisse diese Frage, sie erstrecken sich aber leider nur auf den Hund.

Wenig Gebiete der Stoffwechselphysiologie haben eine so gründliche Bearbeitung erfahren wie der Einfluß von Kohlenhydraten und Fetten auf die Stickstoffausscheidung. Um so erstaunlicher ist es, daß die systematische Prüfung der ungenügenden Mengen dieser Stoffe in ihrem Einfluß auf die Stickstoff- und Schwefelausscheidung nicht genug Berücksichtigung gefunden hat. Unsere Resultate sollen, soweit es sich um Hunde handelt, die Lücke ausfüllen.

Angenommen, daß eine Kost von ca. 70 Calorien per Kilogramm für die Ernährung der Hunde zu diesen Versuchen notwendig ist, so muß eine Verfütterung mit nur 28% (20 Calorien per Kilogramm) des notwendigen Brennwertes eine unmittelbare Wirkung auf die Stickstoff- wie Schwefelausscheidung ausüben.

Um die diesen Tieren gegebenen Futtermengen mit größerer Genauigkeit zu bestimmen, haben wir die Körperoberfläche dieser Hunde nach Meehs Formel berechnet, nämlich mit Hilfe des Faktors 11,2 für die Oberfläche und des von Erwin Voit¹⁾ angegebenen für die Wärmeerzeugung per Quadratmeter bei mittlerer Temperatur. Dies ergab für den Hund 1039. Die zu verschiedenen Zeiten während der 6 Versuche gemachten Berechnungen auf der folgenden Tabelle I geben die notwendigen Energiemengen der Tiere und die verabreichten Rationen an. Auf der letzten Spalte ist der prozentische Gehalt der als Kost verfütterten Energie angeführt.

Die Leser werden daraus ersehen, daß die verabreichte Energiemenge zwischen 23,5 und 73,8% des Bedarfs schwankt.

Das tritt deutlich beim Versuch 171 zutage, wo die Ausscheidung in der Hungerreihe zwischen 2,4 und 1,4 g schwankte, während bei Fütterung mit 20 Cal. Kohlenhydrat die durchschnittliche Stickstoffausscheidung ganz deutlich unter 1,0 g betrug. Die darauffolgende Verfütterung von 30 und 40 Calorien schien nicht einen so ausgesprochenen Einfluß auf die Stickstoffausscheidung zu haben. Das gleiche gilt vom Schwefel. Die Kohlenhydrate wirkten erst entschieden einem Schwefelverlust entgegen. Die Wirkung schien jedoch andererseits im weiteren

¹⁾ Erwin Voit, Zeitschr. f. Biol. 41, 120, 1901.

Verlauf des Versuchs nachzulassen, und das Verhältnis des Gesamtschwefels zum Gesamtstickstoff, das im Hunger, von einer Ausnahme abgesehen, sich zwischen 3,7 und 4,2 bewegte, stieg folglich bis auf 8,5. So hat es den Anschein, als ob das Kohlenhydrat bei diesem Tier den Abbau des Eiweißes mit einem höheren Schwefelgehalt nicht verhindern konnte.

Tabelle I.

Tier Nr.	Periode	Gewicht kg	Calorischer Bedarf	Verfütterte Cal.-Menge	Energiezufuhr %
381	Beginn	13,2	638	264	41,3
	20 Cal.	11,5	590	230	39,0
	40 "	11,5	590	450	76,3
	Ende	9,8	533	—	—
382	Beginn	10,5	555	—	—
	20 Cal.	9,2	509	184	36,1
	40 "	9,7	528	388	73,8
	Ende	7,7	451	—	—
150	20 Cal.	4,4	310	—	28,0
	40 "	3,4	262	—	51,8
	20 "	2,5	213	—	23,5
135	20 "	7,8	455	156	34,3
	30 "	6,6	407	198	48,4
	40 "	5,8	373	232	62,2
174	Beginn	7,5	446	—	—
	20 Cal.	6,5	406	131	32,3
	20 "	6,2	393	125	31,8
	40 "	5,6	364	223	61,3
	20 "	5,1	343	102	29,8
179	Beginn	5,0	337	—	—
	20 Cal.	3,8	285	76	36,8
	30 "	3,3	258	100	38,7

Der zweite Versuch mit Stärke gleicht dem ersten bis auf die viel höheren Verhältnismerte von Schwefel zu Stickstoff während des Hungers. Das Tier muß vermutlich dauernd jene bereits erwähnten Eiweißstoffe mit größerem prozentischen Schwefelgehalt abgebaut haben.

Es ist vielfach in der Literatur auf die Todesursache bei Hunger verwiesen worden; Schulz führt sie auf Autointoxikation zurück, die, hervorgerufen durch Nahrungsmangel, ein Ergebnis unregulären Stoffumsatzes ist. Es ist deshalb möglich, daß gewisse Eiweißkörper, die unter normalen Umständen nicht ausgenutzt werden, unter diesen Verhältnissen abgebaut werden,

ein Prozeß, den man in dem Verhältnis des Stickstoffs zum ausgeschiedenen Schwefel verfolgen kann. Jedenfalls verdient dieses Schwefel-Stickstoffverhältnis beim Hunger, das in Vergiftungsfällen mit übermäßigem Eiweißabbau verknüpft ist, mehr Aufmerksamkeit, als man gewöhnlich dem Gegenstande zugewandt hat.

Einige Forscher haben die Behauptung aufgestellt, daß Fett allein den hungernden Organismus nicht vor Stickstoffverlust schützen kann, sondern daß es nur in Gegenwart von minimalen Kohlenhydratmengen in diesem Sinne wirksam ist. In den vorliegenden Versuchen über den Einfluß des Fettes auf den Stoffwechsel ist die Stickstoff- und Schwefelausscheidung des fastenden Tieres unbekannt. Wenn wir aber den ersten Tag der Fettfütterung als Maßstab für die Stickstoffausscheidung nehmen, geht daraus ein durch das Fett bewirkter Stickstoffschutz hervor. Jedoch dürfen wir den Gesichtspunkt nicht vernachlässigen, daß in allen Hungerzuständen der Organismus das Bestreben hat, sich niedrigeren Eiweißmengen anzupassen, so daß es in diesem Fall schwer ist, festzustellen, ob die geringe Abnahme der Stickstoffausscheidung durch den schützenden Einfluß des Fettes, die Anpassung des Organismus oder durch beide Faktoren zugleich bedingt ist.

In bezug auf den Schwefel ist im Versuch 135 anscheinend ein durch das Fett bedingter Schwefelschutz wahrzunehmen, denn während des letzteren Teils des Versuchs ist das Schwefel-Stickstoffverhältnis bestimmt niedriger, aber nicht so im Versuch 150. Da erhält man Schwefel-Stickstoffverhältnisse, die darauf hinweisen, daß schwefelreiches Eiweiß angesetzt worden ist.

Die Sachlage ändert sich bei calorisch unzureichender Kost. Nach einem durch Hunger bedingten Stickstoffverlust von 14,9 g in Nr. 381 sehen wir eine augenblicklich eintretende Stickstoffretention nach Verabreichung von 20 Calorien Eiweiß, und das hält während des ganzen Versuchs an.

An manchen Stellen scheint ein Bestreben, das Stickstoffgleichgewicht aufrechtzuerhalten, zu bestehen, aber jeden Tag ist die Stickstoffausfuhr unterhalb der Einfuhr. Dies ist ein Beweis, daß der Organismus sogar bei großen Stickstoffmengen, wenn die Gesamtnahrung die Bedürfnisse des Tieres nicht deckt, den Stickstoff zurückzuhalten bestrebt ist und es vorzieht, die

nötige Energie aus Fett und möglicherweise Kohlenhydrat sich zu verschaffen, als das Eiweiß aufzubrauchen.

Ganz genau dieselbe Erscheinung sehen wir am Hunde 382. Nach einem Stickstoffverlust von 23,7 g während des Hungers tritt eine sofortige tägliche Retention von 1,0 g auf, als nur 20 Calorien gänzlich aus Fett bestehender Nahrung verfüttert werden. In diesem Falle bemerkt man zwar, daß während der folgenden Tage die Stickstoffausscheidung im Urin ansteigt und die Tendenz nach einem Stickstoffgleichgewicht besteht. Aber nach 30 Calorien Eiweiß beträgt die tägliche Retention 2,0 g.

Es ist beachtenswert, daß, wenn die Eiweiß-Stickstoffmenge abnimmt, wie in der zweiten 30 Calorien-Periode, die Stickstoffausscheidung entschieden steigt. Möglicherweise braucht der Organismus nach der längeren Fastenzeit und aus Mangel an nicht-stickstoffhaltigen Brennstoffen das ganze und mehr als das verfütterte Eiweiß, das zum Leben erforderlich ist. Daß die Ausnutzung dieses Stoffes nicht von wesentlicher Bedeutung ist, zeigt das Verhalten des Hundes während dreier folgenden Hungertage. Nachdem ihm alle Nahrung entzogen worden ist, tritt eine niedrige Stickstoffausscheidung ein, die fast derjenigen während der früheren Hungerperiode vor 20 Tagen gleichsteht. Es scheint, als ob das Tier genug N-freie Stoffe in ganz so verfügbarer Form wie in der vorhergehenden Reihe aufgespeichert hatte. Der Umstand verdient beachtet zu werden, daß bei diesen beiden Tieren die Stickstoffausscheidung sogleich auf dasselbe Niveau wie in der letzten Fütterungsperiode fällt. Hund 381 hat 4 Hungerperioden, die voneinander durch verschiedene Fütterungsversuche getrennt sind, durchgemacht, und in jeder einzelnen ist dieses Niveau fast das gleiche oder, wie in der allerletzten, ein wenig höher.

Das Schwefelgleichgewicht verläuft bis zu einem gewissen Grade dem des Stickstoffs analog, nur wird während der ersten Fütterungsperiode verhältnismäßig viel mehr Schwefel als Stickstoff zurückgehalten.

Nach einem Schwefelverlust von 1,3 g in der ersten Hungerperiode finden wir eine Retention von 1,2 g Schwefel während der ersten 4 Tage, dagegen werden von 17,9 g Stickstoff nur 11,6 g zurückgehalten. Es scheint also, als ob der Organismus

die schwefelhaltigen Aminosäuren den schwefelfreien bei der Retention vorzöge.

In den folgenden Bilanzen (Nr. 381) beträgt der Prozentsatz des zurückgehaltenen Schwefels praktisch 10, bei dem gefütterten Eiweiß betrug er 9,1, so daß wir annehmen können, daß durch die ganze Fütterungsperiode hindurch 1% Schwefel angesetzt wurde.

Das Verhalten des Tieres 381 ist nicht ganz so einfach. Bei einem Verlust von 23,7 g Stickstoff und 1,2 g Schwefel während der ersten Fastenperiode wurden nur 0,95 g Stickstoff während der Fütterungsperiode mit 20 Calorien Eiweiß zurückgehalten und 0,46 g Schwefel von 2,6 g eingeführtem. Das Tier macht einen viel erfolgreicherer Versuch als das vorhergehende, Schwefel anzusetzen. In der zweiten, 30 Calorien, Reihe wird fast ebensoviel Schwefel wie Stickstoff zurückgehalten.

Als Gesamtresultat des Versuchs können wir feststellen, daß 32 g Stickstoff und dementsprechend nur 0,29 g Schwefel verloren worden sind.

Wenn man 32 g Stickstoff im Eiweiß $\frac{0,65}{7,16} \times \frac{32}{1} = 2,9$ g zurückgehaltenen Schwefel als gleichwertige Mengen annehmen kann, so erhält man eine vergleichbare Retention von 2,9—0,29 = 1,61 g Schwefel. Eine ähnliche entsprechend große Schwefelretention tritt bei den Fettfütterungsversuchen auf. Bei einem Stickstoffverlust von 35,1 g in Versuch 135 beträgt die Ausscheidung nur 2,3 g Schwefel; das Schwefel-Stickstoffverhältnis ist also 6,5. In Versuch 150 werden in der gleichen Zeit 4,6 g Stickstoff und 2,8 g Schwefel ausgeschieden, das ergibt ein Verhältnis von 7,8.

Die Stickstoffverteilung im Hunger.

Aus den Untersuchungen von Brugsch¹⁾ und Cathcart²⁾ über Hunger beim Menschen scheint hervorzugehen, daß die stickstoffhaltigen Bestandteile im Urin in verschiedener Weise verteilt sein können, die von dem Ernährungszustande des Tieres vor dem Fasten abhängen. Natürlich ist solch eine Beobachtung von wesentlicher Bedeutung für die Schlüsse, die

¹⁾ Brugsch, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1.

²⁾ Cathcart, l. c.

man aus einer Prüfung der Stickstoffverteilung in klinischen Fällen oder bei experimenteller Forschung ziehen kann. Wir wissen, daß der Hund sich anders als der Mensch bei der Kohlenhydratentziehung verhält, und es ist wichtig nachzuweisen, ob diese Tiere während der Inanition einen regelmäßigeren Typus des Stoffwechsels als den menschlichen, insofern es sich um ihre Stickstoff- und Schwefelverteilung handelt, darstellten.

Die neuesten und sehr vollständigen, schon vorher erwähnten Ergebnisse von Howe und Hawke geben uns, obgleich sie sich auf nur ein Tier erstrecken, genauere Auskunft über die Stickstoffverteilung bei längerem Hungerzustand. Die Schwefelanalysen werden zu ihrer Arbeit nicht mitgeteilt, ihre Resultate, kurz zusammengefaßt, sind folgende: Die Autoren finden das Harnstoffverhältnis während des Fastens oder vielmehr während des Verlaufs einer langen Fastenzeit so gut wie konstant, nämlich für den ersten Abschnitt 89,13 und 86,51 für den zweiten.

Die Ammoniakverhältnisse waren für die beiden Hungerperioden 4,59 und 4,59. Es waren keine Anzeichen von zunehmender Acidosis, wie man sie beim hungernden Menschen beobachtet, vorhanden.

Viel Aufmerksamkeit wurde der Frage nach dem Einfluß des Hungerns auf die Kreatinin- und Kreatinausscheidung geschenkt. Es ergab sich, daß das Kreatinin bei einer ziemlich gleichen Durchschnittsausscheidung in jeder Hungerperiode allmählich abnahm. Daß das Kreatinin nicht eine Funktion des Körpergewichts war, beweist die Tatsache, daß der Kreatininkoeffizient (Verhältnis des Kreatinins zum Körpergewicht) nicht konstant war, und zwar nahm er langsamer als das Gewicht ab. Kreatin hat die Tendenz, während des Fastens langsam zuzunehmen, das Anwachsen geht aber in ein schnelles Tempo bei der Stickstoffsteigerung vor dem Tode über. Einer von uns hat dieselbe Erscheinung früher bei Blausäurevergiftung und bei Lungenentzündung beim Menschen¹⁾ konstatiert.

Die Form des unbestimmten Stickstoffs nahm mit dem Fortgang des Hungerns ab. Die Verfasser stellen fest, daß die

¹⁾ Wolf und Lambert, Arch. f. intern. Med. 5, 406, 1910.

Menge des zerstörten Gewebes in der zweiten Hungerperiode kleiner ist; sie stimmen also mit Schulz überein, der den Nachweis erbracht hat, daß wiederholtes Hungern das Tier befähigt, sich einer niederen Stufe des Eiweißumsatzes anzupassen.

Amidstickstoff.

Dieser Bruchteil, der, wie wir glauben dürfen, die Desamidierungsfähigkeit des Organismus darstellt, ist bei diesen Ausführungen über den Hungerstoffwechsel von großem Interesse, denn man ist wohl berechtigt anzunehmen, daß die relativen Harnstoff- und Ammoniakwerte beim Hunger ebenso niedrig wie bei der Ernährung sein werden.

Die beim Studium des hungernden Menschen gefundenen Werte sind entschieden niedriger als diejenigen bei Ernährung (Cathcart).

Das gleiche gilt hier von unseren Untersuchungen, nur daß der Unterschied nicht ganz so scharf ist; die höheren Werte kommen sogar denen bei Eiweißnahrung sehr nahe. Jedoch muß im Auge behalten werden, daß der Amidstickstoff und folglich der Harnstoff-Stickstoff in diesen Versuchen durch einen Umstand, der bei der Ausführung dieser Untersuchungen unbekannt war und vorher schon erwähnt worden ist, sich kompliziert gestaltet.

Es kann nämlich möglich sein, daß einige während des Hungers von uns beobachteten sehr hohen Harnstoff-Stickstoffwerte reduziert werden müssen mit Rücksicht auf das in diesen Urinmengen vorhandene Allantoin. Von den analysierten Harnen wurde das höchste Verhältnis beim Tiere 179 gefunden, wo am vierten Fasttage 94% des Gesamtstickstoffs in dieser Form ausgeschieden wurden. So weit wir es übersehen können, besteht keine Beziehung zwischen der Hungerdauer und der in Amidform ausgeschiedenen Stickstoffmenge; der höchste Amidstickstoffwert wurde am Hunde 179, nämlich 41,1%, am achten Hungertage festgestellt.

Bei gewissen Tieren jedoch, wie z. B. bei Nr. 382, erhält sich ein sehr konstanter Wert während der ganzen Zeit der Nahrungsentziehung. Bei diesem Tiere schwankte er zwischen 88,9% und 91,7%.

Was wir über den Amidstickstoff bezüglich seines Allantoingehaltes gesagt haben, gilt auch für den Harnstoff-Stickstoff.

Wahrscheinlich muß die relative Menge des in diesen Hungerversuchen gebildeten Harnstoff-Stickstoffs verringert werden, um den wahren Wert zu erhalten. Doch geben die Zahlen von Hawke für die Allantoinausscheidung bei hungernden Hunden einen viel niedrigeren Prozentwert des Allantoinstickstoffs als die Resultate von Underhill und Kleiner, einen so niedrigen, daß man die Menge in der vorliegenden Untersuchung unbeanstandet vernachlässigen könnte. Howe und Hawke berichten in ihrer Stickstoff-Stoffwechseluntersuchung, daß sie in den von ihnen bezüglich des Allantoinstickstoffs untersuchten Hunden 0,2 und 0,4%, des Gesamtstickstoffs fanden, eine Menge, die bei unserer vorliegenden Diskussion eine ganz geringe Rolle spielen würde.

Wenn wir aus allen Resultaten an den einzelnen Versuchstieren das Mittel ziehen, so schwanken die Harnstoff-Stickstoffwerte zwischen 77,8% (Nr. 381 während der letzten 4 Tage) und 84,2% (Nr. 382 während der letzten 4 Tage).

Eine Untersuchung des Fastens am Anfang oder Ende der Periode zeigt augenscheinlich keinen markanten Unterschied in dem als Harnstoff ausgeschiedenen Stickstoffverhältnis.

Die Harnstoffausscheidung im Hunger bewegt sich also in den ziemlich weiten Grenzen von 73,3 bis ungefähr 90%, die Abweichungen können demnach fast 17% umfassen.

Ammoniakstickstoff.

Der Ammoniakwert beim Hunde ist wegen einer fehlenden Acidosis im Hungerzustande interessant, folglich sollte man die beim Menschen auftretenden Schwankungen nicht erwarten, die zum Teil durch die große Ausscheidungsmenge von Acetonkörpern und deren Neutralisation bedingt sind. Doch, die 4 Versuche als Ganzes betrachtet, weisen hier sehr bedeutende Abweichungen auf. Beim Tiere 179 z. B. schwankten die Werte zwischen 16,8 und 2,2%. Daß der erstgenannte nicht auf der Urinzeretzung beruht, geht daraus hervor, daß dem hohen Wert in dieser und andern ähnlichen Harnentleerungen viel niedrigere folgen. Wenn Blaseninfektion und Urinzerfall die Ursache davon wären, wie es Underhill und Kleiner unter Bezugnahme auf unsere früheren Ergebnisse auslegen, könnte dies kaum der Fall sein. Wir möchten

glauben, daß in keinem der von uns beschriebenen Versuche die hohen Ammoniakwerte durch Blaseninfektion bedingt sind, noch kann man die von uns beobachtete geringe alkalische Reaktion des Urins dieser selben Ursache zuschreiben. Bei einem der Tiere, 174, betrug die Ammoniakmenge sogar einen höchst niedrigen Prozentsatz, nämlich 1,6% des Gesamtstickstoffs. Es ist deshalb einleuchtend, daß man die Abweichungsgrenzen der relativen ausgeschiedenen Mengen von Ammoniakstickstoff bei hungernden Hunden nicht vorhersagen kann. Sie sind, wie beim Menschen, teils von dem Ernährungszustand des Organismus, teils von der Art des zur Verbrennung gelangenden Materials abhängig. Interessant ist der Umstand, daß die höchsten Zahlen für das Verhältnis des Ammoniaks zum Gesamtstickstoff bei dem Tiere auftraten, das in schlechter Verfassung sich befand und nachher starb.

Kreatinin und Kreatin.

Obleich Meinungsverschiedenheiten über die Beziehung dieser beiden Stoffe im Harn bestehen, glaubten wir, daß es gerade aus diesem Grunde zweckmäßig wäre, sie beide zusammen hier zu besprechen, damit irgendwelche Beziehung oder Unabhängigkeit um so deutlicher klargelegt werden kann.

Die Behauptungen, die bezüglich des Verhaltens von Kreatinin im Hungerzustande gemacht worden sind, werden durch diese Resultate bestätigt. In jedem Versuch findet eine allmähliche Abnahme in der ausgeschiedenen Kreatininmenge statt. Andererseits scheint das Kreatin zu verschiedenen Zeiten im Harn zu erscheinen und in keiner Beziehung zu der ausgeschiedenen Kreatininmenge zu stehen. Einige Forscher haben schließen wollen, daß mit dem Erscheinen des Kreatins im Urin die Totalmenge von Kreatin- und Kreatinstickstoff der ursprünglichen ausgeschiedenen Kreatininmenge gleich ist. Das könnte zu dem weiteren Schluß führen, daß das Kreatin als Folge der Unfähigkeit des Organismus, jene Substanz in Kreatinin zu verwandeln, im Urin auftrete.

Bei einer Prüfung unserer Resultate wird sich zeigen, daß eine geringe Beziehung zwischen der ursprünglich im Harn befindlichen Kreatininmenge und dem Quantum Kreatinin und Kreatin, das später als Hungerprodukt erscheint, besteht.

Scheinbar ist das Kreatin auf gewisse Art und Weise mit dem Glykogenreservenvorrat des Tieres, der in den ersten Hungertagen aufgebraucht wird, verknüpft. Bei dem Hund 179 z. B. war die Kreatininausscheidung bei Beginn des Versuchs 0,045 und fiel im Verlaufe des Fastens auf 0,021. Am vierten Tage, als sich 0,035 g Kreatinin im Urin befanden, war die gleiche Menge Kreatin vorhanden, das ergibt 0,070 g Stickstoff, der auf diese zwiefache Weise erscheint. Bei dem Hunde Nr. 174 trat Kreatin in den ersten Fasttagen auf und verschwand gegen Ende; ähnlich lagen die Ausscheidungsverhältnisse von Kreatinin und Kreatin auch in den andern zwei Versuchen.

Gestützt auf die Resultate dieser und anderer von uns ausgeführten Untersuchungen an Tieren und Menschen, sind wir vorläufig nicht geneigt, an die Beziehung zwischen diesen beiden Stoffen, soweit es sich um den Urin handelt, zu glauben. Unsere Ansicht ist in Übereinstimmung mit Folin und andern, daß das Kreatinin gewisse mit dem allgemeinen Stoffwechsel im Zusammenhang stehende Vorgänge darstellt, und daß die beobachtete Abnahme in seiner Ausscheidung durch die Einschränkung jener Prozesse als Folge der Nahrungsentziehung bedingt ist. Eine erschöpfende und befriedigende Erklärung ist für das Erscheinen des Kreatins im Urin bis jetzt nicht gegeben worden, denn es kann nicht, wie Schwarz¹⁾ in diesem Laboratorium gezeigt hat, gänzlich von einer negativen Bilanz herühren. Es scheint, als ob im Hunger und in einigen pathologischen Zuständen gewisse Stoffe zum Stoffwechsel herangezogen werden, die unter normalen Bedingungen nicht aufgebraucht werden, und daß dieser Umsatz der Gewebe unter dem Einfluß der geringen, den Hungerversuchen folgenden Nahrungsmengen das Erscheinen des Kreatins hervorruft.

Wir sehen, daß Kohlenhydrate sowohl wie Eiweißstoffe einen unverkennbaren Einfluß auf die Kreatinausscheidung haben, denn der Stoff verschwindet aus dem Urin in sehr kurzer Zeit nach Zuführung von einem der beiden. Andererseits scheint Fett seine Ausscheidung weniger zu beeinflussen. In beiden Fällen von Fettfütterung traten erhebliche Kreatinmengen im Urin auf, die während des ganzen Verlaufs der Versuche fortbestanden.

¹⁾ Schwarz, Jahrb. f. Kinderheilk. 72, 549, 1910.

Reststickstoff.

Im allgemeinen hat die absolute Menge des Reststickstoffs das Bestreben, während des Hungers abzunehmen, obgleich die Beziehung zwischen dieser Stickstoffart zum Gesamtstickstoff ganz erheblichen Schwankungen unterworfen ist.

Schwefelstoffwechsel.

Nicht viel Aufmerksamkeit ist der Schwefelausscheidung im Hunger zugewandt worden, obgleich dieser Teil des Stoffwechsels uns gerade Anhaltspunkte bietet, denselben von einem anderen Gesichtspunkte aus zu studieren. Viel Material früherer Untersuchungen kann wegen der dabei benutzten mangelhaften technischen Methoden außer zur Bestätigung neuerer Resultate nicht berücksichtigt werden. Wie wir schon in unserer früheren Mitteilung erwähnten, müßten wir imstande sein, durch die Prüfung der Schwefelstickstoffwerte festzustellen, ob die zum Abbau gelangende Eiweißart bezüglich ihres Schwefelgehalts Veränderungen erleidet, und ob die zur Harnstoffbildung führenden Prozesse in derselben Weise beeinflußt werden wie diejenigen, die den Schwefel des Eiweißmoleküls in die bei der Ausscheidung auftretende Schwefelform umwandeln.

Gesamtsulfate.

Da die Schwefel-Stickstoffverhältnisse schon bei den Bilanzen dieser Stoffe erörtert worden sind, erfordert nur noch die Ausscheidungsweise des Schwefels eine Auseinandersetzung. Die Sulfatwerte scheinen viel größeren individuellen Schwankungen unterworfen zu sein, als irgendwelche des Stickstoffs. Bei einer durchschnittlichen Ausscheidungsmenge finden wir, daß bei Hund Nr. 382 83% des Gesamtschwefels in der Form von schwefelsauren Salzen ausgeschieden wird (Durchschnitt von 4 Tagen), während Nr. 381 in derselben Zeit nur 68,4% in dieser Form eliminiert hat.

Der niedrigste Wert für den Gesamtschwefelsäure-Schwefel wurde bei dem Tiere Nr. 174 in der gleichen Zeitdauer festgestellt, und zwar schied dieser Hund nur 52,1% des Schwefels in einen vollständig oxydierten Zustand aus. Daß der Oxydationszustand in keiner Beziehung zu dem Harnstoffbildungsvermögen des Tieres steht, geht daraus hervor, daß das Tier

Nr. 174, bei dem die niedrigste Oxydationsmenge beobachtet wurde, eine auf den Amidstickstoffwert bezogene ebenso hohe Desamidierungsfähigkeit wie das Tier Nr. 382, das den höchsten Amidstickstoffwert aufwies, besaß.

Ätherschwefelsäure-Schwefel.

Der Ätherschwefel, der, wie angenommen wird, zum größten Teil der im Darm auftretenden Fäulnis entstammt, wird bei einigen Tieren in sehr gleichbleibenden Mengen während des Hungerns ausgeschieden.

In einigen Versuchen ist die Ätherschwefelmenge ganz so konstant wie irgendeine der anderen analysierten Substanzen, wobei die Schwankungen in den Zahlen von der Nahrung gänzlich unabhängig sind. In unserer älteren Arbeit haben wir einige der Gründe aufgeführt, warum wir den Ätherschwefel für nicht ganz so von der Darmfäulnis abhängig halten, wie im allgemeinen behauptet wird, und diese unsere Ansicht wird durch die vorliegenden Versuche bestätigt. Indican, das zweifellos das Produkt von Fäulnisprozessen im Darm ist, steht in keiner Beziehung zu den Äthersulfaten, denn die Indicanmenge schwankt ganz unabhängig von der Menge des im Harn auftretenden Ätherschwefelsalzes. Scheinbar hängt die ausgeschiedene Ätherschwefelmenge bis zu einem gewissen Grade von der Nahrung ab, denn nach der Eiweißzufuhr (Hund 382) sehen wir die kleine darauf ausgeschiedene Ätherschwefelmenge in gleichem Maße wie die verfütterte Eiweißration an- und absteigen. In dieser Hinsicht ist es dem neutralen Schwefel nicht ungleich, die Zu- und Abnahme bewegt sich in derselben Richtung wie die Nahrungszufuhr, ist aber keineswegs gleich groß. Es ist schwer zu sagen, bis zu welchem Grade der Ätherschwefel zum großen Teil endogenen Ursprungs ist, denn bei manchen Tieren, namentlich bei 174, war die in dieser Gestalt auftretende Schwefelmenge erstaunlich klein und blieb während des ganzen Versuchs fast die gleiche.

Neutraler Schwefel.

In der letzten Zeit hat man dem neutralen Schwefel eingehendes Interesse wegen der engen Beziehung zwischen diesem Teil des Schwefels zu dem Teil des Stoffwechsels, mit dem

das Kreatinin und in gewissem Maße auch der Reststickstoff verbunden sind, geschenkt. Seine Bedeutung sollte im Hungerzustand eine wesentliche sein, denn wenn er in irgendwelchem Maße den endogenen Stoffwechsel vorstellt, so müßten wir beobachten können, ob eine Abnahme in dieser Art Gewebszerfall, wo der Stickstoff durch Kohlenhydrate vom Abbau beschützt ist, eintritt. Im weiteren Verlauf des Hungerzustandes ist das Verhalten aller Tiere nicht das gleiche. Bei Nr. 381 z. B. verringerte sich die absolute Menge des neutralen Schwefels, während sie bei Nr. 382 viel konstanter in der täglichen Ausscheidung blieb. Eine ähnliche Konstanz wird bei dem Kohlenhydrattier Nr. 174 beobachtet, während die ausgeschiedene Menge bei dem zugesellten etwas elenden Tier Nr. 179 größer ist und sich bei Fortschreiten der Hungerperiode auf einer absteigenden Bahn bewegt. Bei dieser Gelegenheit möchten wir erwähnen, daß, während die Ausscheidung neutralen Schwefels durch die Verabreichung von Kohlenhydraten bei dem Versuch Nr. 174 kaum beeinflußt wurde, bei dem kürzeren Nr. 179 eine sofortige Verringerung dieses Bruchteils von Schwefel nach Kohlenhydratzufuhr zu bemerken war.

Vielleicht schwankt keine Beziehung bei den einzelnen Tieren in solchem Grade wie das Verhältnis von neutralem zum Gesamtschwefel, sind doch die äußersten Werte bei einem Tiere größer als beim andern. Das Versuchstier Nr. 382 scheidet nur 9,3% des Gesamtschwefels als neutralen an einem Versuchstage aus, bei dem Hund 174 dagegen ist das Verhältnis der beiden Schwefelarten am fünften Hungertage 63,2%.

So weit wir übersehen können, liegt keine Ursache für diese außerordentliche Abweichung in der Art des Schwefelabbaues vor. Sicher ist nur das eine, daß wir in dem Umsatz der stickstoffhaltigen Bestandteile der Nahrungsmittel keine solchen Unterschiede finden.

Die Stickstoff- und Schwefelverteilung bei der Eiweißfütterung.

Wir haben schon auf die bezüglich der Stickstoff- und Schwefelverteilung bei der Eiweißfütterung bekannten Tatsachen verwiesen. Die hier mitgeteilten Ergebnisse sind zum Teil eine Bestätigung der Behauptungen anderer Forscher.

Sowohl die Amid- wie die Harnstoff-Stickstoffverhältnisse sind zweifellos von der Eiweißzufuhr abhängig. Gleichzeitig mit der Verabreichung steigt das Verhältnis des als Harnstoff und Ammoniak ausgeschiedenen Stickstoffs an, bis bei Tier Nr. 381 97% des Gesamtstickstoffs in dieser Form ausgeschieden werden. Die Steigerung nimmt bei zunehmenden Eiweißmengen in geringem, aber doch deutlichem Maße zu. Der höchste Durchschnittswert erscheint während der Fütterungsperiode mit 40 Calorien per Kilogramm, nämlich bei dem Hund Nr. 381 95,9% des Gesamtstickstoffs als Amidstickstoff und bei dem Hund Nr. 382 95,9%. Dasselbe kommt für den Amidstickstoff in Betracht. Er folgt der Eiweißzufuhr und wirkt wie gesteigerte Eiweißaufnahme beim Menschen. Der Ammoniakstickstoff wirkt in der gerade entgegengesetzten Richtung, ist scheinbar von der aufgenommenen Eiweißmenge fast unabhängig, denn seine absolute Menge steigt und fällt fast in dem gleichen Maße wie die Nahrungsmenge. Seine Funktion scheint in diesen Versuchen fast gänzlich darauf beschränkt zu sein, die sauren Produkte des Stoffwechsels zu neutralisieren. Der übrige Ammoniak wird zur Bildung des Harnstoffs und anderer stickstoffhaltigen Verbindungen im Urin verwendet. Bei einem Versuchstier steigt das Ammoniakstickstoffverhältnis im Verlauf des Versuchs, aber diese Steigerung verläuft ganz gleichmäßig stufenweise und hört bei der Eiweißabnahme nicht auf. Übrigens ist bei dem Tiere Nr. 381 an dem Tage, an dem 39,2 g Stickstoff als Fleisch verabfolgt worden sind, das Verhältnis fast das gleiche (3,6%) wie bei der vorhergehenden Fütterung. Die Differenzen können den Unterschieden in den säurebildenden Bestandteilen des Fleisches, die anderer Natur als die des Blutserums sind, zugeschrieben werden. Es ist jedoch zu beachten, daß an dem folgenden Tage, an dem keine Nahrung zugeführt, aber doch eine beträchtliche Menge aufgespeicherten Eiweißes vom Tage vorher umgesetzt worden ist, der Wert für Ammoniak steigt und in dieser Beziehung mit dem Verhalten des Tieres im Hunger zu vergleichen ist. Dies würde dafür sprechen, daß abgebautes Eiweiß während des Fastens im aktiven Sinne viel größere Mengen saurer Produkte als das Nahrungseiweiß hervorbringt. 1,5 g als Alanin zugeführter Stickstoff verringerte die Verhältniszahl des Ammoniakstickstoffs des vorhergehenden

Stärke- und Fettwertes von 9,7 auf 2,3^o/_o. Bei einem darauffolgenden 2tägigen Fasten wuchs die Zahl, wie man voraussehen konnte. Bei der Hinzufügung von Stärke und Fett zu einem gleichen Quantum Alanin wird das Ammoniakverhältnis höher als bei der vorangegangenen Hungerperiode. Man bemerkt auch gleichzeitig, daß die durch die große Menge von Stärke und Fett dem Alanin zugeschriebene Sparwirkung gleich Null zu setzen ist. Nach Alanin allein wird fast ebenso viel Stickstoff aufgespart wie bei der Verfütterung dieser Aminosäure unter der Zugabe von 90 g Stärke und Fett.

Kreatinin.

Die hier berichteten Resultate zeigen die Unabhängigkeit der Ausscheidung des Kreatinins von derjenigen des Totalstickstoffs besser als irgendwelche, die früher ermittelt worden sind. Die Eiweißstickstoffmenge in diesen Versuchen schwankt zwischen völliger Entziehung derselben und der dem Tiere Nr. 381 zugeführten Menge, nämlich 0,095 bis 39,2 g. Die größte Schwankung in der Kreatininausscheidung betrug 0,092 und 0,132, wovon letztere Menge am ersten Versuchstage erhalten wurde. Wenn man diesen Tag vom Vergleiche ausschließt, fällt der höchste Bruchteil von 0,128 g auf den Tag, an dem 39,2 g Stickstoff in Fleischform verfüttert wurden. Zweifellos hatte die Zufuhr einer großen Fleischmenge einen Einfluß auf die Kreatininausscheidung, aber die Wirkung steht in keinem Verhältnis zu der enormen Menge zugeführten Stickstoffs. Andererseits ist absolut kein Effekt von Blutalbuminmengen, die 18,2 g Stickstoff ergeben, auf die Ausscheidung der letztgenannten Substanz zu verzeichnen.

Bei dem zweiten zu diesem Versuch gebrauchten Tiere ist die Konstanz in der Kreatininausscheidung der des vorhergehenden gleich.

Kreatin.

Außer den Tatsachen, daß Kreatin im Harn gesunder Menschen und Tiere bei ausreichender Ernährung nicht auftritt und bei hungernden Menschen, wenn es durch den Mund aufgenommen wird, weder als solches noch als in Kreatinin umgewandelt erscheint, wissen wir über sein Verhalten unter verschiedenen Ernährungsbedingungen nur herzlich wenig. Einige

interessante Angaben werden durch die vorliegenden Versuche zutage gefördert. Das durch Hungern entstandene Kreatin ist in bezug auf den Fütterungsmodus des Tieres empfindlich, und nur zwei Nahrungsbestandteile können sein Verschwinden bewirken, und zwar sind dies Eiweiß und die Kohlenhydrate. Die Verabreichung eines dieser beiden Stoffe in Mengen von wenigstens 60%, unterhalb des Nahrungsbedarfs genügt, um das Auftreten dieser Substanz im Harn zu unterdrücken.

Bemerkenswert ist noch der Umstand, daß die Fütterung mit Kohlenhydraten anscheinend das Kreatin wirksamer aus dem Urin verdrängt als diejenige mit Fett. In beiden Fällen stellt sich die Wirkung unverzüglich ein, aber bei den Kohlenhydraten ist die Abnahme des Kreatins eine viel plötzlichere als bei den Eiweißstoffen. Bei dem Versuch Nr. 179 mit Kohlenhydrat beeinflusste letzteres jedoch die Kreatinausscheidung in keiner Hinsicht, was wohl, glauben wir wenigstens, auf dem pathologischen Zustande des Tieres, der zum Tode führte, beruhen dürfte. Bei Nr. 381 und Nr. 382 war das Kreatin gänzlich bei Beginn der 30 Calorien-Periode aus dem Harn verschwunden, ebenso nach 4 Tagen mit 20 Calorien Eiweißfütterung. Während des ganzen hierauf folgenden Verlaufs der Versuche erschien es nicht wieder, bis zum Zeitpunkte, wo 39,2 g Stickstoff als Fleisch verabreicht wurden. Sogar nach dieser großen Fleischmenge erschienen nur 0,064 g Kreatinstickstoff im Harn, was ungefähr 0,18 g Kreatin gleichkommt. Das Tier muß also eine bedeutende Menge Kreatin vollständig umgesetzt haben. Dieser Versuch bestätigt die Befunde von Folin¹⁾ und Klercker²⁾ und einem von uns und Shaffer³⁾. Die Genannten haben gezeigt, daß bei spezifischem Stickstoffhunger die Verfütterung von Kreatin sein Auftreten im Harn nicht bewirkt. Wahrscheinlich verwendet der hungernde Organismus diesen Stoff zur Ernährung in derselben Weise wie andere Nährstoffe.

Reststickstoff.

Der Reststickstoff wurde in diesen Versuchen in einer ziemlich festgelegten Bahn eliminiert, die derjenigen der Harnstoffaus-

¹⁾ Folin, Hammarsten Festschr.

²⁾ Klercker, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 59, 1906.

³⁾ Wolf und Shaffer, Journ. of Biolog. Chem. 4, 441, 1908.

scheidung entgegengesetzt gerichtet ist. Bei Vermehrung der Eiweißnahrung wächst auch die Menge des Reststickstoffs, aber sein Verhältnis zum Gesamtstickstoff nimmt ab. Auf der höchsten Stufe der Eiweißfütterung bleiben nur 2% des Stickstoffs nach Bestimmung von Harnstoff, Ammoniak und Kreatinin übrig.

Gesamtsulfate.

In unserer früheren Arbeit haben wir die Beziehung erwähnt, die, wie man annehmen könnte, zwischen der Verwandlung der Cystingruppe in Sulfate und der Harnstoffbildung, wenn letzterer Prozeß eine Oxydation wäre, besteht. In diesem Versuch hatten wir wieder die günstige Gelegenheit, den Parallelismus zwischen den beiden Vorgängen zu beobachten. Wie wir schon gesagt haben, steigt der Wert für Amidstickstoff bei vermehrten Eiweißmengen, und dieselbe Erscheinung kann man bei dem Wert für den Gesamtschwefelsäure-Schwefel verzeichnen. Die Neigung der Ausscheidungskurve ist im großen und ganzen dieselbe. Bei zunehmenden Eiweißmengen wird eine relativ größere Menge Cystinschwefel in Sulfat umgewandelt, ohne fast dabei die Ausscheidung des Neutralschwefels zu stören.

Die Veränderung, die durch Hunger oder durch Fütterung mit schwefelfreier Nahrung hervorgerufen wird, ist aber viel größer als beim Harnstoff. Das Verhältnis vom Gesamtschwefelsäure-Schwefel zum Gesamtschwefel steigt von 52,8 auf 74,4%, während des Hungers an, bis auf 92,2%, beim Maximum der Eiweißfütterung. Die Wirkung von Hunger und darauf folgender Fütterung ist eine viel auffallendere beim Schwefel als beim Stickstoff-Stoffwechsel. Der Effekt von Eiweißernährung ist bei dem Ätherschwefel zwar bestimmt, aber nicht scharf hervortretend.

Die Menge des Ätherschwefels wird durch Eiweißfütterung gesteigert, aber sogar bei großer Fleischmenge verhältnismäßig wenig.

Neutraler Schwefel.

Im neutralen Schwefel haben wir eine wichtige Gruppe Verbindungen vor uns, deren Ausscheidung beim Menschen verhältnismäßig unabhängig von der gesamten Eiweißzufuhr ist. Die Wirkung der vergrößerten Eiweißverabreichung an Hunde geht aus diesen Versuchen ganz klar hervor. Der

neutrale Schwefel bewegt sich auf derselben Linie wie der Rest-Stickstoff und die Athersulfate. Die ausgeschiedene Menge nimmt proportional mit dem Eiweißumsatz zu, aber der Zuwachs ist im Vergleich zu der als Nahrung eingenommenen Eiweißmenge verhältnismäßig gering. Ein Blick auf den Zahlenwert in dem dritten Versuch, um den es sich hier handelt, wird dies deutlich zeigen. Bei dem Hund Nr. 381 schwanken, im Hungerstadium, die Verhältnisse des neutralen Schwefels zum Rest-Stickstoff zwischen 25,6 und 40,3%, während bei der maximalen Eiweißfütterung der Wert bis auf 9,6% sank. Dagegen scheint der Hund Nr. 382 ein fast konstantes Verhältnis aufrechtzuerhalten, doch diese Tatsache rührt, wie schon vorher erwähnt, möglicherweise von dem Unterschied im Ernährungszustand der beiden Tiere her. Die viel niedrigeren Werte, die bei dem Hund 382 während des Hungers auftreten, scheinen wenigstens darauf zu deuten. Bei einer Verabfolgung einer großen Schwefelmenge auf einmal, wie es z. B. der Fall bei 39,2 g Stickstoff in Fleischform war, setzt der Organismus diese fast vollständig um, und wir erhalten deshalb ein niedriges Verhältnis des neutralen zum Gesamtschwefel. Der Einfluß von Stärke und Fett gleicht in vieler Hinsicht dem, was wir in unserer früheren Mitteilung über „Stickstoff-Stoffwechsel bei minimalen Stickstoffmengen“ berichtet haben. Der Wert für diesen Bruchteil des Gesamtschwefels wächst merklich, sobald eine kohlenhydrathaltige Nahrung verfüttert wird, wofür eine Erklärung schwer zu finden ist. Der Schwefelumsatz scheint anders zu verlaufen, wenn der Eiweißzerfall durch Kohlenhydrate geschützt als wenn Körpereiwweiß ungeschützt ist. Darin haben wir eine parallele Erscheinung zu der Ausscheidung von Acetonverbindungen beim Menschen.

Phosphor.

Wir haben die Gelegenheit benützt und auch die Wirkung von Hunger, Fütterung mit Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten auf die Phosphorauscheidung untersucht.

Bei dem Eiweißversuch wurde der Phosphor in der Nahrung und im Kot nach der Neumannschen Methode bestimmt. Der Phosphor im Harn wurde mit Uranacetat bei Benützung von Cochenille als Indicator bestimmt.

Einige interessante Tatsachen kommen durch diese Versuche ans Tageslicht.

Bei dem Tiere Nr. 381 war die im Harn ausgeschiedene Phosphormenge während der Hungerperiode verhältnismäßig groß, sie betrug nämlich zwischen 0,314 g und 0,215 g täglich. Das Phosphor-Stickstoffverhältnis war 8,4; beim Muskel soll es angeblich 4,3 bis 6,1 betragen. Es ist eine bekannte Tatsache, daß der bei Hunger überschüssige Phosphor durch den Umsatz der Knochengewebe bedingt sein soll, wodurch diese wasserreicher werden.

Nach der Fütterung mit Blutserum wurde die Phosphorausfuhr plötzlich gehemmt und fiel sofort auf 0,011 g täglich während der ersten Fütterungsperiode. Sogar diese geringe Menge nahm noch weiter ab, und während der letzten Fütterungsreihe fehlte Phosphorsäure gänzlich im Harn, so weit dies nach der Uratmethode festgestellt werden konnte.

Leider unterließen wir es, das Vorhandensein organischen Phosphors im Harn zu ermitteln, so daß diese Frage für später aufgehoben werden muß.

Die Wirkung einer hierauf folgenden Hungerperiode trat unmittelbar ein, indem eine etwas größere Phosphormenge als in der ersten Fastenreihe eliminiert wurde. Der erste Tag mit Fleischfütterung nach der zweiten Hungerperiode war in seiner Wirkung den Serumperioden genau entgegengesetzt. Sofort wurde hier eine größere Menge Phosphor ausgeschieden, nämlich an jenem Tage 0,638 g. Augenscheinlich hatte das Tier kaum vermocht, den in der Hungerzeit verlorenen Phosphor aufzuspeichern. In der letzten Fastenperiode fiel die Ausscheidung auf das ursprüngliche Hungerniveau herab.

Ein Einfluß von Fett und Stärke auf die Phosphorausfuhr war bei diesem Tiere nicht zu beobachten.

Die Ergebnisse bei dem Tier Nr. 382 gleichen denen des vorhergehenden, außer daß bei diesem Tier gegen Ende der Eiweißfütterungsperiode die Phosphorausscheidung zunahm, das ist aber dieselbe Periode, in der, wie den Lesern erinnerlich sein wird, die Phosphorsäure im Harn des vorletzten Tieres fehlte.

Nach Stärkekütterung beobachteten wir ein geringes Sinken, das dem geschützten Stickstoff zu vergleichen ist (Versuche Nr. 174 und 179). Verhältnismäßig weniger Stickstoff als Phos-

phor wird in der Hunger- als in der Kohlenhydratperiode ausgeschieden. Das Verhältnis von P zu N ist am letzten Hungertage 6,4, es schwankt zwischen 11,8 und 7,8 bei der Stärkekütterung. Das beweist uns, daß Fütterung mit Kohlenhydraten allein eine weniger schützende Einwirkung auf Phosphor als auf Stickstoff ausübt.

Fette üben jedoch scheinbar dem Eiweiß analoge Wirkungen aus. Obgleich die Hungerzahlen bei diesen zwei Tieren (Nr. 135 und 150) nicht angegeben werden, ist es in Anbetracht unserer bei hungernden Tieren erhaltenen Resultate ganz sicher, daß keine so minimale Phosphorauscheidung wie nach Fettfütterung auftritt.

In beiden Fällen gleicht die Phosphorausfuhr derjenigen während der Eiweißfütterung, nur daß sie von der zugeführten Fettmenge einigermaßen abhängig ist. Man kann deshalb den Satz aufstellen, daß, während Fett keinen entschiedenen Einfluß auf den Stickstoff- oder Schwefelstoffwechsel hat, die Wirkung auf die Phosphorauscheidung nach Hunger eine ganz wesentliche ist.

Es ist uns nicht gelungen, Angaben über Versuche, die Phosphorauscheidung nach Fettfütterung betreffend, zu finden; eine Erklärung dieses eigentümlichen Phänomens ist schwierig.

Wir wissen, daß außer den Knochen viele andere Gewebe zum Phosphorumsatz das ihrige beisteuern, und in manchen Organen, wie z. B. den Nieren, sind die Fette mit großen Phosphormengen verbunden. Wenn diese Fettbestandteile während des Hungerns in ungewöhnlich hohem Maße umgesetzt werden, dann würde eine beträchtliche Menge ihres Phosphors im Urin erscheinen. Wenn man die Ausnutzung dieser Fettstoffe verhindert, könnte man den Ursprung einer großen Phosphormenge beseitigen.

Der Gedanke, daß die Knochen den Phosphorgehalt des Harns so ausgiebig bereichern, erschwert die Annahme der aufgestellten, eben auseinandergesetzten Hypothese bezüglich der Herkunft des Phosphors im Hungerharn. Eine Untersuchung der weichen und knöchigen Gewebe einmal nach einfachem Hungern, das andere Mal nach Hunger mit darauf folgender Fettfütterung würde dieses interessante Problem aufklären helfen.

Nachtrag.

Nach Beendigung dieser vier Versuche bot sich uns die Gelegenheit, noch einige Einzeluntersuchungen, die von Interesse sein dürften, auszuführen. Bei der Verfütterung von Aminosäuren wurde Alanin, die gewöhnliche inaktive Säure, gebraucht und dem Hunde 381 eine Dosis, die 1,56 g Stickstoff gleichkommt, ohne Zusatz von Stärke und Fett zugeführt. Addiert man die Stickstoffausscheidung der vorhergehenden Tage, so findet man, daß nach 1,56 g verfütterten Stickstoffs $2,68 + 1,56 = 4,24 - 3,10 = 1,16$ g zurückgehalten wurden. Gleichzeitig kommt ein merklicher Zuwachs des Reststickstoffs zum Vorschein, die Ausscheidung geht nämlich von 0,236 auf 0,396 g hinauf. Dies bestätigt die Beobachtung von Schittenhelm und Katzenstein¹⁾, die eine Zunahme des Ammoniakbruchteils im Harn nach Fütterung eines Hundes mit einer fast identischen Menge inaktiven Alanins, hier aber ohne gleichzeitigen Stickstoffansatz, fanden. Der Stickstoff des Alanintages erklärt hinreichend das verabfolgte Alanin, vermehrt um die Hungerausscheidung. Im Urin wurde keine Alaninverbindung mit β -Naphthalin-sulfochlorid entdeckt.

Daß auch andere Aminosäuren im Körper angesetzt werden, geht aus den Ergebnissen unserer Versuche mit Glykokoll hervor, die in voller Übereinstimmung mit denen von Murlin²⁾ stehen.

Dieser Forscher fand, daß Glykokoll, zugleich mit Kohlenhydraten zugeführt, in hohem Grade zurückgehalten und so am ersten Fütterungstag fast Stickstoffgleichgewicht hergestellt wird. Bei dem Hunde, dem Glykokoll mit Stärke verabreicht wurde, bemerkten wir eine geringe, aber doch entschiedene Retention von Stickstoff (0,4 g). Am folgenden Tage aber, bei Zufuhr einer kleinen Ration Eiereiweiß, das 2,05 g Stickstoff enthielt, wurde eine viel größere Stickstoffmenge mit einem niedrigeren calorischen Wert für die Nahrung angesetzt.

Einen Tag nach dem Eiereiweißversuch wurden 12,3 g Stickstoff mit anderer Kost verfüttert, um die bedeutende Menge von 316 Calorien per Kilogramm zu erreichen, und zwar in Form von 100 g Casein, 100 g Malzstärke und 50 g Fett. Bei dieser

¹⁾ Schittenhelm und Katzenstein, Zeitschr. f. experim. Pathol. Therap. 2, 560, 1906.

²⁾ Murlin, Amer. Journ. Physiol. 70, 250, 1907.

Fütterungsweise wurden zur 8,3 g Stickstoff zurückgehalten, und als am zweiten Tage 8 g Stickstoff, das Doppelte des verlorenen, gegeben wurden, war die Stickstoffausscheidung im Harn dieselbe wie am vorhergehenden Tage.

Der Ansatz von 8,0 g Stickstoff scheint, auch nach Verlust eines Vielfachen dieser Menge, genügt zu haben, damit eine viel kleinere Quantität Stickstoff die gleiche Harnausscheidung dieses Elementes bewirkt. Selbst am dritten Tage, als die Nahrungsmenge den calorischen Bedarf weit mehr als deckte, erlitt das Tier einen nicht zu übersehenden Stickstoffverlust.

Zusammenfassung.

Es wurde an hungernden Tieren die Wirkung von Hunger und von Fütterung mit calorisch unzureichenden Mengen Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten in ihrer Beeinflussung auf den Stickstoffverlust und die Schwefelverteilung untersucht. Die Futtermengen in den Hauptversuchen deckten nie den Bedarf der Tiere.

Es ist bekannt, daß Eiweiß den Verlust an Schwefel vollständiger als denjenigen an Stickstoff schützt, so daß in einigen Versuchen gegenüber einem totalen Stickstoffverlust ein Schwefelgewinn auftritt. In einem andern Versuch ist der Stickstoffverlust unvergleichlich größer als der des Schwefels.

Da auch im Hungerzustande der N-Verlust viel größer als der des Schwefels ist, drängt sich uns die Schlußfolgerung auf, daß der Organismus den Schwefelanteil des Eiweißmoleküls viel wirksamer als die Stickstoffkomplexe schützt. Da dies nicht nur während anhaltenden Hungerns, sondern auch in andern Stadien der Unterernährung stattfindet, erscheint den Verfassern dieser Umstand ein Hinweis auf die besonders wichtige Funktion der Cystingruppe im Stoffwechsel zu sein. In bezug auf die Stickstoffverteilung ist die Eiweißwirkung darauf gerichtet, das Verhältnis des als Amid- und Harnstoff-N ausgeschiedenen Stickstoffs zu steigern. Der Ammoniakstickstoff wächst proportional mit der Gesamtstickstoffmenge, obgleich es den Anschein hat, als ob der Ammoniakstickstoffwert bei Steigerung des gesamten Harnstickstoffs nur wenig zunimmt.

Die Amid- und Harnstoffwerte sind im Hungerzustande niedriger als bei Eiweißfütterung. Das Ammoniakstickstoffverhältnis ist höher.

Der Kreatininstickstoff wird in keiner Weise durch Eiweißfütterung beeinflusst; die erhaltenen Zahlen scheinen im Gegenteil darauf hinzudeuten, daß die Kreatininausscheidung während des ersten Teils der Eiweißfütterung niedriger als während des Hungerns ist. Dasselbe ist bei Stärkekütterung der Fall.

Kreatin tritt bei allen Hungerharnen am dritten Tage auf, doch verschwindet es schnell aus dem Urin nach Verabreichung von Eiweißstoffen und Kohlenhydraten. Andererseits hat die Fütterung mit Fett keinen Einfluß auf die Kreatinausscheidung.

Die Menge des Reststickstoffs ist nach Eiweißfütterung ein Bruchteil der verfütterten Eiweißmenge, aber das Verhältnis fällt, wenn die Stickstoffmengen im Urin zunehmen.

Bei Eiweißfütterung steigt das Verhältnis des Gesamtschwefelsäure-Schwefels zum Gesamtschwefel bei Vermehrung des letzteren im Harn. Die Mengen des Atherschwefelsäuren-Schwefels nehmen proportional mit den Nahrungsmengen zu, jedoch fällt später das Verhältnis. Der Atherschwefel ist von der Fütterung ebenso unabhängig wie irgendeine Substanz im Urin, außer Kreatin, und steht in keiner direkten Beziehung zu der Indicanmenge im Harn.

Die Fütterung mit Kohlenhydraten bewirkt eine von der Hungerperiode verschiedene Stickstoffverteilung in der Hinsicht, daß die Amid- und Harnstoff-Stickstoffwerte abnehmen, während die Ammoniakzahl wächst. Kohlenhydrate haben dieselbe Wirkung wie die Eiweißkörper in bezug auf das Verschwinden des Kreatins aus dem Harn.

Der Reststickstoff nimmt nach Zufuhr von Kohlenhydraten als absolute Menge zu, aber sein Verhältnis zum Gesamtstickstoff ist höher als bei einfachem Fasten. Dasselbe gilt auch für den Neutralschwefel.

Bezüglich der Wirkung von einfacher Fettfütterung auf die Ausscheidung und Verteilung des Stickstoffs führen die Resultate zu dem Schluß, daß bei Fettfütterung der Stoffwechsel fast gleich dem bei einfachem Hungern ist.

Der
weißfütle
Gegenteil
während
während
der Fall.

Kre
doch ver
reichung
hat die
ausscheid

Die
Bruchte
fällt, we

Bei
schwefel
letzteren
nehmen
später d
ebenso
Kreatin.
dicann

Die
Hunger;
daß die
die Arr
Wirkun
des Kre

De
als ab
stoff is
den Ne

Be
die Au
Results
wechsel

De
weißfü
Gegent
währen
währen
der Fa'

K
doch v
reichun
hat di
aussche

D
Brucht
fällt, v

B
schwef
letzter
nehme
später
ebenso
Kreati
dicann

L
Hunge
daß di
die A
Wirku
des K

L
als ab
stoff i
den N

E
die A
Result
wechs

ber 1906.

St.	Bilanz	
	Phosphor g	Schwefel g
07	0,0113 75	-0,1215
08	0,0157 75	-0,1525
04	0,0188 95	-0,1843
02	0,0161 85	-0,1494
02	0,0148 16	-0,1507
09	0,0118 66	-0,1407
02	0,0122 66	-0,1457
05	0,0087 16	-0,1027
07	0,0087 59	-0,0949
04	0,0078 59	-0,1029
05	0,0105 09	-0,1279
05	0,0105 31	-0,1421
07	0,0113 22	-0,1166
02	0,0122 72	-0,1016
01	0,0127 72	-0,1156
01	0,0118 22	-0,1176
05	0,0122 83	-0,1403
05	0,0135 33	-0,1413
00	0,0161 43	-0,2229
00	0,0262 33	-0,2443
	32	-2,8155

n

n
n,
er
m,
er
er
u-

it
n
rt
er
it
ja
m
n-
es
er

r-
es
ei
g.
9.

IV.

8.

x >				
Gesamt				
	Amid N	Am- mo- niak N	Harn- stoff N	Fett g
0	90,3	3,0	87,3	14,850
4	87,2	7,5	79,7	14,850
6	89,3	5,1	84,2	14,850
6	90,3	5,8	84,5	14,850
0	87,6	14,4	73,2	16,013
2	91,0	3,7	87,3	20,700
2	87,8	8,5	79,3	20,700
1	88,1	8,8	79,3	17,526
1	89,0	4,9	84,1	25,650
1	87,2	4,5	82,7	25,650
0	88,1	3,8	84,4	25,650
6	87,9	5,5	82,4	25,650
6	91,0	4,2	86,8	18,000
1	91,1	6,6	84,5	18,000
5	90,5	7,0	83,5	18,000
3	90,4	6,4	84,0	18,000
0	93,0	7,0	86,0	11,700
3	90,1	8,6	81,5	5,848
5	91,3	8,0	83,3	11,700
8	91,9	9,5	82,4	11,700
				349,887

n

n,
er
is-
m,
er
er
u-

it
on
rt
er
ut
ja
m
n-
es
er

r-
es
ei
g.

9.

Neutral-	Phos- phor g	esamt chwefel < 100 esamt ckstoff
0,056	0,196	3,2
0,054	0,153	3,8
0,058	0,168	7,6
0,044	0,151	3,9
0,059	0,140	3,3
0,049	0,201	7,6
0,047	0,251	3,9
0,034	0,223	3,4
0,028	0,186	5,8
0,028	0,159	5,9
0,038	0,177	7,5
0,041	0,275	3,0
0,070	0,264	7,2
0,079	0,349	7,6

~~De~~
weißfü~~t~~
Gegent
währen
währen
der Fa
K

doch
reichur
hat di
ausche

D
Brucht
fällt, v

B
schweif
letzter
nehme
später
ebenso
Kreati
dicant

I
Hunge
daß di
die **A**
Wirku
des **K**

I
als ab
stoff i
den **N**

E
die **A**
Resu
wech

Tabelle V.

Ge- Su	Kot		Bilanz	
	Schwefel g	Stickstoff g	Schwefel g	
0,	—	— 2,350	— 0,101	
0,	—	— 2,000	— 0,092	
0,	—	— 1,845	— 0,083	
0,	—	— 2,420	— 0,098	
0,	—	— 1,920	— 0,088	
0,	—	— 1,445	— 0,053	
0,	—	— 1,635	— 0,067	
0,		(13,615)	(0,482)	
0,		— 4,254		
0,		— 4,163		
0,		— 4,041		
0,		— 3,244		
0,		— 3,638		
0,	—	— 0,655	— 0,050	
0,	—	— 0,815	— 0,053	
0,	—	— 0,970	— 0,066	
0,		— 2,224		
0,		+ 0,551		
0,		+ 9,717		
2		— 27,351		

n

in
n,
er
is-
n,
er
er
u-

it
on
rt
er
it
ja
m
n-
es
er

r-
es
ei
g.
9.

]

weiß

Gegen

währe

währe

der **B**

]

doch

reich

hat <

ausse]

]

Bruch

fällt,

]

schwe

letzter

nehme

später

ebens-

Kreat

dicam

]

Hung

daß **B**

die **A**

Wirke

des **B**

]

als **A**

stoff

den **I**

]

die **A**

Resul

wechs

Über das Sauerstoffübertragungsvermögen verschieden hoch erwärmten Blutes.

Von

L. v. Liebermann-Budapest und Franz Wiesner-Karlsbrunn.

(Eingegangen am 14. Juli 1911.)

Da eine Erhöhung der Körpertemperatur, mag sie nun bei fieberhaften Zuständen oder Verbrennungen stattfinden, oder durch Einwirkung hoher Lufttemperatur oder warmer Bäder entstehen¹⁾, nicht ohne Wirkung auf die Oxydationsprozesse bleibt, schien es uns von Interesse zu untersuchen, ob die Erwärmung des Blutes auf Temperaturen, wie sie hier in Betracht kommen, das Sauerstoffübertragungsvermögen der roten Blutkörperchen in praktisch beträchtlicher Weise abzuändern vermag.

Die neuesten interessanten Mitteilungen von W. Weichardt und Kurt A. Müller²⁾ über das Ausbleiben der Guajacreaktion unter scheinbar so geringfügigen Umständen wie die Gegenwart gewisser, jedenfalls nur in äußerst geringer Menge vorhandener Toxine, ließen es nicht aussichtslos erscheinen, die Frage mit Hilfe eben dieser Reaktion zu beantworten, deren Wesen ja bekäntlich darin besteht, daß die Blutkörperchen den im Terpentinöl (oder Wasserstoffsuperoxyd) superoxydartig gebundenen Sauerstoff aufnehmen und dann — nach Art eines Katalysators — an die leicht oxydable Guajacensäure, unter Blaufärbung derselben, wieder abgeben.

Wir haben zwar selbstverständlich dabei nicht das Versagen der Guajacreaktion erwartet, giebt doch auch coaguliertes

¹⁾ S. die älteren Versuche von Krishaber sowie Hartwich bei F. Marchand: Die thermischen Krankheitsursachen, Handb. d. allg. Pathol. von Krehl und Marchand 1, 91.

²⁾ Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffw. usw, 1911, Nr. 9.

Blut diese Reaktion, aber Unterschiede in der Geschwindigkeit der Reaktion bei einem immerhin so erheblichen Eingriff, wie Erwärmung des Blutes bis auf 50°, für möglich gehalten.

Das Resultat unserer Versuche, wie schon vorweg bemerkt werden soll, entsprach aber nicht dieser Voraussetzung, d. h. es konnten keine beträchtlichen, außerhalb der Versuchsfehler liegenden Unterschiede beobachtet werden. Während also die Blutkörperchen gegen gewisse Gifte nach den Versuchen von Weichardt und Müller so äußerst empfindlich sind, verhalten sie sich gegen Temperaturen, die die physiologischen weit übersteigen, in bezug auf ihre Fähigkeit, Sauerstoff zu übertragen, anscheinend wenig empfindlich. (Über höher als 50° erhitztes Blut s. weiter unten).

Wir haben die Versuche zunächst mit defibriertem menschlichen Placentablut gemacht in der Weise, daß wir zu einem Gemisch von je 1 ccm frisch bereiteter 1%iger Guajacharzlösung, verharztem Terpentinöl und Alkohol, je einen Tropfen des, durch Einstellen von in Eprouvetten befindlichen Blutproben in heißes Wasser, verschieden hoch erwärmten Blutes (Thermometer im Blute) gaben und die Zeit bestimmten, nach der die erste Farbenänderung, dann beim Schütteln deutlich blauer Schaum, endlich vollständige Blaufärbung der Mischung eintrat, die sich weiter nicht merklich änderte.

Die Resultate zeigt folgende kleine Tabelle.

Blutprobe erwärmt auf ° C	Erste Farbenänderung	Blauer Schaum	Totale Bläuung
	nach Sekunden		
17 (Zimmertemperatur)	10	30	60
37	10	30	55
39	20	40	60
41	15	40	60
45	13	30	70
50	12	22	60

Man sieht also: wir haben Blut von Zimmertemperatur, dann auf 37, 39, 41, 45 und 50° erwärmtes geprüft und gefunden, daß die erste Farbenänderung nach 10 bis 20, der blaue Schaum beim Schütteln meist zwischen 30 bis 40 (nur bei dem

auf 50° erwärmten Blute nach 22), die totale Bläuung aber durchschnittlich nach 60 Sekunden (Minimum 55, Maximum 70) eingetreten war.

Bei der Unsicherheit, die der Beurteilung von Farbenübergängen anhaftet, wenn diese nicht plötzlich, sondern, wie in diesen Fällen, mehr allmählich stattfinden, kann man nicht bestimmt behaupten, daß diese Versuche die völlige Wirkungslosigkeit der vorhergegangenen Erwärmung auf die Sauerstoffübertragung erwiesen hätten; so viel kann man aber sagen, daß die Unterschiede, wenn sie auch bestehen sollten, zu geringfügig sind, um praktisch ins Gewicht zu fallen und weitergehende Schlüsse zu gestatten.

Die Versuche haben wir in etwas abgeänderter Form mit defibriniertem Schweineblut wiederholt.

Vier Eprouvetten wurden bis zu gleicher Höhe mit Blut beschickt, das Thermometer, wie dies auch in den vorhergegangenen Versuchen geschah, in das Blut getaucht und die Proben durch Einstellen der Eprouvetten in heißes Wasser auf 37, bzw. 40, 45 und 50° erwärmt. Hierauf tauchten wir in jede der Eprouvetten bis auf den Boden beiderseits offene, gleich weite Glasröhrchen, hoben sie dann heraus, bliesen sie aus, so daß in jedem nur eine die Glaswand benetzende, anscheinend gleiche Blutmenge verblieb, und senkten sie gleichzeitig in vier vorbereitete, die gleiche Guajac-Terpentinmischung enthaltende Eprouvetten.

Auf diese Weise konnten wir den Fortgang der Reaktion in den vier die verschieden hoch erwärmten Blutproben enthaltenden Mischungen nebeneinander beobachten, sowohl gleich zu Anfang ohne Schütteln, als später beim gleichzeitigen Schütteln im Eprouvettengestell. Die Glasröhren blieben dabei in den Mischungen.

Bei einem Versuch sahen wir nun, daß die Bläuung am schnellsten, aber bei diesen gleichzeitig, mit den auf 40 und 45° erwärmten Blutproben eintrat, etwas später bei der Probe von 37, am spätesten bei der auf 50° erwärmten. Die Zeitunterschiede waren jedoch gering. In der Tat zeigte ein unmittelbar darauf folgender anderer Versuch mit demselben Versuchsmaterial zwischen den Blutproben die den größten Unterschied gaben, nämlich den auf 40 und 50° erwärmten, gar keinen

Unterschied in der Geschwindigkeit der Reaktion, so daß wir es hier offenbar nur mit Zufälligkeiten, bedingt durch unvermeidliche Versuchsfehler, zu tun hatten.

Diese Versuche haben also unseren aus den Versuchen mit Menschenblut gezogenen Schluß bestätigt, daß die Erwärmung des Blutes bis auf 50° unter unseren Versuchsbedingungen keinen nachweisbaren oder zumindest praktisch beträchtlichen Einfluß auf das Sauerstoffübertragungsvermögen der roten Blutkörperchen ausübt.

Wir haben nun noch weitere Versuche (mit Schweineblut) ausgeführt, um zu sehen, wie sich die Guajacreaktion bei Temperaturen verhält, bei denen schon eine Zerstörung der Blutkörperchen eintritt. Bei diesen Versuchen wurden die Blutproben 5 Minuten lang auf der betreffenden höchsten Temperatur erhalten. Dabei hat sich ergeben, daß die Reaktion bei einer auf 60° erwärmten Blutprobe merklich schneller eintrat, als bei einer auf 50°, und bei dieser wieder schneller als bei einer auf 37 bis 38° erwärmten. Aber auch hier handelte es sich nur um geringe, höchstens $\frac{1}{2}$ Minute betragende Zeitdifferenzen. Sehr auffallend war die überaus rasch eintretende Bläuung bei Blut, das auf 70° erhitzt, also schon lackfarben, zum Teil auch koaguliert war.

Wenn auch die verwendete Methode manches zu wünschen übrig läßt, so glauben wir aus unseren Versuchen doch den Schluß ziehen zu dürfen, daß die Übertragung von peroxydartig gebundenem Sauerstoff durch Blut, das vorher bis zu einer Temperatur von etwa 50° erhitzt war, keine wesentliche Änderung erfährt, daß sie aber von dieser Temperatur aufwärts rascher erfolgt, vielleicht darum, weil durch Auflösung der Blutkörperchen die Oberfläche der sauerstoffübertragenden Substanz vergrößert wird.

Anders dürften aber in manchen Dingen die Verhältnisse liegen, wenn es sich um die Abgabe des einfach aus der Luft aufgenommenen Sauerstoffs handelt. Wird eine vorher mit Luft geschüttelte, scharlachrote Blutprobe bis auf 50° erwärmt und 5 Minuten lang auf dieser Temperatur erhalten, so wird sie um ein Geringes dunkler. (Beginnende Methämoglobinbildung.) Wird sie nun wieder mit Luft geschüttelt, so wird sie zwar wieder scharlachrot, aber man kann

doch noch einen, wenn auch sehr geringen Unterschied gegen die Vergleichsprobe erkennen. Höher erwärmte Blutproben erhalten ihre Farbe beim Schütteln mit Luft nicht mehr zurück. Wenn man also die scharlachrote Färbung für ein Erkennungszeichen für die Sauerstoffaufnahme gelten läßt, so ist zu schließen, daß solches Blut nicht mehr, resp. schon weniger geeignet ist, aus der Luft Sauerstoff aufzunehmen. Die durch das Erwärmen entstandene festere Sauerstoffverbindung (Methämoglobin) ist wohl auch nicht mehr imstande, Sauerstoff abzugeben. Die Anwendung dieser Tatsachen auf hochgradige, ausgedehnte Verbrennungen, liegt auf der Hand.

Soviel ist sicher, daß zwischen dem Verhalten vorher erwärmten Blutes gegen superoxydartig gebundenen² und freien, d. h. aus der Luft aufgenommenen Sauerstoff streng zu unterscheiden ist.

Man könnte daran denken, daß die beim Stehen von Blut, besonders rasch bei Bruttemperatur freiwillig eintretende, durch Reduktion des Oxyhämoglobins bedingte Farbenveränderung selbst ein geeignetes, ja den physiologischen Verhältnissen besser entsprechendes Mittel wäre, um die Geschwindigkeit der Sauerstoffabgabe vorher verschieden hoch erwärmter Blutproben miteinander zu vergleichen; doch mußten wir von diesem einfachen Weg absehen, weil es erwiesen ist, daß diese Reduktion unter dem Einfluß von Bakterien stattfindet¹⁾, also wahrscheinlich auch von ihrer Menge abhängt, die in den verschieden hoch erwärmten Blutproben wohl eine sehr verschiedene sein mochte.

Zum Schlusse wollen wir nur nochmals hervorheben, daß unsere Versuche sich ausschließlich auf die Frage beziehen, ob die Blutkörperchen selbst, durch Erwärmung und bei der verwendeten Reaktion, irgendeine nachweisbare Änderung ihres Sauerstoffübertragungsvermögens erleiden, darüber aber selbstverständlich nichts aussagen, wie sich diese ihre Eigenschaft verhält, wenn die Reaktionen selbst bei verschiedenen Temperaturen stattfinden.

¹⁾ L. v. Liebermann jun., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig.-Bd. 51, 440.

Über das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Blute.

Von

H. Fries.

(Aus dem Chem.-Physiol. Institut des städt. Krankenhauses, Frankfurt.)

(Eingegangen am 14. Juli 1911.)

Allgemeiner Teil.

So zahlreich die Arbeiten über das Vorkommen und die Entstehung der Fleischmilchsäure im menschlichen und tierischen Organismus sind, zu so mannigfachen und zum Teil direkt widersprechenden Ergebnissen haben die einzelnen Untersuchungen geführt.

Während die älteren Beobachter die Milchsäure als konstanten Bestandteil des Blutes anzusehen geneigt waren, gelang es späterhin einer ganzen Reihe von Autoren nicht, ihren Nachweis im Blut zu führen. Weder Enderlin¹⁾ noch H. Meyer²⁾ fanden sie im tierischen und menschlichen Blut. Auch Salomon³⁾, der 66 Untersuchungen auf Milchsäure am normalen und Leichenblut von Menschen und Hunden vornahm, erhielt in 21 Versuchen mit Aderlaßblut von an den verschiedensten Erkrankungen leidenden Patienten vorwiegend negative und zweifelhafte Resultate. Nur vereinzelt gelang ihm der Nachweis im Aderlaßblut von Hunden, dagegen fast regelmäßig im Leichenblut, ein Befund, den er als höchstwahrscheinlich auf die Zersetzung der Kohlenhydrate des Blutes zurückführt. Spiro⁴⁾ fand Milchsäure nur im Blut nach Durchströmung des tetanisierten Muskels. Nachdem es 1885 v. Frey⁵⁾ gelang, als konstanten Bestandteil des normalen Hundebldutes die Milchsäure nachzuweisen, kam Gaglio⁶⁾ ein Jahr später am Kaninchen- und Hundebldut zum gleichen Ergebnis. Seine Befunde wurden in der Folgezeit von Berlinerblau⁷⁾ und Morishima⁸⁾ auch für das Menschenblut sowie

1) Enderlin, Liebig's Annal. 46, 1843.

2) H. Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14 u. 17.

3) Salomon, Reymonds Arch. 6, 1876.

4) Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1.

5) v. Frey, Reymonds Arch. 1885.

6) Gaglio, Reymonds Arch. 1886.

7) Berlinerblau, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23.

8) Morishima, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43.

von Saito¹⁾ für das Hühnerblut bestätigt. Irisawa²⁾, der im Hundeaderlaßblut und im Leichenblut die gleichen Befunde erhob, fand, daß nach künstlich erzeugter Anämie mit steigendem Sauerstoffausgel der Milchsäuregehalt des Blutes zunahm.

Wenn nun auch von Zweifel³⁾ neuerdings die Behauptung aufgestellt worden ist, daß die Milchsäure im Stoffwechsel des gesunden Menschen nicht vorkomme, so dürfen wir doch auf Grund der oben angeführten und allgemein anerkannten Arbeiten die Milchsäure als konstanten Bestandteil des menschlichen und tierischen Blutes auffassen.

Das gleiche gilt für die Mehrzahl aller Organe. So fand sie Morya⁴⁾ in Nieren, Thymus, Lymphdrüsen, Gehirn, Milz, Schilddrüse und Pankreas, Morishima⁵⁾ in Leber, Niere, Magen- und Darmwand, Saito und Joshikawa⁶⁾ in den Lungen, v. Bibra, W. Müller und Gscheidlen⁷⁾ im Gehirn, jedoch nur in größeren Mengen in der grauen Substanz, während die Marksubstanz nur Spuren aufwies. Eine Ausnahme scheint der ruhende Muskel zu bilden, aus dem entgegen den Resultaten Heffter⁸⁾ u. a. Fletcher und Hopkins⁹⁾ unter vorsichtiger, jedweden Grund zur Milchsäurebildung vermeidender Versuchsanordnung nur geringe Mengen von Milchsäure erhielten, für die sie jedoch auch noch die unvermeidlichen Verletzungen beim Abpräparieren der Muskeln verantwortlich machen.

So fand Salomon¹⁰⁾ im Hundeblood, nachdem er die eine Hälfte sofort verarbeitet und ohne Erfolg auf Milchsäure untersucht hatte, in der zweiten Hälfte nach 24 stündigem Stehen bei Bluttemperatur erhebliche Mengen, ein Befund, der möglicherweise aber auch durch bakterielle Einwirkung entstanden sein kann. Eine Vermehrung der Milchsäure wurde weiterhin beobachtet bei der Autolyse verschiedener Organe, so der Leber von Ekinina¹¹⁾, Morishima¹²⁾, Saiki¹³⁾, Magnus-Levy¹⁴⁾ und Türkel¹⁵⁾, der Thymus und Rinderlunge von Saito und Joshikawa⁶⁾, des Stierhodens von Mochizuki und Arima¹⁶⁾, der Muskel von Frew und

1) Saito und Katzuyama, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32.

2) Irisawa, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17.

3) Zweifel, Arch. f. Gynäkol. 72.

4) Morya, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43.

5) Morishima, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46.

6) Saito und Joshikawa, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62.

7) Gscheidlen, Arch. f. d. ges. Physiol. 8, 1874.

8) Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31 u. 33.

9) Fletcher und Hopkins, Journ. of Physiol. 35.

10) Salomon, Reynolds Arch. 6, 1876.

11) Ekinina, Journal f. prakt. Chemie. Neue Folge 21.

12) Morishima, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43.

13) Saiki, Journ. of Biolog. Chem. 7, 1909.

14) Magnus-Levy, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2.

15) Türkel, diese Zeitschr. 20.

16) Mochizuki und Arima, Zeitschr. f. physiol. Chem. 49.

Inouye und Kondo¹⁾ und der Milz von Kikoji²⁾. Die drei letztgenannten Autoren beobachteten nach anfänglicher Vermehrung eine bald einsetzende Zerstörung der Milchsäure.

Daß auch bei künstlicher Durchblutung frisch ausgeschnittener Organe eine Vermehrung des Milchsäuregehaltes des Durchblutungsablutes stattfindet, geht aus den Versuchen von Gaglio³⁾, v. Frey⁴⁾, Wissokowitsch⁵⁾ und Emden und seiner Mitarbeiter⁶⁾ hervor.

Desgleichen wird der Umstand, daß die Reaktion sowohl des arbeitenden als des totenstarren Muskels sauren Charakter annimmt, von der Mehrzahl der Autoren auf eine Anhäufung von Milchsäure zurückgeführt. Während Heffter⁷⁾ und Astashewsky⁸⁾ auf Grund ihrer Untersuchungen eine Verminderung des Milchsäuregehaltes im arbeitenden Muskel annehmen und Hoppe-Seyler⁹⁾ die Bildung der Milchsäure dabei bestreitet, haben Spiro¹⁰⁾, Werther¹¹⁾, Marouse¹²⁾ und Colasanti und Moscatelli¹³⁾ eine Zunahme derselben nach angestrebter Arbeit beobachtet. Auch I. Müller¹⁴⁾ konnte in seinen interessanten Versuchen am isolierten überlebend erhaltenen Katzenherzen bei Durchströmung mit Ringerscher Lösung, die allerdings einen Zusatz von 0,1% Traubenzucker enthielt, Milchsäure in der Durchströmungsflüssigkeit nachweisen.

Daß auch bei eintretender Totenstarre des Muskels eine Bildung von Milchsäure stattfindet, wird zwar von Heffter⁷⁾ bestritten, scheint aber mit Sicherheit aus den Arbeiten von Nasse¹⁵⁾, Takacs¹⁶⁾, Demant¹⁷⁾ und Böhm¹⁸⁾ hervorzugehen. Im Gegensatz zu den drei vorgenannten Autoren konnte letzterer hierbei keine Verminderung des Glykogengehaltes feststellen.

1) Inouye und Kondo, Zeitschr. f. physiol. Chemie 54.

2) Kikoji, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53.

3) Gaglio, Reymonds Arch. 1886.

4) v. Frey, Reymonds Arch. 1885.

5) Wissokowitsch, Reymonds Arch. 1887, Supp.

6) Emden und Krauß, Verhandl. d. Kongr. f. i. Med. Wiesbaden 1909.

7) Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31 u. 33.

8) Astashewsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4.

9) Hoppe-Seyler, Berliner Berichte 25; Zeitschr. f. physiol. Chem. 19.

10) Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1.

11) Werther, Arch. f. d. ges. Physiol. 46.

12) Marouse, Arch. f. d. ges. Physiol. 39.

13) Colasanti und Moscatelli, zit. nach Moleschhoff, Unters. z. Naturl. 14.

14) I. Müller, Festschr. f. I. Rosenthal, ref. Centralbl. f. Physiol. 21.

15) Nasse, Hermanns Handb. I q.

16) Takacs, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2.

17) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3.

18) Böhm, Arch. f. d. ges. Physiol. 23.

In gleicher Weise findet eine Beeinflussung resp. Vermehrung der Milchsäurebildung statt, wenn die organischen Oxydationsvorgänge eine Hemmung erleiden, wie es bekanntlich bei Vergiftung mit Phosphor und dem ihm chemisch nahestehenden Arsen und Antimon der Fall ist, wobei gleichzeitig auch noch neben dem Schwinden des Leberglykogens der Eiweißabbau ein gesteigerter ist.

Diese Zunahme an Milchsäure und deren Auftreten im Harn hat, nachdem dies bereits früher von Schultzen und Rieß¹⁾, Mandel²⁾ und später auch — allerdings in nur geringem Umfang — von Neubauer³⁾ bei der Phosphorvergiftung beobachtet worden war, Araki⁴⁾ beschrieben, und zwar nicht nur für die Phosphorvergiftung, sondern auch noch für eine ganze Reihe anderer Gifte, wie Curare, Strychnin, Morphium, Veratrin und Arsen. Auch H. Meyer⁵⁾ und Morishima⁶⁾ gelangten bei der letzten Vergiftung zum gleichen Ergebnis, ebenso Saito und Katzuyama⁷⁾ bei CO-Vergiftung und Zillessen⁸⁾ bei Blausäurevergiftung.

Da nun die Mehrzahl der obengenannten Intoxikationen gleichzeitig mit einer erheblichen Herabsetzung der Sauerstoffaufnahme einhergeht, ein Zustand, der, wie Araki⁴⁾ bereits in früheren Arbeiten gezeigt, ebenfalls zum Übergang von Milchsäure in den Harn diesbezüglicher Versuchstiere Veranlassung gibt, gelangte er im Einverständnis mit Hoppe-Seyler⁹⁾ zu der Ansicht, daß lediglich der eintretende Sauerstoffmangel an sich allein oder als Folgeerscheinung einer ganzen Reihe von Vergiftungen als primäre Schädigung und Veranlassung zum Auftreten der Milchsäure zu betrachten sei.

Ob diese Anschauung auch für Erkrankungen zu gelten hat, bei denen, wie z. B. im epileptischen und eklamptischen Anfall, unter krankhaften Muskelcontractionen die Atmung zeitweise völlig aussetzt und wobei ebenfalls Milchsäure im Harn und vermehrt im Blut nach den Untersuchungen von Inouye und Saiki¹⁰⁾, Araki⁴⁾, Donath¹¹⁾, Zweifel¹²⁾, Doeschate¹³⁾ und Füh und Lockemann¹⁴⁾ gefunden sind oder ob die Vermehrung der Milchsäure durch die gesteigerte Muskeltätigkeit hierbei bedingt wird, ist schwer zu entscheiden.

1) Schultzen und Rieß, *Charité Annal.* 15, 1864.

2) Mandel, *Americ. Journ. of Physiol.* 13, XVI.

3) Neubauer, *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol.* 61.

4) Araki, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 15, 16, 17, 19.

5) H. Meyer, *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol.* 14 u. 17.

6) Morishima, *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol.* 43.

7) Saito und Katzuyama, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 82.

8) Zillessen, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 15.

9) Hoppe-Seyler, *Berliner Berichte* 25; *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 10.

10) Inouye und Saiki, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 87.

11) Donath, *Berl. klin. Wochenschr.* 44.

12) Zweifel, *Münch. med. Wochenschr.* 53.

13) Doeschate, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 54.

14) Füh und Lockemann, *Centralbl. f. Gynäkol.* 1906, Nr. 2.

Daß wir in der Milchsäure nicht, wie Zweifel glaubte, das spezifische Ekklampsiegift anzusprechen haben, geht einmal aus den Arbeiten von Donath¹⁾, Doesschate²⁾ u. a. und vor allem aus dem Umstand hervor, daß die Milchsäure im gesunden Organismus und auch bei einer Reihe von Erkrankungen nachgewiesen wurde, die nicht mit eklamp-tischen Zuständen verbunden sind. So fand sie Jakubasch³⁾ und vor ihm Scherer sowie Mosler und Körner im Harn bei lienaler Leuk-ämie, Gottheiner⁴⁾ im Blut urämischer Hunde, Schultzen und Rieß⁵⁾ im Harn bei akuter gelber Leberatrophie. Ferner wurde sie nachgewiesen im Harn bei Hyperemesis gravidarum, bei Lungenkranken in der Agone und bei Osteomalacie.

Wenden wir uns nun der Frage der Entstehung von Milchsäure im Organismus und den zahlreichen hierüber angestellten Untersuchungen zu, so finden wir zwei Anschauungen sich direkt gegenüberstehend.

Während die älteren Autoren infolge der mannigfachen Beziehungen der Milchsäure zu den Kohlenhydraten von vornherein geneigt sind, in diesen die Muttersubstanz der Milchsäure zu erblicken, wenden sich spätere Untersucher mehr der Anschauung zu, daß die Milchsäure als Abbauprodukt des Eiweißstoffwechsels zu betrachten ist.

Im Gegensatz dazu, daß Nasse⁶⁾, Takacs⁷⁾ und Demant⁸⁾ bei ihren bereits erwähnten Untersuchungen über den Milchsäuregehalt des totenstarrten Muskels eine Umsetzung des Glykogens in Zucker bezüglich Milchsäure beobachteten, fand Böhm⁹⁾ zwar ebenfalls eine Vermehrung der Milchsäure, jedoch bei gleichbleibendem Glykogengehalt; er hält es daher für wahrscheinlich, daß die Milchsäure ein Abkömmling des Ei-weißes im Muskel ist. Auch Minkowski¹⁰⁾, der bei entlebten Gänsen im Harn an Stelle von Harnsäure, Ammoniak und Milchsäure in fast gleichen Mengen auftreten sah, spricht sich für die Abstammung der Milchsäure von Eiweißstoffen aus, da bei stickstoffreicher Nahrung eine Vermehrung und bei Kohlenhydratnahrung und Inanition eine Abnahme der Milchsäure stattfand. Den gleichen Standpunkt nehmen auch De-mant⁸⁾, Neumeister¹¹⁾, H. Meyer¹²⁾ und Morishima¹³⁾ ein. Asher und Jackson¹⁴⁾ fanden bei Durchblutungsversuchen der hinteren Ex-

1) Donath, Berl. klin. Wochenschr. 44.

2) Doesschate, Zeitschr. f. physiol. Chem. 54.

3) Jakubasch, Virch. Arch. 43.

4) Gottheiner, Zeitschr. f. klin. Med. 33.

5) Schultzen und Rieß, Charité Annal. 15, 1864.

6) Nasse, Hermanns Handb. I q.

7) Takacs, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2.

8) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3.

9) Böhm, Arch. f. d. ges. Physiol. 23.

10) Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 21 u. 31.

11) Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chem.

12) H. Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14 u. 17.

13) Morishima, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43.

14) Asher und Jackson, Zeitschr. f. Biol. 41.

trennitäten von Hunden mit normalem und mit zuckerhaltigem Blut seinen Milchsäuregehalt bedeutend vermehrt, ohne daß der Zuckersatz einen Einfluß auf die Vermehrung gehabt hätte, so daß sie annehmen, daß die Milchsäure nicht aus Kohlenhydraten, sondern aus zerfallendem Protoplasma stamme. Gaglio¹⁾ und eine Anzahl anderer Autoren glauben auf Grund der Arbeiten von Hilger²⁾ und Vohl³⁾ den Inosit als Quelle der Milchsäure ansprechen zu dürfen. So fand P. Mayer⁴⁾ nach Inositinjektion im Harn eine rechtsdrehende Substanz und später nach Inositverfütterung allerdings Gärungsmilchsäure im Harn, und Starkenstein⁵⁾ beobachtete, daß bei der Autolyse von Leber- und Muskelgewebe mit der Zunahme der Milchsäure gleichzeitig der Inositgehalt zunahm.

Die Herkunft der Milchsäure aus Kohlenhydraten behauptete als erster Liebig in seiner berühmten Arbeit „Über die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches“. Im gleichen Sinne waren die Versuche von Maly⁶⁾, der aus Lösungen von Trauben- oder Milchzucker durch Einwirkung der toten Magenschleimhaut des Schweines außer Gärungsmilchsäure auch Fleischmilchsäure erhielt. Neben Berlinerblau⁷⁾, der den Milchsäuregehalt von Durchblutungsblut nach Zusatz von Dextrose und besonders Glykogen erheblich steigen sah, hält auch Araki⁸⁾ das Glykogen für die eigentliche Quelle der Milchsäure, da nach Demants⁹⁾ Versuchen die Milchsäure im Muskel des Hungertieres erheblich abnimmt und durch starkes Abkühlen sowie durch Amylnitritvergiftung völliger Schwund des Glykogens und Vermehrung der Milchsäure eintritt. Auch Harley¹⁰⁾ konnte eine Steigerung des Milchsäuregehaltes des Blutes erzielen und zwar dadurch, daß er Hunden Traubenzuckerlösung in das Blut einspritzte, wobei die Vermehrung der Milchsäure auf Kosten des Zuckergehaltes des Blutes vor sich ging. Das Umgekehrte war der Fall bei den interessanten Beobachtungen von Mandel¹¹⁾, der die vorhandene Milchsäure im Blut und im Urin eines phosphorvergifteten Hungerhundes verschwinden sah, nachdem durch Phlorhizin Diabetes erzeugt wurde. Andererseits konnten Embden und Salomon¹²⁾ durch Milchsäureverfütterung die Zuckerausscheidung des pankreaslosen Hundes zur

¹⁾ Gaglio, Reynolds Arch. 1886.

²⁾ Hilger, Annal. d. Chem. 160.

³⁾ Vohl, Berliner Berichte 9.

⁴⁾ P. Mayer, diese Zeitschr. 2 u. 9.

⁵⁾ Starkenstein, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie 5.

⁶⁾ Maly, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 7. Jahrg.

⁷⁾ Berlinerblau, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23.

⁸⁾ Araki, Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 16, 17, 19.

⁹⁾ Demant, Zeitschr. f. physiol. Chem. 8.

¹⁰⁾ Harley, Reynolds Arch. 1893, Suppl.

¹¹⁾ Mandel, Americ. Journ. of Physiol. 13, XVI.

¹²⁾ Embden und Salomon, Beiträge z. chem. Physiol. und Pathol.

Steigerung bringen. Außer dem bereits angeführten machen auch die Untersuchungen Ekininas¹⁾ und Türkels²⁾ die Möglichkeit der Bildung von Milchsäure aus Kohlenhydraten wahrscheinlich.

Weit entscheidender als die bisher angeführten Versuche sind diejenigen Embdens und seiner Mitarbeiter³⁾, aus denen hervorgeht, daß bei der künstlichen Durchblutung der glykogenfreien Leber mit zuckerarmem Blut keine Milchsäurebildung, sondern im Gegenteil häufig eine Abnahme der Milchsäure stattfindet, während bei der Durchblutung der glykogenreichen Leber unter sonst gleichen Umständen sehr erhebliche Mengen von Milchsäure gebildet werden. Auch bei Durchblutung der glykogenfreien Leber kann Milchsäurebildung erzielt werden, und zwar entweder durch Zusatz von Traubenzucker oder von Alanin⁴⁾. Embden und Krauß schließen hieraus, daß Milchsäure im Organismus auftreten kann, sowohl als Abbauprodukt der Kohlehydrate, wie auch als solches der Eiweißkörper.

Aus alledem scheint hervorzugehen, daß Milchsäure im Organismus mit Sicherheit einmal als Abbauprodukt von Kohlenhydraten, dann aber auch als Abbauprodukt des Eiweißspaltungsproduktes Alanin auftreten kann.

Die Gesamtheit der über das Vorkommen und die Bildung von Milchsäure im Organismus mitgeteilten Beobachtungen läßt sich hiernach kurz dahingehend zusammenfassen:

Die Milchsäure kommt normalerweise im frischen Blut, im Leichenblut und in den meisten Organen vor. Sie ist ferner ohne erkennbare ätiologische Beziehung in einer Reihe von Erkrankungen im Blut und Harn nachgewiesen. Der Milchsäuregehalt erfährt eine Vermehrung außer bei autolytischen Prozessen und Durchblutung frischer Organe sowohl im arbeitenden und totenstarrten Muskel, als auch bei eintretendem Sauerstoffmangel und zahlreichen Vergiftungen. Die Milchsäure ist als Produkt des Kohlenhydratstoffwechsels und auch des Eiweißabbaues (Alanin) mit Sicherheit aufzufassen.

¹⁾ Ekinina, Journ. f. prakt. Chem. Neue Folge 21.

²⁾ Türkell, diese Zeitschr. 20.

³⁾ Embden, zit. nach Mandel, Americ. Journ. of Physiol. 18. — Embden und Krauß, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1909. — Embden und Salomon, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5 und 6.

⁴⁾ Hier sei nur noch erwähnt, daß nach bisher noch unveröffentlichten Versuchen, die Oppenheimer im Frankfurter Chemisch-physiologischen Institut vornahm, auch Lävulose und Glycerin als Milchsäurebildner anzusehen sind.

Spezieller Teil.

Da einerseits die bisher mitgeteilten Versuche zum größten Teil an tierischem Material ausgeführt wurden und als solche zweifellos nur mit gewisser Reserve auf die Verhältnisse des menschlichen Organismus übertragen werden dürfen und andererseits eine größere Anzahl diesbezüglicher Untersuchungen des menschlichen Blutes, abgesehen von der aus dem Jahre 1876 stammenden Arbeit Salomons¹⁾ nicht gemacht sind, habe ich mich, ursprünglich beabsichtigend die Arbeiten über den Milchsäuregehalt des Blutes Eklamptischer, wie sie in den Veröffentlichungen von Zweifel²⁾, Doesschate³⁾ und Füh und Lockemann⁴⁾ niedergelegt sind, nachzuprüfen, auf Veranlassung von Herrn Prof. Embden damit beschäftigt, den Milchsäuregehalt des menschlichen Blutes unter annähernd normalen Verhältnissen — soweit dies im Krankenhaus möglich ist — festzustellen und Aufschluß darüber zu gewinnen, ob eine Vermehrung dieses etwaigen Milchsäuregehaltes in fieberhaften Krankheitsprozessen, nach Muskeltätigkeit, in der Leiche und bei kurz dauerndem Aufenthalt des Blutes bei Körpertemperatur stattfindet.

Methodisches.

Das Material wurde mir in dankenswerter Weise durch die Herren Direktoren und Assistenzärzte der verschiedenen Kliniken und Institute des Städtischen Krankenhauses in Frankfurt a. M. zur Verfügung gestellt. Die Art der Gewinnung und die Methode der Verarbeitung desselben war folgende:

Mit Ausnahme des bei Leichen aus dem Herzen und den großen Gefäßen entnommenen Blutes wurde dasselbe ausnahmslos durch Venenpunktion gewonnen, und zwar derart, daß das Blut schon während des Einfließens in ein eisgekühltes steriles Gefäß mit einem Glasstab geschlagen und defibriert wurde. Die gewonnene Blutmenge wurde alsdann durch sterile Gaze koliert, gemessen und in gleiche Teile geteilt, von denen der eine sofort, der andere nach ein- resp. zweistündigem Stehen

¹⁾ Salomon, Reymonds Arch. 6, 1876.

²⁾ Zweifel, Münch. med. Wochenschr. 53.

³⁾ Doesschate, Zeitschr. f. physiol. Chem. 54.

⁴⁾ Füh und Lockemann, Centralbl. f. Gynäkol. 1906, Nr. 2.

bei 40° in geschlossenem Gefäß in der unten beschriebenen Weise weiter verarbeitet wurde. Das sofort zu untersuchende Blut wurde aus der Punktionsnadel unter vorsichtigem Schütteln in einem graduierten Meßkolben aufgefangen. Diese Meßkolben waren, je nachdem 70 oder 100 ccm Blut entnommen werden sollten, auf 250 oder 300 ccm graduiert. Die Kolben für 250 ccm waren vorher mit 70 ccm destilliertem Wasser und 110 ccm 2%iger Salzsäure, diejenigen für 300 ccm mit 100 ccm destilliertem Wasser und 100 ccm 2%iger Salzsäure beschickt. Möglichst rasch wurde das Blut alsdann nach Schenk enteiweißt, wobei die erhaltene Gesamtfüssigkeitsmenge das dem des Blutes gleiche Volumen dest. Wasser und das doppelte Volumen 2%iger Salzsäure und 5%iger Sublimatlösung enthielt. Die Gesamtfüssigkeit entsprach dann dem sechsfachen Blutvolumen. Die Fällung wurde über Nacht im Eisschrank aufbewahrt und später durch eine Nutsche mittels der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Das durch Einleiten von Schwefelwasserstoff entquecksilberte Filtrat wurde durch einen Luftstrom wieder von demselben befreit und nach Abfiltrieren des Niederschlags mit Natronlauge zur schwachsauren Reaktion gebracht, genau gemessen und sodann im Vakuum bei einer Temperatur des Heizwassers von nicht über 55° auf annähernd eine dem ursprünglichen Blutvolumen entsprechende Menge eingeeengt. Die weitere Verarbeitung geschah folgendermaßen. Die eingeengte Flüssigkeitsmenge wurde nach Neutralisierung durch Natronlauge mit 15 ccm Phosphorsäure angesäuert und hierauf in den Lindschen Ätherextraktionsapparat überführt. Die Extraktion gelang in diesem rasch und war meist nach 30 Stunden beendet. Von der Vollständigkeit der Extraktion überzeugte ich mich stets durch eine nochmalige 30stündige Kontrolleextraktion, in der ätherlösliche Säuren höchstens nur noch in Spuren vorhanden waren. Der Ätherextrakt wurde unter quantitativem Nachspülen mit Äther filtriert und der Äther unter Zusatz von Wasser abdestilliert. Nach der Verjagung des Äthers wurde die so gewonnene Flüssigkeit mit Wasser auf etwa 200 bis 300 ccm aufgefüllt und mit gereinigtem Bleicarbonat mehrere Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Aufbewahrung im Eisschrank über Nacht wurde das alsdann erhaltene Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die-

jenigen Fälle, bei denen hierbei kein Niederschlag oder nur schwache Färbung auftrat, wurden als negativ betrachtet und nicht weiter verarbeitet. In den positiven Fällen wurde der Niederschlag abfiltriert und ausgewaschen. Das Filtrat wurde nach sorgfältiger Befreiung von Schwefelwasserstoff mit gereinigtem Zinkcarbonat wieder mehrere Stunden auf dem Wasserbad erwärmt, heiß filtriert, ausgewaschen und in flachen Porzellanschalen bis auf etwa 10 ccm eingedampft. Die eingedampfte Flüssigkeit wurde darauf unter nochmaliger Filtration in verschließbare Wägeschälchen überführt, abermals stark eingengt und im Exsiccator der Krystallisation überlassen.

Das bei sofortiger Fällung des Blutes mit Sublimat erhaltene Zinksalz war meist nur unvollständig krystallisiert oder auch völlig amorph. Daß es sich dennoch um Milchsäure handelte, wurde in fast sämtlichen Untersuchungen durch Überführung des erhaltenen Zinksalzes in Acetaldehyd und dessen titrimetrische Bestimmung nachgewiesen, und zwar anfänglich durch ein dem von Jerusalem¹⁾ angegebenen nachgebildetes und modifiziertes Verfahren mittels der Jodoformmethode und später, da das erste Verfahren sich als unzuverlässig herausstellte, nach dem neuerdings durch v. Fürth und Charnaß²⁾ empfohlenen, auf Bisulfitaddition beruhenden jodometrischen Verfahren nach Ripper³⁾, das am Frankfurter chemisch-physiologischen Institut in unten beschriebener Weise modifiziert wurde.

Die gleichzeitig auch bei den Kontrollversuchen mit reinem Zinklactat angewandte Versuchsanordnung war dabei folgende:

Ein mit doppeltdurchbohrtem Gummistopfen verschlossener Kjehldalkolben wird mit der in heißem dest. Wasser aufgelösten Menge des auf Milchsäure zu untersuchenden Zinksalzes und 300 ccm 5%iger Schwefelsäure und etwas Talcum beschickt. Das eine Bohrloch des Stopfens trägt den in eine Spitze ausgezogenen und mit dieser in den Kolben hineinreichenden Tropftrichter mit $\frac{1}{100}$ -Permanganatlösung. Durch das zweite Bohrloch steht der Kolben mittels eines Stutzer-

¹⁾ Jerusalem, diese Zeitschr. 12.

²⁾ v. Fürth und Charnaß, diese Zeitschr. 26.

³⁾ Ripper, Monatsh. f. Chem. 21.

sehen Aufsatzes in Verbindung mit einem senkrecht stehenden Schlangenkühler, der seinerseits mit einer angeschalteten Glasröhre in den mit Eis gekühlten Vorstoßkolben taucht. In diesen Kolben kommt die vorzulegende Menge Kaliumbisulfit und 150 ccm eisgekühltes dest. Wasser. (Bei den von mir erhaltenen geringen Lactatmengen erwies sich das Vorlegen von 20 oder höchstens 25 ccm Bisulfitlösung als vollkommen ausreichend.) Die Flüssigkeit im Kjeldahlkolben wird nun vorsichtig zum Kochen gebracht, bis alle Luft aus dem Apparat ausgetrieben ist. Sobald dies der Fall ist, beginnt durch tropfenweises Zufießen der Permanganatlösung die Oxydation. Die Tropfenzahl soll dabei 120 in der Minute nicht überschreiten. Auf jeden Fall muß man durch vorsichtiges Kochen darauf achten, daß nicht mehr aus dem Kolben übergeht als Lösung zutropft. Sobald keine Entfärbung der einfallenden Kaliumpermanganatropfen mehr eintritt, ist die Oxydation beendet. Man stellt hierauf den Tropftrichter ab und läßt die Destillation noch 10 Minuten weitergehen. Nach deren Unterbrechung und Ausspülung des Apparats wird der Titer der angewandten Bisulfitlösung bestimmt, das Destillat nach Stärkezusatz mit $\frac{1}{10}$ -Jodlösung titriert und die Lactatwerte berechnet.

Der Krystallwassergehalt des erhaltenen Zinklactats wurde in folgender Weise bestimmt: 1,0929 g aus vereinigten Einzelportionen von Zinklactat gaben bei 110° 0,1406 = 12,882% Wasser ab. Das erhaltene Zinklactat war also mit 2 Molekülen Krystallwasser krystallisiert, was annähernd dem Krystallwassergehalt des paramilchsauren Zinks entspricht.

Die näheren Angaben über meine Untersuchungen und die aus den erhaltenen Lactatmengen berechneten Milchsäurewerte gehen aus den nachfolgend mitgeteilten Versuchsberichten und Tabellen hervor.

Ich untersuchte zunächst, um mich von dem Milchsäuregehalt des normalen menschlichen Blutes zu überzeugen, in einer Anzahl von Fällen das Blut von in der Rekonvaleszenz befindlichen Patienten mit normaler Temperatur, die — wie aus Tab. I ersichtlich ist — wegen verschiedener Erkrankungen in Behandlung gestanden hatten, und konnte hierbei die Resultate der früheren Beobachter insofern bestätigen, als nach meinen Untersuchungen die Milchsäure zweifellos, wenn auch

in geringen Mengen, als nahezu konstanter Bestandteil des menschlichen Blutes aufzufassen ist. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gehen aus der Tabelle I hervor.

Wie aus untenstehender Zusammenstellung ersichtlich ist, fand ich bei 12 Blutuntersuchungen 6 mal Milchsäure entsprechend 50%, der untersuchten Fälle. Der durch Titration bestimmte Milchsäuregehalt schwankte zwischen 0,0039 und 0,0132 g pro 100 ccm Blut, was einem Durchschnittsgehalt von 0,0086 g pro 100 ccm Blut entspricht.

Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, daß die Milchsäure als häufiger Bestandteil des menschlichen Blutes zu betrachten ist, suchte ich ein Urteil darüber zu gewinnen, ob der Milchsäuregehalt des Blutes während der Krankheit eine Veränderung erleidet, insbesondere ob bei fieberhaften Krankheitsprozessen durch den im Fieber gesteigerten Stoff-

Tabelle I.
(Normale Temperaturen.)

Nr.	Name	Diagnose	Blut ccm	Filtrat ccm	Gewogene Menge wasser- freien Zink- salzes g	Daraus berechnete Milchsäure g	Zinksalz aus 100 ccm Blut g	Daraus berechnete Milchsäure g	Menge des durch Titrat- bestimmten Zinksalzes g	Daraus berechnete Milchsäure g	Bemerkungen
1	Erhardt	unvollständig, Abort	70,5	335	—	—	—	—	—	—	1 Tag ante part. entnommen
2	Hunger	Abort	70,5	310	—	—	—	—	—	—	8. fieberfreier Tag
3	Hollfelder	Beckenausschlag	71,0	290	—	—	—	—	—	—	10. " 3. Aufstehtag
4	Gräfenstein	Pneumonie	101,0	485	0,0202	0,0149	0,0249	0,0184	0,0044	0,0032	1. " "
5	Bartek	Morbili	66,8	425	—	—	—	—	—	—	5. " "
6	Zeuß	Bronchopneumonie	71,0	495	0,0239	0,0176	0,0289	0,0213	0,0074	0,0054	7. " 2. Aufstehtag
7	Keller	alte Pleuritis, zen- trale Pneumonie	70,5	490	—	—	—	—	—	—	9. " "
8	Fischer	Pneumonie	71,5	525	—	—	—	—	—	—	1. " "
9	Laber	akute Bronchitis	97,6	475	0,0132	0,0097	0,0166	0,0123	—	—	sofort verarbeiteter Teil A
10	Hortel	Coecum mobile	71,5	325	0,0292	0,0216	0,0339	0,0398	0,0097	0,0071	do.
11	Hasenfuß und Dengler	abgeheilte Angina u. Gastritis	160,0	670	0,0212	0,0156	0,0189	0,0140	0,0081	0,0059	
12	Funko und Seng	Taberkulose und ab- geheilte Pneumonie	70,0	385	0,0248	0,0183	0,0386	0,0285	0,0115	0,0065	

wechsel eine solche bedingt wird. Ich untersuchte infolgedessen in einer ganzen Reihe von Fällen das Blut von fieberhaft erkrankten Patienten mit verschiedener Temperatur und in verschiedenen Krankheitsstadien. Die näheren Angaben und die Art der Erkrankungen finden sich in Tabelle II.

Betrachtet man die Ergebnisse dieser neuerlichen Versuchsreihe, so ergibt sich bei den 19 Untersuchungen ein positiver Befund der Milchsäure in 10 Fällen, d. h. in 55,5% der untersuchten Fälle. Der durch Titration bestimmte Milchsäurewert, der, auf 100 ccm Blut berechnet, zwischen 0,0073 und 0,0157 g schwankt, hat dabei im Vergleich zu dem des Normalblutes im Durchschnitt eine Zunahme von 0,0086 auf 0,0115 = 0,0029 g erfahren, eine Erhöhung, der wohl keine wesentliche Bedeutung beigemessen werden darf. Die Art und Dauer der Erkrankung scheint ohne Einfluß auf den Milchsäuregehalt des Blutes zu sein, desgleichen Höhe und Dauer des Fiebers sowie Eiweißausscheidung im Harn. Es zeigt sich also, daß auch bei fieberhaften Erkrankungen die Milchsäure im Blut vorhanden ist, und zwar in einer dem Normalblutgehalt annähernd gleichkommenden Menge.

Hatte so die Untersuchung des normalen und des Fieberblutes einen positiven, annähernd gleichen Befund ergeben, so war weiterhin von Interesse die Frage, ob der Milchsäuregehalt des Blutes bei angestrenzter Muskeltätigkeit und in der Leiche eine Veränderung erleidet.

Ich untersuchte daher zunächst Ermüdungsblut, in dem ich — was mir in Anbetracht der Armvenenpunktion besonders günstig erschien — das Blut eines sich mir liebenswürdigerweise zur Verfügung stellenden Herrn Kollegen und mein eigenes nach $\frac{1}{2}$ stündiger bis zur völligen Erschöpfung getriebener Umdrehungsarbeit am Ergostaten verarbeitete.

In beiden Fällen erwies sich der durch Titration berechnete Milchsäuregehalt des Ermüdungsblutes höher als derjenige des normalen Blutes, und zwar fand im Durchschnitt eine Zunahme von 0,0086 auf 0,0246 g in 100 ccm Blut statt.

Des weiteren konnte ich, wie aus Versuch 3 bis 6 der Tabelle III hervorgeht, die früheren Beobachtungen von einer vermehrten Milchsäurebildung im Leichenblut durch die 4 von mir vorgenommenen Untersuchungen an solchem bestätigen.

Tabelle II.
(Fieberfälle.)

Nr.	Name	Alter	Diagnose	Temperatur	Blut ccm	Filtrat ccm	Gewogene Menge wasser- freien Zink- salses	Daraus berechnete Milchsäure	Zinksalz aus 100 ccm Blut	Daraus berechnete Milchsäure	Menge des durch Titrat, bestimmten Zinksalzes	Daraus berechnete Milchsäure	Bemerkungen
1	Eckhardt	50	Pneumonie	39,0	55,2	780	—	—	—	—	—	—	3. Krankheitstag
2	Krank	26	Typhusrezidiv	39,8	50,8	250	—	—	—	—	—	—	1. Krankheitstag;
3	Dey	42	Pneumonie	39,2	102,0	435	—	—	—	—	—	—	Alb. +
4	Hirt	25	"	39,8	101,0	450	0,0218	0,0161	0,0290	0,0214	—	—	3. Krankheitstag;
5	Hollfelder	23	Beckenausschlag	39,5	73,1	320	0,0216	0,0159	0,0405	0,0299	0,0054	0,0039	Alb. +
6	Fey	30	unbekannte Infektionskrankheit	40,0	69,0	275	—	—	—	—	—	—	7. Krankheitstag
7	Schmieder	20	Cysto-Pyelitis, Lues	40,0	70,5	315	0,0188	0,0137	0,0354	0,0262	0,0057	0,0042	—
8	Koberich	22	Pneumonie	38,0	70,2	305	—	—	—	—	—	—	4. Krankheitstag
9	Dannhäuser	25	"	39,5	69,8	305	—	—	—	—	—	—	Alb. +
10	Lorösch	26	Cysto-Pyelitis, Gravidität	39,4	52,0	320	—	—	—	—	—	—	—
11	Hübner	33	Pneumonie	39,0	70,5	310	—	—	—	—	—	—	3. Krankheitstag
12	Link	51	Tbc. pulm. Tabes	38,0	100,0	425	—	—	—	—	—	—	Alb. +
13	Henkel	21	Pneumonie	40,0	102,0	480	0,0294	0,0217	0,0367	0,0271	0,0085	0,0062	Sputum: Tbc. + Alb. +
14	Hasenfuß	38	Angina, Nephritis	38,0	66,5	390	0,0243	0,0179	0,0373	0,0276	0,0155	0,0114	4. Krankheitstag
15	Steber	31	Erysipel	38,5	70,0	480	0,0145	0,0108	0,0181	0,0134	0,0124	0,0091	Alb. +
16	Kopp	23	Meningitis epidemica	39,0	64,5	455	0,0253	0,0187	0,0333	0,0248	0,0066	0,0048	7. Krankheitstag
17	Körblein	32	Influenza	39,2	98,2	590	0,0358	0,0264	0,0364	0,0269	0,0212	0,0156	—
18	Kindl	29	Pneumonie	37,6	64,0	475	0,0295	0,0218	0,0372	0,0275	0,0097	0,0071	—
19	Trinkau und Gansert	46 u. 32	Tuberkulose, Pleuritis	38,8 u. 38,6	80,0	320	0,0215	0,0159	0,0403	0,0298	—	—	sofort verarbeiteter Teil A

Tabelle III.
(Ermüdungs- und Leichenblut.)

Nr.	Name	Alter	Diagnose	Blut ccm	Filterat ccm	Gewogene Menge wasser- freien Zink- salzes	Daraus berechnete Milchsäure	Zinksalz aus 100 ccm Blut	Daraus berechnete Milchsäure	Menge des durch Titrat bestimmten Zinksalzes	Daraus berechnete Milchsäure	Bemerkungen
1	Dehnicke	28	Ermüdung nach Ergostatenarbeit	48,0	420	0,0268	0,0198	0,0382	0,0283	0,0197	0,0145	Sofort verarbeitet
2	Fries	28	do.	100,5	344	0,0421	0,0311	0,0763	0,0564	0,0221	0,0163	10 Stunden post mortem der Leiche entnommen und sofort verarbeitet.
3	Gehring	42	puerperale Sepsis	30,0	95	0,0449	0,0332	0,2835	0,2097	0,0251	0,0185	1 Stunde post mortem d. Leiche entnommen und sofort ver- arbeitet.
4	Nau	36	do.	500,0	2540	0,4669	0,3455	0,1102	0,0815	—	—	24 Stunden post mortem der Leiche entnommen und sofort verarbeitet.
5	Löffel	69	Vitium cordis	600,0	3600	2,2696	1,6795	0,3782	0,2799	1,7617	1,3036	13 Stunden post mortem der Leiche entnommen, kollet, so- fort verarbeitet.
6	Tanneier	40	Tbc. palm.	200,0	1200	0,7415	0,5487	0,3707	0,2743	0,5771	0,0427	10 Stunden post mortem der Leiche entnommen, kollet, so- fort verarbeitet.

In Fall 3 und 4 war beidemale puerperale Sepsis die Todesursache.

Ein Vergleich des titrimetrisch bestimmten Milchsäuregehaltes des Leichenblutes mit dem des Normalblutes ergibt für die post mortale Veränderung des Blutes eine Zunahme des Durchschnittswertes von 0,0086 auf 0,6731 g pro 100 ccm Blut = 7826% des Normalgehaltes.

Da in den von früheren Autoren angestellten Versuchen mit frischem Blut, das vor der Verarbeitung sich 24 Stunden selbst überlassen blieb, eine wenn auch bei 24stündiger Dauer dieses Aufenthaltes vor der Verarbeitung vielleicht durch Bakterienwirkung entstandene Vermehrung der Milchsäure beobachtet war, stellte ich ferner Versuche darüber an, ob eine solche auch bei kurz dauerndem, die bakterielle Einwirkung ausschließendem Stehenlassen des Blutes gegenüber dem sofort verarbeiteten Blut zu finden war. Da zu solchen Ver-

Tabelle IV.

Nr.	Name	Alter	Diagnose	Temperatur	Blut ccm	Filtrat ccm	Gewogene Menge wasserfreien Zinksalzes g	Daraus berechnete Milchsäure g	Zinksalz aus 100 ccm Blut g	Daraus berechnete Milchsäure g	Menge des durch Titrationsbestimmten Zinksalzes g	Daraus berechnete Milchsäure g	Bemerkungen
1 A	Hund	—	groß und gesund	normal	101,7	470	0,0222	0,0164	0,0283	0,0209	0,0105	0,0077	sofort verarbeitet
B					160,0	750	0,0770	0,0569	0,0616	0,0455	0,0354	0,0261	2 Stunden bei 40° gestanden
2 A	Hasenfuß	27	abgeheilte Angina	normal	160,0	670	0,0212	0,0156	0,0189	0,0140	0,0081	0,0059	sofort verarbeitet
B	und				160,0	670	0,0252	0,0186	0,0225	0,0166	0,0107	0,0079	1 Stunde bei 40° gestanden
C	Dengler	37	Gastritis chronica	normal	160,0	670	0,0186	0,0137	0,0166	0,0123	0,111	0,0082	2 Stunden bei 40° gestanden
3 A	Trinkau	46	Tuberkulose	38,8	80,0	320	0,0215	0,0159	0,0403	0,0298	—	—	sofort verarbeitet
B	und				80,0	320	0,0277	0,0204	0,0519	0,0384	—	—	1 Stunde bei 40° gestanden
C	Gansert	32	Pleuritis exsudativa	38,6	80,0	320	0,0392	0,0290	0,0735	0,0543	0,0212	0,0156	2 Stunden bei 40° gestanden
4 A	Funke	28	Tuberkulose	normal	70,0	385	0,0248	0,0183	0,0386	0,0285	0,0115	0,0085	sofort verarbeitet
B	und				70,0	356	0,0338	0,0250	0,0569	0,0421	0,0236	0,0174	1 Stunde bei 40° gestanden
C	Seng	34	abgeheilte Pneumonie	normal	70,0	356	0,0499	0,0369	0,0841	0,0622	0,0267	0,0197	2 Stunden bei 40° gestanden
5	Wachholz	28	Ozaena, Bronchitis acuta	38,0	100,0	480	0,0605	0,0447	0,0756	0,0559	0,0285	0,0210	do.
6	Schruff	34	Pneumonie	39,6	170,0	820	0,1002	0,0741	0,0733	0,0542	0,0856	0,0633	do.
7	Dr. Jehn	26	Ermühtungsblut nach Ergostatenarbeit	normal	175,0	820	0,0931	0,0688	0,0681	0,0494	0,0546	0,0404	do.
8	Fries	28	do.	normal	190,0	920	0,1113	0,0823	0,0724	0,0536	—	—	do.

suchen zwecks Vermeidung allzu großer Fehler die Verarbeitung eines größeren Quantums Blut notwendig war und andererseits der Gewinnung größerer Blutmengen am Krankenbett Schwierigkeiten entgegenstanden, ging ich dabei so vor, daß ich das Blut je zweier Patienten mit normaler oder fieberhafter Temperatur nach der Entnahme unter starker Abkühlung und Defibrinierung mischte und in gleiche Teile teilte. Teil A wurde in der üblichen Weise sofort behandelt, Teil B vor der Fällung 1 Stunde, Teil C 2 Stunden bei 40° gehalten. In mehreren Fällen ließ ich die ganze Menge des von einem Patienten entnommenen Blutes sowie abermaliges Ermüdungsblut eines Herrn Kollegen und von mir 2 Stunden bei 40° stehen. In einem weiteren Fall wurde das einem großen gesunden Hunde aus einer Jugularvene durch Punktion entnommene Blut ebenfalls geteilt und Teil A sofort, Teil B nach 2stündigem Stehen unter den obengenannten Kautelen verarbeitet.

Wie aus Tabelle IV hervorgeht, zeigt der Milchsäuregehalt in allen Fällen mit Ausnahme des Versuchs Nr. 2 C, der infolge eines Mißgeschicks bei der Überführung in die Wägeschälchen keinen Anspruch auf Bewertung machen darf, eine mit der Dauer des Stehenlassens zunehmende Vermehrung, die auch den aus Tabelle I, II und III erhaltenen Durchschnittswerten gegenüber besteht.

Demnach muß im Blute eine milchsäurebildende Substanz vorhanden sein. Leider war es mir, auf diesem Punkt angelangt, aus äußeren Gründen nicht mehr möglich, die Ergebnisse meiner letzten Untersuchungen weiter zu verfolgen, und Versuche darüber anzustellen, welcher Natur diese milchsäurebildende Substanz ist, insbesondere ob es sich bei der Milchsäurebildung um eine Spaltung des Blutzuckers im Blut handelt¹⁾.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich dahingehend zusammenfassen:

1. Die Milchsäure ist in geringen Mengen als häufiger Bestandteil des normalen menschlichen Blutes aufzufassen.

¹⁾ Inzwischen sind am gleichen Institut von cand. med. Fräulein Kraska in Fortsetzung meiner Versuchsreihen Untersuchungen angestellt worden, die es sehr wahrscheinlich machen, daß die bei kurz dauerndem Stehen des Blutes vermehrt auftretende Milchsäure als ein Produkt der Blutglykolyse aufzufassen ist.

2. Der Milchsäuregehalt des Blutes erfährt bei fieberhaften Erkrankungen keine nachweisbare Vermehrung.

3. Aus dem bloßen Nachweis von Milchsäure im menschlichen Blut können keinerlei Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer krankhaften Veränderung des Stoffwechsels gezogen werden.

4. Nach angestrenzter Muskelarbeit ist der Milchsäuregehalt des Blutes vermehrt.

5. Das Leichenblut zeigt dem Normalblut gegenüber einen beträchtlich vermehrten Milchsäuregehalt.

6. Läßt man menschliches Blut bei 40° bis zu 2 Stunden stehen, so erfährt der Milchsäuregehalt desselben eine bis zu dieser Zeit zunehmende starke Erhöhung.

7. Die Natur der Muttersubstanz der im Blut gebildeten Milchsäure ist noch unbekannt.

Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin.

Von

Leonor Michaelis und Heinrich Davidsohn.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses
am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 19. Juli 1911.)

Mit 4 Figuren im Text.

Die Frage nach dem Einfluß der Reaktion des Lösungsmediums auf die spezifische Wirkung der Fermente ist zwar alt, mit einer den heutigen Ansprüchen genügenden Methodik aber vor der bekannten Arbeit von Sørensen¹⁾ kaum in Angriff genommen worden. Von den durch Sørensen untersuchten Fermenten ist das Invertin das übersichtlichste, weil es in seiner Wirkung einfach und ihre quantitative Verfolgung ganz besonders genau durchführbar ist. Auch wir hatten aus ähnlichen Überlegungen wie Sørensen und unabhängig von ihm das Invertin zum Ausgangspunkt einer entsprechenden Studie gemacht, diese aber in Anbetracht der inzwischen erschienenen grundlegenden Arbeit von Sørensen damals noch nicht veröffentlicht. Inzwischen haben sich uns noch neue Gesichtspunkte ergeben, die uns zu den jetzigen Versuchen veranlaßten. Vor kurzem ist schließlich eine Arbeit von Hudson und Paine²⁾ über den gleichen Gegenstand erschienen, die im Prinzip zu demselben Resultat kommt wie die unsrige. Wenn wir uns dennoch entschlossen haben, unsere Untersuchung ausführlich zu publizieren, so können wir das damit begründen, daß Hudson, der sonst unsere Kenntnis der Fermentwirkungen durch eine gute Methodik bereichert hat, sich gerade hier, bei der Frage der Wasserstoffionenkonzentration der Fermentlösung,

¹⁾ Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

²⁾ Journ. of the Americ. Chemic. Soc. 32, 774, 1910.

einer ganz unzureichenden Methodik bedient hat. Wenn bei ihm die berechnete und gefundene Kurve so gut übereinzustimmen scheinen, so beruht das nur auf einer ungenügenden Zahl von beobachteten Einzelpunkten der Kurve, und in der Tat weichen unsere absoluten Zahlen von denen Hudsons sehr bedeutend ab.

Unsere Fragestellung lautete zunächst wie die Sörensens: „In welcher Weise ist die Wirkung des Invertins von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung abhängig?“ Auf Grund aller früheren Untersuchungen (Sullivan und Thompson, Duclaux, Henri¹⁾ usw.) konnte man schon behaupten, daß die Wirkung des Invertins bei einer ganz bestimmten Acidität ein Maximum haben müsse. Unsere erste Untersuchung erstreckte sich, wie die Sörensens, darauf, dieses Optimum festzustellen. Sörensen tat dies in der Weise, daß er die gleiche Invertinmenge auf eine bestimmte Zuckermenge bei wechselnder [H] stets eine gleiche Zeit einwirken ließ und den erreichten Umsatz feststellte. Auf diese Weise muß sich das Maximum der Wirkung natürlich erkennen lassen; aus den verschiedenen Umsätzen läßt sich aber ein quantitativer Schluß auf die Wirksamkeit des Invertins außerhalb des Maximums nicht ohne weiteres entnehmen. Darauf werden wir weiter unten noch zurückkommen. Wir stellten eine entsprechende Reihe²⁾ in etwas anderer Weise an. Wenn man nämlich die Abnahme der Drehung des Rohrzuckers durch die Invertinwirkung direkt im Polarisationsrohr verfolgt, so findet man, daß zu Anfang des Umsatzes, etwa bis zur Erreichung von einem Fünftel des theoretisch möglichen Umsatzes, in gleichen Zeiten gleiche Umsätze erreicht werden. Man kann deshalb in diesem Bereich, wenn zur Zeit t die Drehungsänderung x erreicht wird, den Bruch $\frac{x}{t}$ als ein Maß für die Invertinwirkung betrachten und auf diese Weise gleichfalls ihre optimale [H] feststellen. Diese Versuche, über die Tabelle I und II Aufschluß geben³⁾, haben folgendes Resultat:

¹⁾ Vgl. darüber das Sammelreferat: L. Michaelis, Die Kinetik der fermentativen Zuckerinversion, Biochem. Centralbl. 7, 629, 1908.

²⁾ Dieser Teil der Untersuchung war lange vor der Sörensenschen Publikation abgeschlossen.

³⁾ In Anbetracht der weiter unten genau protokollierten definitiven Versuche geben wir hier nur ein gekürztes Protokoll dieser Vorversuche.

Tabelle I.

Versuchstemperatur 18°. Beobachtung direkt im Polarisationsrohr, ohne Berücksichtigung der Multitrotation. Überall 5 ccm der gleichen Fermentlösung, 5 ccm Regulatormischung, 10 ccm 10%ige Saccharoselösung.

Versuch Nr.	Regulatormischung	[H]	log [H]	Drehungsänderung pro Zeitminute
1	5 ccm 0,3 n-NH ₃	6,0 · 10 ⁻¹²	- 11,2	0,0000
2	5 ccm eines Gemisches von 10 ccm 0,57 n-Phosphorsäure ¹⁾ 62 „ 0,1 n-NaOH 28 „ Wasser	5,0 · 10 ⁻⁹	- 8,3	0,0012
3	2 ccm einer Mischung von { 10 ccm 0,57 n-Phosphorsäure 54 „ 0,1 n-NaOH + 3 „ Wasser	2,4 · 10 ⁻⁸	- 7,62	0,0038
4	2 ccm einer Mischung von { 10 ccm 0,57 n-Phosphorsäure 42 „ 0,1 n-NaOH + 3 „ Wasser	2,2 · 10 ⁻⁷	- 6,66	0,0066
5	2 ccm einer Mischung von { 10 ccm 0,57 n-Phosphorsäure 34 „ 0,1 n-NaOH + 3 „ Wasser	9,4 · 10 ⁻⁷	- 6,08	0,0090
6	5 ccm eines Gemisches von 10,00 ccm n-NaOH 10,56 „ n-Essigsäure 9,44 „ Wasser	1,1 · 10 ⁻⁶	- 5,96	0,0130
7	5 ccm eines Gemisches von 10,00 ccm n-NaOH 12,78 „ n-Essigsäure 7,22 „ Wasser	5,6 · 10 ⁻⁶	- 5,25	0,0160
8	5 ccm eines Gemisches von 10,00 ccm n-NaOH 15,56 „ n-Essigsäure 4,44 „ Wasser	1,1 · 10 ⁻⁵	- 4,96	0,0154
9	5 ccm eines Gemisches von 10,00 ccm n-NaOH 27,80 „ n-Essigsäure 2,20 „ Wasser	3,6 · 10 ⁻⁵	- 4,44	0,0164
10	Derselbe Versuch, 1 Tag später wiederholt . . .	3,6 · 10 ⁻⁵	- 4,44	0,0148

¹⁾ Als zweibasische Säure mit Phenolphthalein titriert (ein seitdem von uns verlassenes Verfahren). Die Bestimmung der [H] geschah durch Messung der Phosphatmischungen mit Gasketten. Die Messungen stammen aus einer älteren Zeit, wo Fehler bis zu einigen Millivolt noch vorgekommen sein mögen. Für diesen Versuch ist das ohne Belang.

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Regulatorgemisch	[H]	log [H]	Drehungsänderung pro Zeitminute
11	Derselbe Versuch, noch 1 Tag später wiederholt . .	$3,6 \cdot 10^{-5}$	— 4,44	0,0164
12	5 ccm 0,01 n-Essigsäure .	$2,2 \cdot 10^{-4}$	— 3,67	0,0154
13	5 „ 0,1 n-Essigsäure . .	$6,8 \cdot 10^{-4}$	— 3,16	0,0120
14	5 „ 0,2 n-Essigsäure . .	$8,6 \cdot 10^{-4}$	— 3,07	0,0114
15	5 „ 0,1 n-HCl	$1,9 \cdot 10^{-2}$	— 1,72	0,0007
16	Kontrolle zu 15 ohne Ferment.	—	—	0,0002

Tabelle II.

Versuch über die Reversibilität der Alkali- und Säurewirkung.

Versuch Nr.	Regulatorgemisch	[H]	log [H]	Drehungsänderung pro Zeitminute
17	Die Mischung des Versuchs 1, die gar nicht invertiert hat, wird nach 65 Min. langem Stehen durch Essigsäure bis zur Gelbfärbung von Rosolsäure angesäuert. . .	—	—	0,0135
18	Die Mischung von Versuch 16 wird nach 90 Minuten langem Stehen durch Zusatz von Essigsäure + NaOH auf schwach saure Reaktion (ca. 10^{-5}) gebracht	—	—	0,0044

Die Fermentwirkung ist also in hohem Maße von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig, und zwar in der Art, daß eine breite optimale Zone zu erkennen ist. Diese Zone reicht von $5,6 \cdot 10^{-6}$ bis $2,2 \cdot 10^{-4}$, entsprechend einem Wasserstoffionenexponent von 5,25 bis 3,67, wie aus Figur 1 ersichtlich ist. In dieser Figur wird die Abszisse durch $\log [H]$, die Ordinate durch die Drehungsänderung pro Minute dargestellt.

Bei jeder nicht dem Optimum entsprechenden $[H]$ verhält sich also das Invertin, als ob nur ein Teil des Ferments wirksam wäre. Wir können uns deshalb die Aufgabe stellen, quantitativ zu untersuchen, der wievielte Teil des Invertins bei einer jeden beliebigen $[H]$ wirklich wirksam ist im Vergleich zu der optimalen Wirkung. Diese quantitativen Beziehungen sind

aber aus der vorangegangenen Untersuchungsreihe nicht ohne weiteres zu entnehmen, denn es gibt kein einfaches Gesetz, das die auf obige Weise definierte Umsatzgeschwindigkeit mit der Fermentmenge in genaue Beziehung setzt. Es sind nämlich alle Beobachtungen dieser Untersuchungsreihe mit dem Fehler behaftet, daß sie auf die Multirotation des gebildeten Invertzuckers keine Rücksicht nehmen, ein Fehler, den auch V. Henri in seinen ausgedehnten Untersuchungen begangen hat.

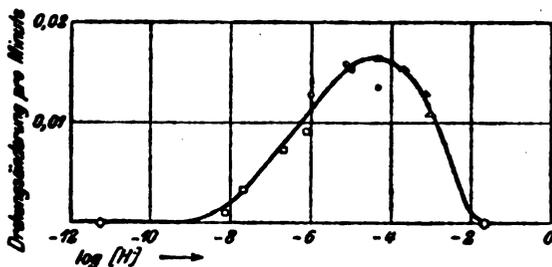


Fig. 1.

Wie nämlich O'Sullivan und Thompson festgestellt haben, entsteht bei der Spaltung der Saccharose die Glucose zunächst in birotierender Form und wandelt sich allmählich spontan in die normal rotierende Form um. Sørensen hat dies in seinen Untersuchungen schon genau berücksichtigt, und auch wir mußten es jetzt tun, wenn wir quantitativ brauchbare Vergleichswerte haben wollten.

Welche Bedeutung die Vernachlässigung der Multirotation für die Feststellung absoluter Zahlen hat, mögen beispielsweise folgende Versuche erläutern, die einmal wie die vorigen im Rohr beobachtet wurden und gleichzeitig im Parallelversuch nach den Angaben der genannten Autoren stets mit Alkali unterbrochen wurden.

Die Versuche wurden in folgender Weise angesetzt: In 2 Kolben wurden je 20 ccm 10%ige Saccharose gebracht, sowie 1,5 ccm $\frac{1}{2}$ -Essigsäure und 1,5 ccm $\frac{1}{2}$ -Natriumacetat; letzteres, um eine bestimmte, und zwar, wie sich zeigen wird, die optimale H⁺-Ionenkonzentration herzustellen. Beide Kolben wurden in ein Wasserbad von 18° gestellt und je mit 4 ccm unserer Invertinlösung versetzt. Kolben I wurde sofort in ein Polarisationsrohr gefüllt, dessen Wert von Zeit zu Zeit abgelesen wurde. In den Zwischenzeiten stand es im Wasserbad von 18°. Der Anfangswert wurde durch Extrapolation festgestellt. Aus Kolben II, der sich während des ganzen Versuches im Wasserbad befand, wurden sofort nach dem Fermentzusatz und dann in bestimmten Zwischenräumen immer 5 ccm abpipettiert und in 2 ccm 10%iger Soda aufgefangen. Bei

dem durch Polarisation festgestellten Wert der einzelnen Portionen wurde selbstverständlich die Verdünnung durch Berechnung berücksichtigt. Das Resultat dieser Versuche ist in Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III.

Versuch Nr.	Zeit in Minuten	Ohne Alkalisatz		Zeit in Minuten	Mit Alkalisatz	
		Drehungswinkel	Umsatz		Drehungswinkel ¹⁾	Umsatz
19	0	9,81°	—	0	9,67°	—
	3	9,75°	0,06°	—	—	—
	7,75	9,66°	0,15°	—	—	—
	14,25	9,44°	0,37°	14	9,06°	0,61°
	30	8,96°	0,83°	30	8,37°	1,30°
	45	8,48°	1,33°	45	7,77°	1,90°
20	0	9,49°	—	0	9,34°	—
	3,5	9,40°	0,09°	—	—	—
	12	9,19°	0,30°	—	—	—
	15	9,06°	0,43°	15	8,64°	0,70°
	30	8,57°	0,92°	30	8,01°	1,33°
	60	7,46°	2,03°	60	6,73°	2,61°
	90	6,33°	3,16°	90	5,50°	3,84°

Diese Erfahrungen mußten bei den eigentlichen quantitativen Versuchen berücksichtigt werden.

Die Anordnung der Hauptversuchsreihe ergab sich dementsprechend wie folgt: Je 20 ccm einer stets genau gleichen, rund 10%igen Lösung von Saccharose wurden mit 25 ccm einer verdünnten Regulatorlösung versetzt, im Wasserbad auf die Versuchstemperatur von $22,3^\circ \pm 0,05^\circ$ vorgewärmt und zu einer genau notierten Zeit mit 5 ccm der ebenfalls vorgewärmten Fermentlösung versetzt, so rasch wie möglich (in der Regel nach 0,4 bis 0,8 Minuten) eine Probe von 5 ccm entnommen und in ein Reagensglas übertragen, das 1 ccm einer 20%igen Sodalösung enthielt. Ähnliche Proben wurden in gleicher Weise in passend gewählten Abständen mit Sodalösung gemischt. Dadurch wird die Fermentwirkung plötzlich unterbrochen und gleichzeitig die Multirotation im Laufe von höchstens einigen Minuten beseitigt. Denn viele Kontrolluntersuchungen lehrten, daß die nach 15 Minuten erhaltenen polarimetrischen Ablesungen auch nach vielen Stunden genau die gleichen waren. Der Anfangswert, d. h. die Drehung sofort bei dem Zusatz des Fer-

¹⁾ Umgerechnet auf das Volumen, wie es ohne Alkalisatz war.

ments, wurde auf Grund der ersten, nach 0,4 bis 0,8 Minuten erhaltenen Ableseung und der Ableseung der nächstfolgenden Probeentnahme (nach $\frac{1}{4}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden) extrapoliert, ein durchaus zulässiges Verfahren, da die Größe der Extrapolation meistens weniger als $0,01^{\circ}$ betrug. Jede Ableseung stellt das Mittel aus 4 bis 8 Einzelablesungen dar.

Während wir früher uns bemühten, alle zu einer Reihe gehörigen Versuche möglichst an einem Tage zu beendigen, aus Furcht vor der Labilität der Fermentlösung, dehnten wir die späteren Versuchsreihen lieber auf mehrere Tage aus. Wir hatten uns nämlich überzeugt, daß die auf Eis bewahrten Fermentlösungen nach 8 Tagen niemals eine auch nur im geringsten nachweisbare Abschwächung erlitten. Das Ferment wurde aus Preßhefe dargestellt, durch Kaolin mit Zusatz einer Spur Essigsäure geklärt und die Essigsäure wieder durch Dialyse entfernt.

Wir lassen zunächst die Protokolle dieser Versuchsreihe in Form einer Tabelle folgen:

Tabelle IV.

Vers.-Nr.	Zusammensetzung der Regulatorlösung	[H] berechnet	[H] gemessen	t	a	α	$\frac{T}{t}$	$-\log [H]_{\text{gemessen}}$
21	2,5 ccm 1.34 n-NH ₃ 2,5 „ „/1-HCl 20 „ „ dest. Wasser	0,14 · 10 ⁻³	— ¹⁾	0	(4,14)	—	—	8,85
				0,8	4,14	—	0	
				155	4,15	—	0	
22	0,50 ccm $\frac{1}{3}$ -prim. Phosphat 10,0 „ „/3-sek. „ 14,70 „ „ dest. Wasser	0,6 · 10 ⁻³	1,4 · 10 ⁻³	0	(4,21)	—	—	8,85
				0,8	4,21	—	—	
				125	3,943	0,267	$\frac{13,8}{125} = 0,110$	
				213	3,735	0,475	$\frac{25}{213} = 0,117$	
						Mittel = 0,114		
23	10,0 ccm $\frac{1}{3}$ -prim. Phosphat 10,0 „ „/30-sek. „ 5,0 „ „ dest. Wasser	0,20 · 10 ⁻⁷	0,27 · 10 ⁻⁷	0	(4,170)	—	—	7,57
				0,5	4,170	—	—	
				107	3,860	0,310	$\frac{16,2}{107} = 0,151$	
				163	3,704	0,466	$\frac{24,6}{163} = 0,150$	
						Mittel = 0,1505		

¹⁾ Ammoniakhaltige Lösungen geben mit Gasketten falsche Werte, daher nicht gemessen.

Tabelle IV (Fortsetzung).

VERD. ANZ.	Zusammensetzung der Regulatorlösung	[H]	[H]	t	a	x	T t	-log [H] gemessen
		berechnet	gemessen					
24	2,5 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 5,0 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 17,5 „ dest. Wasser	$0,10 \cdot 10^{-6}$	$0,11 \cdot 10^{-6}$	0	(4,156)	—	—	6,95
				0,4	4,153	0,003	—	
				108	3,370	0,786	$\frac{42,1}{108} = 0,390$	
				167	2,940	1,216	$\frac{65,1}{167} = 0,390$	
							Mittel = 0,390	
25	5,0 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 5,0 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 15 „ dest. Wasser	$0,20 \cdot 10^{-6}$	$0,22 \cdot 10^{-6}$	0	(4,101)	—	—	6,65
				0,8	4,100	0,001	—	
				100	3,203	0,898	$\frac{48,2}{100} = 0,482$	
				162	2,600	1,501	$\frac{81}{162} = 0,500$	
							Mittel = 0,491	
26	6,0 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 4,0 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 15 „ dest. Wasser	$0,30 \cdot 10^{-6}$	$0,30 \cdot 10^{-6}$	0	(4,123)	—	—	6,50
				0,5	4,118	0,005	—	
				81	3,210	0,913	$\frac{49,1}{81} = 0,606$	
				159,5	2,386	1,737	$\frac{95,2}{159,5} = 0,596$	
							Mittel = 0,601	
27	7,0 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 3,0 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 15 „ dest. Wasser	$0,47 \cdot 10^{-6}$	$0,45 \cdot 10^{-6}$	0	(4,170)	—	—	6,35
				0,5	4,164	0,006	—	
				58	3,420	0,750	$\frac{40,2}{58} = 0,693$	
				120	2,676	1,494	$\frac{80,5}{120} = 0,671$	
				225	1,504	2,666	$\frac{155,5}{225} = 0,690$	
			Mittel = 0,685					
28	5,0 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 0,5 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 19,5 „ dest. Wasser	$0,20 \cdot 10^{-6}$	$0,18 \cdot 10^{-6}$	0	(4,182)	—	—	5,75
				0,8	4,168	0,014	—	
				74	2,818	1,364	$\frac{73}{74} = 0,987$	
				139	1,823	2,359	$\frac{134,5}{139} = 0,967$	
							Mittel = 0,977	
29	5,0 ccm $\frac{2}{3}$ -prim. Phosphat 0,5 „ $\frac{2}{3}$ -sek. „ 19,5 „ dest. Wasser	$0,20 \cdot 10^{-6}$	$0,20 \cdot 10^{-6}$	0	(4,160)	—	—	5,70
				0,5	4,150	0,010	—	
				50,5	3,234	0,926	$\frac{49,7}{50,5} = 0,984$	
				202,5	1,043	3,117	$\frac{188,8}{202,5} = 0,932$	
							Mittel = 0,953	

Tabelle IV (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Zusammensetzung der Regulatorlösung	[H] berechnet	[H] gemessen	t	a	x	$\frac{T}{t}$	$-\log [H]$ gemessen
30	4,0 ccm $\frac{n}{10}$ -Essigsäure 5,0 „ $\frac{n}{10}$ -Acetat 16,0 „ dest. Wasser	$0,19 \cdot 10^{-5}$	$0,20 \cdot 10^{-5}$	0	(4,187)	—	—	5,697
				0,4	4,180	0,007	—	
				75	2,936	1,251	$\frac{67,1}{75} = 0,895$	
				129	2,092	2,095	$\frac{117,5}{129} = 0,911$	
							Mittel = 0,903	
31	2,5 ccm $\frac{n}{10}$ -Essigsäure 10 „ $\frac{n}{10}$ -Acetat 12,5 „ dest. Wasser	$0,55 \cdot 10^{-5}$	$0,65 \cdot 10^{-5}$	0	(4,110)	—	—	5,11
				0,3	4,104	0,006	—	
				53,5	3,086	1,024	$\frac{53,5}{53,5} = 1,00$	
				84	2,526	1,584	$\frac{85,5}{84} = 1,02$	
				115,2	2,007	2,103	$\frac{112,5}{115,2} = 0,976$	
			165,5	1,250	2,860	$\frac{169}{165,5} = 1,02$		
						Mittel = 1,004		
32	5 ccm $\frac{n}{10}$ -Essigsäure 10 „ $\frac{n}{10}$ -Acetat 10 „ dest. Wasser	$0,11 \cdot 10^{-4}$	$0,11 \cdot 10^{-4}$	0	[4,15]	—	—	4,96
				87	2,435	1,715	$\frac{93,8}{87} = 1,04$	
				152	1,433	2,717	$\frac{157,6}{152} = 1,04$	
						Mittel = 1,04		
33	10 ccm $\frac{n}{10}$ -Essigsäure 10 „ $\frac{n}{10}$ -Acetat 5 „ dest. Wasser	$0,23 \cdot 10^{-4}$	$0,23 \cdot 10^{-4}$	0	(4,088)	—	—	4,63
				0,5	4,080	0,008	—	
				17,3	3,814	0,274	$\frac{14,5}{17,3} = 0,84^1)$	
				34,2	3,438	0,650	$\frac{34,2}{34,2} = 1,00$	
				69,6	2,740	1,348	$\frac{72}{69,6} = 1,03$	
				100,5	2,220	1,868	$\frac{100,3}{100,5} = 1,00$	
				130,1	1,770	2,318	$\frac{130,2}{130,1} = 1,00$	
			159,2	1,310	2,778	$\frac{163}{159,2} = 1,02$		
						Mittel = 0,995		

¹⁾ Diese Zahl ist wegen des geringen Umsatzes bei Bestimmung des Mittels nur mit halber Bedeutung verrechnet worden.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Zusammensetzung der Regulatorlösung	[H ⁺] berechnet	[H ⁺] gemessen	t	a	s	$\frac{T}{t}$	-log [H ⁺] gemessen
34	5 ccm $\frac{1}{10}$ -Essigsäure 5 „ $\frac{1}{10}$ -Acetat 15 „ dest. Wasser	$0,21 \cdot 10^{-3}$	$0,21 \cdot 10^{-3}$	0	(4,155)	—	—	3,68
				0,5	4,145	0,010	—	
				37	3,430	0,725	$\frac{39}{37} = 1,06$	
				76	2,740	1,415	$\frac{76}{76} = 1,00$	
				130,5	1,840	2,315	$\frac{132}{130,5} = 1,01$	
				180	1,122	3,033	$\frac{180}{180} = 1,00$	
				223,5	0,615	3,540	$\frac{223,5}{223,5} = 1,00$	
				Mittel = 1,01				
35	0,7 ccm $\frac{1}{10}$ -Salzsäure 24,3 „ $\frac{1}{10}$ -Kaliumchlorid ¹⁾	$1,4 \cdot 10^{-3}$	$0,96 \cdot 10^{-3}$	0	(4,164)	—	—	3,02
				0,8	4,160	0,014	—	
				20	3,803	0,361	$\frac{19,1}{20} = 0,955$	
				40	3,440	0,724	$\frac{38}{40} = 0,950$	
				60	3,065	1,079	$\frac{57,7}{60} = 0,962$	
				83,3	2,695	1,469	$\frac{78,8}{83,3} = 0,946$	
				Mittel = 0,953				
36	5 ccm $\frac{1}{10}$ -Essigsäure 20 „ dest. Wasser	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$0,98 \cdot 10^{-3}$	0	(4,188)	—	—	3,01
				0,4	4,180	0,008	—	
				30	3,620	0,568	$\frac{30,2}{30} = 1,01$	
				60	3,069	1,119	$\frac{59,3}{60} = 0,99$	
				95	2,462	1,726	$\frac{94,6}{95} = 0,996$	
				123	2,032	2,156	$\frac{121,5}{123} = 0,990$	
				215	0,840	3,348	$\frac{207,2}{215} = 0,964^2)$	
Mittel = 0,997								

¹⁾ Der Zusatz von KCl geschah, um bei der gleichzeitig vorgenommenen Gaskettenmessung das Diffusionspotential gegen die zwischengeschaltete KCl-Lösung möglichst herabzudrücken.

²⁾ Diese Zahl ist zweifellos wegen Selbsterstörung schon etwas zu gering ausgefallen; sie fällt deshalb für die Bestimmung des Mittels fort.

Tabelle IV (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Zusammensetzung der Regulatorlösung	[H] berechnet	[H] gemessen	t	α	x	$\frac{T}{t}$	$-\log [H]$ gemessen
37	2 ccm $\frac{n}{10}$ -Salzsäure 20 „ $\frac{n}{10}$ -Kaliumchlorid 3 „ dest. Wasser	$0,38 \cdot 10^{-2}$	$0,31 \cdot 10^{-2}$	0	(4,115)	—	(etwa 0,76) ¹⁾	2,52
				0,4	4,105	0,010	—	
				20,2	3,847	0,268	$\frac{14}{20,2} = 0,693$	
				60,6	3,400	0,715	$\frac{38,5}{60,6} = 0,635$	
				82,0	3,170	0,945	$\frac{50,6}{82} = 0,617$	
				107,5	2,911	1,204	$\frac{64,5}{107,5} = 0,600$	
			150	2,496	1,619	$\frac{87,8}{150} = 0,585$		
38	3,0 ccm $\frac{n}{10}$ -Salzsäure 22 „ $\frac{n}{10}$ -Kaliumchlorid	$0,54 \cdot 10^{-3}$	$0,48 \cdot 10^{-3}$	0	(4,216)	—	(zwischen 0,4 u. 0,5) ¹⁾	2,315
				0,8	4,212	0,004	—	
				63,3	3,842	0,374	$\frac{20,2}{63,3} = 0,319$	
				123,3	3,580	0,636	$\frac{34}{123,3} = 0,276$	
39	Wiederholung von Vers. 38 mit gekochtem Ferment	$0,54 \cdot 10^{-3}$	$0,48 \cdot 10^{-3}$	0	(4,210)	—	—	2,315
				0,5	4,210	—	—	
				63,3	4,220	—	—	
				123,3	4,190	—	—	

In Tabelle IV bedeutet t die Zeit der Entnahmen, α den abgelesenen Drehungswinkel²⁾, der stets positiv war, und x den Umsatz, als Drehungsänderung gemessen. Die mit runden Klammern bezeichneten Zahlen sind durch Extrapolation gewonnen. Die Rubrik $\frac{T}{t}$ wird später ihre Erklärung finden.

Wir können aus der Tabelle ersehen, daß unter dem Einfluß wechselnder $[H]$ eine breite optimale Zone der Invertinwirkung zustande kommt, die von $[H] = 0,65 \cdot 10^{-5}$ bis 0,21

¹⁾ Durch graphische Extrapolation berechnet. Es wurde graphisch $\frac{x}{t}$ als Funktion von t dargestellt und $\lim_{t \rightarrow 0} \frac{x}{t}$ für $t = 0$ dadurch extrapoliert, daß die Kurve nach Augenmaß vervollständigt wurde. Auf diese Kurve kommen wir später noch zurück.

²⁾ Im 18,94 mm langen Rohr, weil wir von diesen Rohren eine größere Menge mit einem Fassungsraum von ca. 5 ccm zur Verfügung hatten.

bzw. $0,98 \cdot 10^{-3}$ reicht, entsprechend $p_H = 5,19$ bis $3,68$ resp. $3,01$). Es ist interessant, daß diese Zahlen fast identisch sind mit denjenigen, die wir oben aus unsern Vorversuchen abgeleitet haben.

Ferner bietet uns die Tabelle IV die Möglichkeit, die Frage zu beantworten, ob die $[H^+]$ wirklich das einzige auf das Invertin einwirkende Prinzip ist oder ob vielleicht die Art und Konzentration der als Regulator hinzugesetzten Elektrolyte einen Einfluß ausübt. In dem von uns angewendeten, allerdings nicht sehr großen Konzentrationsbereich der Elektrolyte hat sich eine fördernde oder hemmende Wirkung der Konzentration nicht zu erkennen gegeben.

Bezüglich der Natur der Regulatoren hat es sich gezeigt, daß Versuche bei einer bestimmten $[H^+]$ mittels Phosphat- und Acetatgemischen oder mittels Acetatgemischen und Essigsäure unter sich übereinstimmende Resultate ergeben haben. Versuch 35 und 36, die bei gleicher Acidität angesetzt sind, wie die sofort angestellten Messungen beweisen, zeigen allerdings bezüglich der Fermentwirkung eine Abweichung von $4,5\%$ des Gesamtwertes. Wenn man aber berücksichtigt, daß Versuch 35 mit einer Salzsäure von der Normalität $1/710$ angesetzt ist, so wird man nicht fehlgehen, diese geringe Differenz durch die mangelnde Definition der $[H^+]$ in der dünnen Salzsäurelösung zu erklären.

Wir sind deshalb berechtigt, bei den in der Tabelle IV wiedergegebenen Versuchen als einzige Variable die $[H^+]$ zu betrachten. Versuch 39 zeigt schließlich, daß selbst die höchste angewendete $[H^+]$ zu klein ist, um unter unseren Versuchsbedingungen für sich eine merkbare Zuckerspaltung durch Säurehydrolyse zu bewirken.

Die Hemmung der Invertinwirkung durch eine ungünstige $[H^+]$ kommt auf zwei verschiedene Weisen zustande. Bei einer $[H^+]$, die kleiner als das Optimum ist, handelt es sich lediglich um einfach reversible Hemmungen der Wirkung. Versuch 1 in Tabelle I und Versuch 17 in Tabelle II zeigen, daß ein Ferment, das in alkalischer Lösung sich als unwirksam erwies, nach Ansäuerung wieder ohne Verlust hoch wirksam war, was schon V. Henri u. a. gezeigt haben. Bei denjenigen $[H^+]$, die größer als das Optimum sind, kommt als zweites Moment die irrever-

sible, fortschreitende Zerstörung des Ferments in Betracht, die sich um so mehr hervorkehrt, je größer $[H]$ wird (vgl. Versuch 18, Tabelle II).

1. Der aufsteigende Ast der Kurve.

Wir beschäftigen uns zunächst mit den niederen $[H]$ bis herauf zum Optimum. Den Mechanismus dieser Hemmungen kann man auf zweierlei Weise auffassen. Entweder handelt es sich um eine Hemmung der Wirkung im eigentlichen Sinne, oder es handelt sich um eine (reversible) Umwandlung eines gewissen Anteils des Ferments in eine unwirksame Modifikation. Wir geben der zweiten Auffassung den Vorzug, weil wir auf Grund dieser Annahme zu einem klaren Einblick in den Mechanismus dieser Hemmung gelangen werden.

Auf jeden Fall lautet jetzt unsere erste Aufgabe, für jede beliebige $[H]$ denjenigen Bruchteil des gesamten Fermentes zu bestimmen, der wirklich wirksam ist. Bezeichnen wir die gesamte Fermentmenge, die bei der optimalen $[H]$ zur Geltung kommt, mit Φ , die bei einer beliebigen $[H]$ wirkenden Menge mit φ , so stellen wir uns die Aufgabe, $\frac{\varphi}{\Phi}$ als Funktion von $[H]$ darzustellen. Zu diesem Zweck müssen wir eine Methode heranziehen, die es ermöglicht, die wirksame Fermentmenge zahlenmäßig darzustellen. Man kann dies ganz allgemein durch Vergleich der Zeiten, die zur Erreichung eines bestimmten Umsatzes verbraucht werden. Diesen ist die wirksame Fermentmenge notwendigerweise umgekehrt proportional. Dabei wird vorausgesetzt, daß die Form der Umsatzkurve von der wirksamen Fermentmenge unabhängig ist. Es muß also sein

$$\varphi \cdot t = f(a, x),$$

wo φ die Fermentmenge, t die Zeit, a die Anfangsmenge des Substrats, x die zur Zeit t umgesetzte Menge desselben bedeutet; f ist das Symbol irgendeiner, aber stets derselben Funktion.

Diese Gleichung sagt aus, daß bei gegebener Anfangsmenge des Zuckers die zur Erreichung eines beliebigen Umsatzes x erforderliche Zeit t umgekehrt proportional der Fermentmenge φ ist. Obwohl diese Gleichung nach allen vorliegenden Untersuchungen eigentlich schon feststeht, soll sie an einigen Beispielen

verifiziert werden, in denen gleiche Zuckermengen bei optimaler [H] mit wechselnden Fermentmengen versetzt wurden. Wir setzten zu diesem Zweck 3 Parallelversuche im Wasserbad von 22,3° an, in denen die Konzentration des Zuckers konstant ist, die [H] durch ein optimales Acetatgemisch hergestellt wird, während die Fermentmengen wie 2:1:0,4 sich verhalten. Über diese Versuche gibt Tabelle V Aufschluß.

Tabelle V.

Fermentmenge = 2. Versuch 40.		Fermentmenge = 1. Versuch 41.	
10%ige Saccharose	20 com	Ebenso, aber	
$\frac{2}{10}$ -Essigsäure	10 "	halbverd. Fermentlösung 10 com	
$\frac{2}{10}$ -Natriumacetat	10 "		
unverd. Fermentlösung			
t	x	t	x
0	0	0	0
18,0	0,658	21,0	0,389
46,0	1,564	60,0	1,074
83,0	2,668	130,0	2,205
121,0	3,560	190,2	3,004
167,5	4,374	246,0	3,590
206,8	4,836		
Fermentmenge = 0,4.			
Versuch 42.			
Ebenso, aber			
5fach verdünnte Fermentlösung.			
t	x	t	x
0	0	0	0
66	0,542		
122	0,879		

Tragen wir die Werte dieser Tabelle derartig in ein rechtwinkliges Koordinatensystem ein, daß das Produkt φt als Abszisse angesehen wird und die zu jedem φt -Wert gehörigen Umsätze x als Ordinate, so müssen, wenn die Gleichung richtig ist, alle Ordinatenendpunkte unabhängig von der Fermentmenge sich zu einer einzigen Kurve zusammenfügen. Wie wir aus Figur 2 ersehen, ist dies in der Tat der Fall. Es hat sich also bestätigt, daß die Form der Umsatzkurve von der wirksamen Fermentmenge unabhängig ist.

Eine zweite Voraussetzung für die Berechtigung, die zur Erreichung eines bestimmten Umsatzes verbrauchten Zeiten miteinander zu vergleichen, haben wir bisher stillschweigend als gegeben angenommen. Es ist dies die Voraussetzung, daß die $[H]$ die Form der Kurve gleichfalls nicht beeinflußt oder

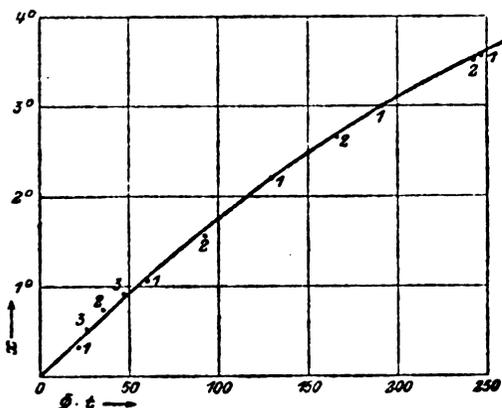


Fig. 2.

daß das Symbol f immer dasselbe bleibt. Die Berechtigung dieser Annahme ist aber durch Untersuchungen von Sørensen¹⁾ erschüttert worden. Bei der Wichtigkeit, die diese Frage für die vorliegenden Untersuchungen hat, müssen wir uns eingehend mit Sørensens Befunden beschäftigen.

Der Einfluß der $[H]$ auf die Kinetik des Invertins.

Sørensen behauptet, daß sich bei wechselnder $[H]$ nicht nur die Anfangsgeschwindigkeit der Inversion ändere, sondern die ganze Form der Kurve eine andere Gestalt annehme. Behandelt man die Zuckerspaltung durch Invertin als eine monomolekulare Reaktion und berechnet danach die Geschwindigkeitskonstante

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x},$$

so findet Sørensen, daß nur bei einer bestimmten $[H]$ die Werte für k während des ganzen Ganges der Inversion wirklich annähernd konstant bleiben, während sie bei tieferer Acidität ansteigen und bei höherer Acidität fallen.

¹⁾ Sørensen, Enzymstudien II, l. c.

Wie ist dieses Verhalten zu erklären? Wir sind von vornherein der Ansicht gewesen, daß es sich hier um zwei entgegengesetzte Faktoren handelt, die einander zu kompensieren trachten, nämlich einmal der an sich steigende Gang von k bei der Invertinwirkung, und zweitens um eine Fermentzerstörung, die jenseits der optimalen durch eine steigende $[H^+]$ in zunehmendem Maße stattfindet. Alle älteren Autoren geben übereinstimmend an, daß bei der Invertinwirkung unter Zugrundelegung der logarithmischen Formel steigende Werte für k resultieren. Nach unseren eigenen sehr zahlreichen, in dieser Arbeit zum Teil noch nicht berücksichtigten Versuchen müssen wir dieses im Gegensatz zu einigen neueren Angaben durchaus bestätigen. Tritt nun aber in einem Versuch beispielsweise durch zu hohe Acidität eine Zerstörung des Ferments auf, die während des Versuchs weiter wirkt, so haben wir den Fall vor uns, daß die Inversion mit von Minute zu Minute geringer werdendem wirksamen Ferment zu Ende geführt wird. In diesem Fall müssen deshalb die Werte für k fallen. Es ist begreiflich, daß man bei Variation der äußeren Bedingungen den ersten oder zweiten Faktor mehr hervortreten sehen wird, und daß man an einen Punkt kommen muß, wo beide sich paralisieren. Nur wenn es gelingt, die Fermentzerstörung stark zurückzudrängen, wird man auch bei hoher Acidität ansteigende Werte für k bekommen. Berücksichtigt man nun, daß Sørensen bei einer Temperatur von 52° gearbeitet hat, die zweifelsohne die Zerstörung des Invertins beschleunigen wird, so ergibt sich, daß man durch die Wahl einer niedrigeren Versuchstemperatur den zuletzt genannten Fall wird herbeiführen können.

Tabelle VI.

Versuch 43. Acetatgemisch 1:1; Acetatgehalt = $\frac{1}{100}$. $[H^+] = 0,20 \cdot 10^{-4}$; $p_H = 4,70$.Wasserbad = $22,3^\circ C \pm 0,05$. $A = a \times 1,313 = 5,690$.

t	a	x	$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x}$
0	(+ 4,334)	—	—
0,5	4,324	0,010	—
21,0	3,945	0,389	0,00145
60,0	3,260	1,074	0,00151
130,0	2,129	2,205	0,00164
190,2	1,330	3,004	0,00171
240,0	0,744	3,590	0,00176

Tabelle VII.

Versuch 34. (Zusammensetzung s. Tab. IV.)

$$[H] = 0,21 \cdot 10^{-2}. \quad p_H = 3,68.$$

$$\text{Wasserbad} = 22,3^\circ \text{C} \pm 0,05. \quad A = a \times 1,313 = 5,455.$$

t	a	x	$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x}$
0	(4,155)	—	—
0,5	4,145	0,010	—
37,0	3,430	0,725	0,00168
76,0	2,740	1,415	0,00172
130,5	1,840	2,315	0,00184
180,0	1,122	3,033	0,00196
223,5	0,615	3,540	0,00203

Tabelle VIII.

Versuch 36. (Zusammensetzung s. Tab. IV.)

$$[H] = 0,98 \cdot 10^{-2}. \quad p_H = 3,01.$$

$$\text{Wasserbad} = 22,3^\circ \text{C} \pm 0,05. \quad A = a \times 1,313 = 5,499.$$

t	a	x	$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x}$
0	(4,188)	—	—
0,4	4,180	0,008	—
30,0	3,620	0,568	0,00158
60,0	3,069	1,119	0,00165
95,0	2,462	1,726	0,00172
123,0	2,032	2,156	0,00176
215,0	0,840	3,348	0,00194

Tabelle IX.

Versuch 37. (Zusammensetzung s. Tab. IV.)

$$[H] = 0,31 \cdot 10^{-2}. \quad p_H = 2,52.$$

$$\text{Wasserbad} = 22,3^\circ \text{C} \pm 0,05. \quad A = a \times 1,313 = 5,403.$$

t	a	x	$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x}$
0	(4,115)	—	—
0,4	4,105	0,010	—
20,2	3,847	0,268	0,00109
60,6	3,400	0,715	0,00102
82,0	3,170	0,945	0,00102
107,5	2,911	1,204	0,00102
150,0	2,486	1,619	0,00103

k ist berechnet aus den Daten zwischen dem Anfang des Versuchs bis zu dem jeweiligen Umsatz, während Sørensen die Werte von k aus je zwei zeitlich aufeinanderfolgenden Ableesungen entnommen hat.

Und in der Tat ist uns dies gelungen, indem wir als Versuchstemperatur $22,3^\circ$ gewählt haben. Zum Beweise mögen die Tabellen VI bis IX dienen, in denen wir 4 Versuche mit verschiedenen Aciditäten derart protokolliert haben, daß wir ihre Inversionskonstante k nach der logarithmischen Formel berechnet haben. In diesen Tabellen bedeutet α den abgelesenen Drehungswinkel, A den daraus auf die angegebene Weise berechneten überhaupt umsatzfähigen Drehungsgrad. Ganz in Übereinstimmung mit den Resultaten Sørensens sehen wir in Tabelle VI bei $p_H = 4,70$ ansteigende Werte für k . Während aber in Sørensens Versuchen bei $p_H = 3,68$ (vgl. dort Tabelle XXIX) k stark abfällt, bekommen wir bei $p_H = 3,68$ und sogar bei $p_H = 3,01$ (vgl. Tabelle VII und VIII) noch steigende k -Werte, und erst bei $p_H = 2,52$ (Tabelle IX) macht sich die Fermentzerstörung durch die Konstanz der k -Werte bemerkbar.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß die von Sørensen beobachteten Verschiedenheiten in der Form der Umsatzkurve nur in der durch die hohe Temperatur noch beschleunigten Fermentzerstörung begründet sind. Infolgedessen sind wir auf jeden Fall berechtigt, im Bereich der niederen Aciditäten bis herauf zum Optimum die Form der Kurve als unabhängig von der $[H]$ zu betrachten, während bei Aciditäten, die höher als die optimale sind, eine Korrektur angebracht werden muß, die die Fermentzerstörung berücksichtigt. Sicherlich eignet sich daher aber für Untersuchungen, die die Fermentwirkung, nicht die Fermentzerstörung feststellen wollen, eine niedrige Versuchstemperatur besser als eine hohe.

Nachdem wir so gesehen haben, daß die Form der Umsatzkurve sowohl von der wirksamen Fermentmenge wie von der $[H]$ unabhängig ist, können wir jetzt an die schon oben skizzierte Aufgabe, $\frac{\varphi}{\phi}$ als Funktion von $[H]$ darzustellen, herantreten. Zu diesem Zweck stellen wir zunächst für irgendeine $[H]$ den Umsatz X als Funktion der Zeit T graphisch dar und betrachten dies als Standardkurve. Um nun für eine andere $[H]$ die relative Geschwindigkeit zu bestimmen, stellen wir durch Ver-

sich für mehrere Zeitpunkte $t_1, t_2, t_3 \dots$ den dazugehörigen Umsatz $x_1, x_2, x_3 \dots$ fest und suchen uns auf der Standardkurve diejenigen Zeiten $T_1, T_2, T_3 \dots$ auf, die den Umsätzen $x_1, x_2, x_3 \dots$ gleichfalls entsprechen. Die Quotienten $\frac{T_1}{t_1}, \frac{T_2}{t_2}, \frac{T_3}{t_3} \dots$, die die relative Umsatzgeschwindigkeit bedeuten, dienen uns dann als Maß für die wirksame Fermentmenge, bezogen auf diejenige des Standardversuchs.

Da wir unter unseren in der Tabelle IV aufgeführten Versuchen drei haben, für die der Quotient $\frac{x}{t}$ Punkt für Punkt nahezu identisch ist (nämlich Versuch 31, 33 und 34), so

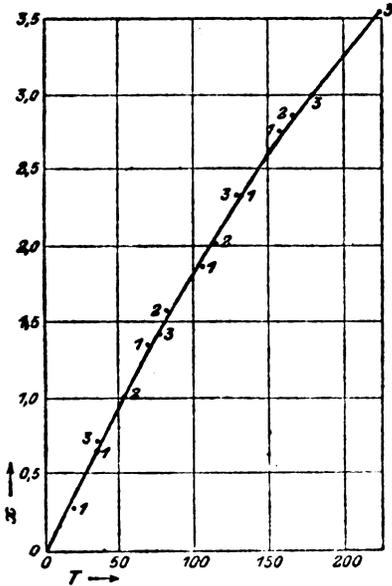


Fig. 3.

haben wir diese für die Standardkurve verwertet, die in Fig. 3 wiedergegeben ist.

Unter der Rubrik $\frac{T}{t}$ in Tabelle IV sind als Bruch die zu einem bestimmten Umsatz gehörigen Zeiten der Standardkurve und des betreffenden Versuchs angegeben, dann ihr ausgerechneter Wert. Aus den stets sehr gut übereinstimmenden Werten ist dann zum Schluß das Mittel gezogen worden, das die gesuchte relative Umsatzgeschwindigkeit angibt.

Jetzt können wir noch, um eine gute Anschauung von dem Einfluß der $[H]$ auf die Invertinwirkung zu bekommen, die relative Umsatzgeschwindigkeit $\frac{T}{t}$ als Ordinate und den $\log [H]$ als Abszisse in ein rechtwinkliges Koordinatensystem eintragen. Wir erhalten dann die in Fig. 4 wiedergegebene Kurve.

Beim ersten Blick auf diese Kurve fällt ihre Übereinstimmung mit der Dissoziationsrestkurve der schwachen Säuren

auf¹⁾. Erinnern wir uns nun noch daran, daß nach unseren früheren Versuchen das Invertin eine Säure ist, da es selbst noch bei schwach saurer Reaktion zur Anode wandert und von elektropositiven Adsorbentien gut, von elektronegativen kaum adsorbiert wird, so gelangen wir zu der Vermutung, daß für die Abhängigkeit der Invertinwirkung von der $[H^+]$ der Dissoziationsrest der Invertinsäure maßgebend ist.

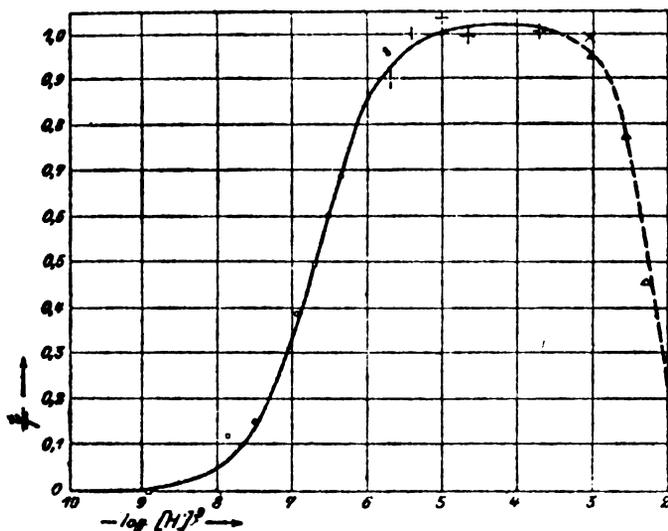


Fig. 4.

- Ammoniumgemisch.
- Phosphatgemisch.
- + Acetatgemisch.
- × Essigsäure.
- △ Salzsäure.

An demjenigen Punkte, wo die Ordinate die Hälfte der maximalen Höhe ist, gibt dann die Abszisse den Logarithmus der Dissoziationskonstanten der Säure an. Wir finden, daß die maximale Höhe in unserem willkürlichen Maßsystem am besten = 1,02 angenommen wird. Die Hälfte davon, 0,51, entspricht dem Abszissenpunkt -6,70. Daraus würde folgen, daß die Invertinsäure eine Dissoziationskonstante von $10^{-6,70}$ oder $2 \cdot 10^{-7}$ hat. Berechnen wir die Dissoziationskurve einer Säure,

¹⁾ L. Michaelis, diese Zeitschr. 33, 182, 1911.

wenn $k = 2 \cdot 10^{-7}$ ist, so erhalten wir wirklich ein genaues Bild unserer Invertinkurve.

Die gezeichnete Kurve der Figur 4 stellt nämlich in der Tat die theoretisch berechnete Dissoziationsrestkurve mit der Konstanten $k = 2 \cdot 10^{-7}$ dar, und man sieht, wie gut die einzelnen beobachteten Punkte sich ihrem Verlauf einfügen. Besonders charakteristisch und unmöglich auf einem Zufall beruhend ist die Neigung des mittleren Teils, der eine schräg verlaufende gerade Linie darstellt. Der Neigungswinkel derselben gegen die $\log[H^-]$ -Achse ist völlig identisch mit dem erwarteten.

2. Der absteigende Ast der Kurve.

Der absteigende Ast der Kurve in Figur 4 bietet der Beurteilung größere Schwierigkeiten. Es handelt sich hier um das Gebiet hoher Aciditäten, wo die Selbstzerstörung des Fermentes schon stark in Erscheinung tritt. Wir werden hier also versuchen müssen, aus dem Gang der Spaltung des Zuckers diejenige wirksame Fermentmenge zu ermitteln, die zu Anfang des Versuchs vorhanden gewesen ist. Dies geschah in angenäherter Weise dadurch, daß wir wie gewöhnlich mehrere Probeentnahmen machten. Dabei zeigte sich sofort, daß die einzelnen Werte $\frac{T_1}{t_1}, \frac{T_2}{t_2}, \frac{T_3}{t_3} \dots$ durchaus nicht wie sonst einander gleich waren, sondern bedeutend abnahmen. Uns interessierte infolgedessen nur der Wert $\lim \frac{T}{t}$ für $x = 0$. Wir zeichneten die einzelnen Werte $\frac{x_1}{t_1}, \frac{x_2}{t_2}$ als Ordinaten zu der Zeit t als Abszisse und verlängerten diese Kurve nach Augenmaß nach links. So erhielten wir wenigstens einen Näherungswert für $\lim \frac{x}{t}$ für $x = 0$. Andererseits ist aus der Figur 3 der Wert $\lim \frac{X}{T}$ für $X = 0$ leicht zu entnehmen.

Das Verhältnis dieser beiden Limeswerte gibt uns den gesuchten Wert $\lim \frac{T}{t}$ für $t = 0$. Natürlich handelt es sich hier um eine ganz grobe Annäherung. Für eine wirklich genaue

Bestimmung dieses Grenzwertes wäre eine viel größere Zahl von Einzelbeobachtungen nötig gewesen, und auch dann wäre das Resultat nur ein angenähertes geworden. Wir verzichteten deshalb auf größere Genauigkeit.

Betrachten wir nun den auf Grund der vorhandenen Daten nach Augenmaß annähernd vervollständigten absteigenden Ast unserer Kurve, so entnehmen wir ihm zunächst die Tatsache, daß bei höherer Acidität die Wirkung des Invertins jedenfalls nicht allein infolge der Selbstzerstörung schlechter wird, sondern an sich geringer ist. Die Kurve scheint in derselben Weise abzustiegen, wie sie im ersten Abschnitt ansteigt. Es liegt daher die Deutung nahe, daß das Invertin außer seiner sauren Eigenschaft auch noch eine basische Eigenschaft besitze, die zwar weit schwächer ist, das Invertin aber zu einem amphoteren Elektrolyten stempelt, ein Schluß, zu dem Hudson schon auf Grund seines ungenügenden Materials gekommen ist. Die gesamte Kurve ist die Dissoziationsrestkurve, wie sie in der oben zitierten Arbeit beschrieben worden ist. Es ist nun bemerkenswert, daß die Selbstzerstörung des Invertins gerade bei derjenigen Acidität sich bemerkbar zu machen beginnt, wo das Optimum der Invertinwirkung eben überschritten ist. Daraus folgt, daß das Kation des Invertins erstens als Ferment unwirksam ist, zweitens, daß nur das Kation es ist, das der Selbstzerstörung unterliegt.

Die zerstörende Wirkung der starken Säuren auf das Invertin beruht demnach darauf, daß sie das Invertin in die Form der labilen Kationen überführen.

Wir hatten in früheren Arbeiten immer nur die Säurenatur des Invertins festgestellt; nun aber wollen wir untersuchen, ob der jetzige Befund der amphoteren Natur damit in Einklang zu bringen ist. Die Säurenatur hatten wir aus zwei Eigenschaften erschlossen: erstens aus dem Verhalten bei der elektrochemischen Adsorption, zweitens aus dem Verhalten bei der elektrischen Überführung.

Das Invertin wird nämlich von dem elektropositiven Eisenhydroxyd und der Tonerde adsorbiert, dagegen von negativen Adsorbentien, im besonderen von Kaolin, nach unseren früheren Angaben nicht. Diese Tatsache führte ja zu der von den meisten Autoren übernommenen Reinigungsmethode des In-

vertins, nämlich dem Schütteln mit Kaolin. Nun hatten wir unsere damaligen Versuche noch ohne Regulatoren angestellt, und es war daher möglich, daß wir dadurch eine kleine Ungenauigkeit begangen hatten. Die Versuche wurden deshalb jetzt in einer unseren heutigen Forderungen entsprechenden Weise wiederholt. Die Kaolinmengen wurden, um gute Ausschläge zu erzielen, sehr groß genommen, viel größer, als sie praktisch zur Reinigung des Invertins erforderlich sind.

Versuch 1 A mit gewöhnlicher Fermentlösung.

„ 1 B mit Fermentlösung, von der 20 ccm mit 4 g Kaolin geschüttelt waren.

Versuch 2 u. 3 A mit gewöhnlicher Fermentlösung.

„ 2 u. 3 B nach Schütteln von je 20 ccm derselben mit 6 g Kaolin.

Zusammensetzung aller Versuche: 20 ccm 5%ige Saccharoselösung, 0,5 ccm n-Natriumacetat, 0,5 ccm n-Essigsäure, 5 ccm Ferment. Temperatur 36°. Die Probeentnahmen enthalten 5 ccm der Versuchsflüssigkeit, welche mit 2 ccm 10%iger Sodalösung vermischt werden. Wir haben uns durch Messungen davon überzeugt, daß die zugesetzten Regulatormengen genügen, um allen Lösungen die gewünschte genau definierte $[H]$ zu erteilen.

Tabelle X.

Vers.-Nr.	t Min.	A			B		
		Drehung	α	$\frac{\alpha}{t}$	Drehung	α	$\frac{\alpha}{t}$
1	0	+ 3,86°	—	—	+ 3,87°	—	—
	20	+ 3,36°	0,50°	0,0250	+ 3,44°	0,43°	0,0214
	40	+ 2,85°	1,01°	0,0253	+ 3,02°	0,85°	0,0212
	60	+ 2,41°	1,46°	0,0242	+ 2,55°	1,32°	0,0220
			Mittel: 0,0248			Mittel: 0,0218	
2	0	+ 3,93°	—	—	+ 3,92°	—	—
	32	+ 3,15°	0,78°	0,0243	+ 3,30°	0,62°	0,0194
	60	+ 2,73°	1,20°	0,0240	+ 2,96°	0,96°	0,0192
			Mittel: 0,0241			Mittel: 0,0193	
3	0	- 3,45°	—	—	- 3,44°	—	—
	60	+ 0,78°	2,67°	—	+ 1,18°	2,26°	—
	120	+ 0,78°	4,23°	—	- 0,07°	3,51°	—

In den beiden ersten Versuchen ist zum besseren Vergleich der Wirksamkeit beider Lösungen die Inversionsgeschwindigkeit berechnet worden; und zwar wurde sie in Anbetracht des kleinen Umsatzes gleich dem Quotienten: Umsatz durch Zeit gesetzt.

Die Versuche zeigen also in der Tat, daß das Kaolin ein, wenn auch schwaches, Adsorptionsvermögen für Invertin hat. Wie schwach dasselbe ist, sieht man durch folgenden Vergleich. Die in Versuch 1 angewendete Menge Kaolin hätte genügt, um eine mehr als $\frac{1}{2}\%$ ige Eiweißlösung restlos zu entweißen, während sie von der in ihrer absoluten Konzentration zwar unbekannt, aber jedenfalls sehr viel schwächeren Invertinlösung nur $\frac{1}{8}$ der Gesamtmenge entrissen hat. Von wirklich rein elektronegativen Körpern, wie Eosin, adsorbiert Kaolin auch nicht die allergeringste Spur. Die Adsorptionseigenschaften des Kaolins lassen sich also mit der amphoteren Natur wohl vereinigen.

Die elektrischen Überführungsversuche wurden von uns in großem Maßstabe versucht, führten aber zu keinem ganz entscheidenden Resultat, weshalb wir die Versuche im einzelnen nicht beschreiben wollen. Die größte Schwierigkeit liegt darin, daß im Bereich der uns am meisten interessierenden höheren Aciditäten die Selbstzerstörung zu groß ist. Daher gelang der sichere Nachweis einer einsinnigen kathodischen Wanderung nicht. Auffällig war immerhin, daß die Wanderung des Invertins bei $[H^+] = 10^{-8}$ schwankende, schlecht reproduzierbare Resultate gab, so daß wir wenigstens behaupten können, daß die Wanderungserscheinungen nicht im Widerspruch mit der Annahme der amphoteren Natur des Invertins stehen.

Die basische Dissoziationskonstante des Invertins, die wir auf die ähnliche Weise wie oben ermitteln können, ist somit ganz ungefähr 10^{-12} , denn die halbe Höhe der Ordinate entspricht etwa einer $[H^+] = 10^{-8}$, also $[OH^-] = 10^{-12}$.

Anhang.

Wir möchten diese Gelegenheit benutzen, um einige vor längerer Zeit angestellte Versuche über das elektrochemische Verhalten des dem Invertin so nahe stehenden Emulsins zu veröffentlichen.

Die Adsorptionsversuche wurden mit Eisenhydroxyd und mit Kaolin ausgeführt. Die angewendeten Mengen sind in den Protokollen angegeben. Die Versuchstemperatur war überall 48°. Die Fermentlösung

(Grübler) war 1%. Als Substrat wählten wir Amygdalin und Salicin. Die 5%ige Amygdalinlösung, die wir uns zu diesem Zwecke herstellten, war leicht opak und mußte, da wir die Fermentwirkung durch Polarisation feststellen wollten, deshalb unter Zusatz von 2 Tropfen $\frac{1}{10}$ -Essigsäure und Kaolin geklärt werden. Salicin wurde in 2%iger Lösung verwendet. Die Mengen von Substrat- und Fermentlösungen, die miteinander vermischt wurden, waren in den Parallelversuchen stets gleich, divergierten aber etwas in den Versuchsreihen. Zu jeder Versuchslösung wurde schließlich noch, um die $[H]$ genau zu definieren, 1 ccm eines Acetatgemischs $\frac{1}{10}$ hinzugefügt. Von dem zusammengesetzten Gemisch wurden sofort und nach 60 Minuten je 5 ccm herauspipettiert, in 2 ccm 20%iger Sodalösung aufgefangen und polarisiert. Die Resultate dieser Versuche sind in den Tabellen XI bis XIV wiedergegeben.

Tabelle XI.

Adsorbens: Eisenhydroxyd (1 ccm auf 10 ccm Lösung).

Substrat: Amygdalin.

t Min.	A		B	
	α	z	α	z
0	-2,40°	—	-2,37°	—
60	+1,23°	3,65°	-2,34°	-0,03°

Tabelle XII.

Adsorbens: Eisenhydroxyd (2,5 ccm auf 10 ccm Lösung).

Substrat: Salicin.

t Min.	A		B	
	α	z	α	z
0	-1,17°	—	-1,18°	—
60	+0,24°	1,41°	-1,20°	-0,02°

Tabelle XIII.

Adsorbens: Kaolin (1 g auf 10 ccm Lösung). Substrat: Amygdalin.

Nr.	t Min.	A		B	
		α	z	α	z
1	0	-2,28°	—	-2,14°	—
	60	+1,13°	3,41°	+0,19°	2,33°
2	0	-2,20°	—	-2,27°	—
	60	+1,21°	3,41°	-0,08°	2,19°

Tabelle XIV.

Adsorbens: Kaolin (2 g auf 10 ccm Lösung). Substrat: Amygdalin.

Nr.	t Min.	A		B	
		a	x	a	x
1	0	-1,50°	—	-1,50°	—
	60	+0,99°	2,49°	-0,51°	0,99°
2	0	-2,30°	—	-2,32°	—
	60	+1,34°	3,64°	-2,30°	0,02°
3	0	-2,29°	—	-2,29°	—
	60	+1,20°	3,49°	-2,24°	0,05°
4	0	-1,97°	—	-1,98°	—
	60	+1,29°	3,26°	+0,56°	2,54°
5	0	-2,10°	—	-2,13°	—
	60	+1,27°	3,37°	-2,20°	-0,07°

Tabelle XV.

Adsorbens: Kaolin (2 g auf 10 ccm Lösung). Substrat: Salicin.

Nr.	t Min.	A		B	
		a	x	a	x
1	0	-1,24°	—	-1,23°	—
	60	+0,17°	1,41°	-0,44°	0,79°
2	0	-1,25°	—	-1,24°	—
	60	+0,18°	1,43°	-1,22°	0,02°

Tabelle XVI.

Adsorbens: Kaolin (3 g auf 10 ccm Lösung). Substrat: Amygdalin.

Nr.	t Min.	A		B	
		a	x	a	x
1	0	-1,97°	—	-1,99°	—
	60	+1,29°	3,26°	-1,88°	0,11°
2	0	-2,10°	—	-2,10°	—
	60	+1,27°	3,37°	-2,10°	0,00°

Das Emulsin verhält sich also ähnlich wie das Invertin, es wird von Eisenhydroxyd leicht adsorbiert; von Kaolin erst durch große Mengen und meist nur teilweise. Jedenfalls wird es von Kaolin erheblich leichter adsorbiert als Invertin. Wir können daher die Angabe von Rosenthaler¹⁾, daß es von Kaolin nicht adsorbiert werde, nicht bestätigen. Wir haben auch mit Emulsin eine große Reihe von Überführungsver-

¹⁾ Rosenthaler, diese Zeitschr. 26, 1, 1910.

suchen angestellt; da wir aber auch hier vorläufig nicht zu einem klaren verwertbaren Resultat gelangt sind, nehmen wir gleichfalls davon Abstand, diese Versuche ausführlich zu protokollieren. Nur das möchten wir erwähnen, daß wir herauf bis zu einer $[H^+] = 6 \cdot 10^{-4}$ anodische Wanderung beobachtet haben, und daß bei noch höheren Aciditäten eine schnelle Zerstörung des Ferments eintritt, welche die weitere Beobachtung der Wanderung verhindert. Da das Optimum der Emulsinwirkung wie beim Kaolin bei einer leicht sauren Reaktion liegt, so dürfte es wohl auch für das Emulsin zutreffen, daß es ein amphoterer Elektrolyt ist und nur sein undissoziierter Anteil fermentative Eigenschaften hat. Hierbei ist allerdings die von Rosenthaler behauptete, aber noch nicht sicher erwiesene komplexe Natur des Emulsins nicht in Betracht gezogen.

Zusammenfassung.

Das Invertin ist ein amphoterer Elektrolyt, wie schon Hudson behauptet hat. Die Säurendissoziationskonstante ist ganz abweichend von dem Werte von Hudson, $= 2 \cdot 10^{-7}$, die Basendissoziationskonstante ist ganz ungefähr $= 10^{-12}$. Die hydrolysierende Wirkung auf Saccharose kommt nur dem undissoziierten Anteil des Invertins zu. Das Optimum seiner Wirkung entspricht daher seinem isoelektrischen Punkt. Da $k_a \cdot k_b$ viel größer als k_w ist, so prägt sich nur eine breite isoelektrische Zone aus, die etwa von 10^{-8} bis 10^{-3} reicht. Die Anionen des Invertins sind als Ferment wirkungslos, die Kationen sind ebenfalls wirkungslos und leicht zersetzlich.

Die Wirkung der Wasserstoffionen auf die fermentative Spaltung der Saccharose ist also völlig auf die Abhängigkeit der Dissoziation des Invertins von der $[H^+]$ zurückgeführt worden.

Studien in der Chlorophyllgruppe. XI.

Von

L. Marchlewski.

Über die Dualität der Chlorophyllane und das Allechlorophyllan.

Von

L. Marchlewski und J. Marszalek.

(Eingegangen am 20. Juli 1911.)

Mit 2 Figuren im Text und 2 Tafeln.

Auf die Anwesenheit zweier grüner Farbstoffe in grünen Blättern hat bekanntlich zum ersten Male Stokes¹⁾ aufmerksam gemacht. Später beschäftigte sich mit demselben Problem Sorby²⁾; er benutzte eine Entmischungsmethode, die auf der Behandlung alkoholischer Rohchlorophylllösungen mit Schwefelkohlenstoff beruhte und die ihn zu dem Resultate führte, daß höhere Pflanzen zwei rote Strahlen absorbierende grüne Farbstoffe enthalten. Der eine erhielt den Namen blaues Chlorophyll, der zweite gelbes Chlorophyll. Weiterhin bearbeitete dasselbe Problem Hartley³⁾. Auch dieser Forscher unterscheidet zwischen zwei Chlorophyllen, von denen das eine aus der alkoholischen Lösung sofort durch Bariumhydrat gefällt wird, das zweite erst nach längerer Zeit.

Diese Untersuchungen waren ganz in Vergessenheit geraten, und erst Marchlewski und C. A. Schunck⁴⁾ lenkten von neuem die Aufmerksamkeit auf dieses wichtige Problem. Sie kombinierten die Methode von Sorby und von Hartley und bestätigten den Befund des ersteren,

¹⁾ Vgl. Marchlewski, Die Chemie der Chlorophylle usw. 1909.

²⁾ Dito.

³⁾ Dito.

⁴⁾ Dito.

daß die beiden grünen Farbstoffe vor allem durch verschiedene Lagen des ersten Absorptionsbandes im Rot unterschieden sind und zeigten, daß das von Hartley beschriebene sog. „gelbe“ Chlorophyll tatsächlich durchaus grün ist und anfangs nur deswegen als gelb erscheint, weil es vorwiegend gelbe Pigmente enthält. Der zweite grüne Farbstoff wurde späterhin von mir Allochlorophyll genannt. Er tritt in den am häufigsten zu Chlorophylluntersuchungen verwendeten Materialien nur in geringen Mengen auf und es ist auch jetzt sicher gestellt worden (vgl. unten), daß das Auftreten desselben in ein und derselben Pflanzenart von verschiedenen äußeren Einflüssen abhängt, wie Belichtung und dergl.¹⁾

In neuerer Zeit endlich beschrieb Tswett²⁾ eine Methode zur Trennung der beiden Chlorophylle, die auf Adsorptionerscheinungen beruht. Während die früheren Forscher nur die Darstellung des Chlorophylls in optisch reinem Zustande in Anspruch nahmen, behauptet Tswett, auch das Allochlorophyll vollkommen rein erhalten zu haben und gibt eine genaue Beschreibung des spektroskopischen Verhaltens.

Trotz dieser Reihe von Untersuchungen war über die chemische Natur des Allochlorophylls und seine chemischen Merkmale, die es vom Chlorophyll unterscheiden, wenig bekannt:

Stokes behauptete allerdings bereits, daß während Chlorophyll bei der Behandlung mit Säuren Phyllocyanin liefert, Allochlorophyll in Phylloxanthin übergeht. Trotzdem schien eine nähere Relation zwischen beiden Chlorophyllen zu bestehen, denn Schunck und Marchlewski³⁾ erhielten durch energische Behandlung eines Phylloxanthins mit Salzsäure Phyllocyanin. Derselbe Versuch, von Koźniewski und Marchlewski⁴⁾ später ausgeführt, ergab ein anderes Resultat: das von ihnen

¹⁾ Mit der Geschichte der Entdeckung der Dualität der Chlorophylle beschäftigt sich Tswett auch in seinem neuesten Buch: „Die Chlorophylle im Pflanzen- und Tierreich“ (russisch). Er wiederholt dort des langen seine Vorwürfe, die ich, wie ich hoffe, hinreichend zurückgewiesen habe. Die erneuten Angriffe haben wohl nur den Zweck, Substrat zum polemischen Auftreten überhaupt zu haben. Anders kann ich mir nicht erklären, warum, nachdem Tswett erst umständlich zu zeigen sich bemüht, daß C. A. Schunck und ich die Verdienste Sorbys geschmälert haben, er dann in einer Fußnote bemerkt, wir hätten doch gesagt, Sorbys Arbeit wäre „very elaborate and important“. Weiterhin auf Tswetts diesbezügliche Auslassungen einzugehen, halte ich für überflüssig, und wenn ich das letzte Werk dieses Autors überhaupt erwähne, so geschah dies deswegen, um dem Chemiker die Existenz eines Buches anzuzeigen, in dem trotz aller meiner Bemühungen, die die Verknüpfung der Chlorophyllchemie mit der Pyrrolchemie zum Gegenstand haben, an der Existenz des Stickstoffs im Chlorophyllmolekül gezweifelt wird.

²⁾ Diese Zeitschr. 5, 6, 1907.

³⁾ Liebigs Ann. 284, 101, 1894.

⁴⁾ Diese Zeitschr. 3, 302, 1907.

angewandte Phylloxanthin ergab nicht, wie erwartet wurde, Phyllocyanin. Trotzdem ist kein Grund vorhanden, an dem positiven Ergebnis des damaligen Schunck-Marchlewskischen Versuches zu zweifeln. Die Divergenz beider Resultate beweist nur, daß die Identifizierung von Substanzen nur auf Grund von optischen Merkmalen nicht zulässig ist und daß also die von den letzteren Forschern benutzte Substanz nicht Phylloxanthin war, trotzdem sie die optischen Eigenschaften eines solchen besaß. Heute ist es schwer, über die Natur der Substanz eine Vermutung auszusprechen, da es bekannt geworden ist, daß sogar die Art der Vorbereitung des Pflanzenmaterials auf die Natur der Spaltungsprodukte von großem Einfluß ist.

Erst nachdem Koźniewski und Marchlewski das Resultat von Schunck und M. auf diese Art korrigierten, fand es Tswett für angezeigt, das Resultat der beiden letzten Autoren mit besonderer Vehemenz anzugreifen.

Aus dem Befund von K. und M. folgte, daß bei der Besprechung der näher bekannten Chlorophyllderivate die Frage aufzuwerfen war, ob wirklich alle diese Substanzen von ein und derselben Muttersubstanz herrühren, oder ob, wie Stokes behauptete, Phylloxanthin nicht vom Chlorophyll sondern vom Allochlorophyll herrührt. Tswett war in der Lage, das Stokes'sche Resultat zu stärken, indem er fand, daß Allochlorophyll bei der Behandlung mit konz. Salzsäure in Phylloxanthin überging. Zu dem gleichen Hauptresultat gelangten später Malarski und Marchlewski, nachdem sie eine Methode zur Trennung des Rohchlorophyllans in zwei Teile fanden, von denen einer dem Allochlorophyll entsprach. Die Methode bestand in folgendem: Wird Rohchlorophyllan, wie es aus Rohchlorophylllösungen hergestellt wird, in Alkohol gelöst, mit $Zn(OH)_2$ und CO_2 behandelt, so findet ein Farbenumschlag statt. Die olivbraune Farbe macht einer grünen nach und nach Platz. Chlorophyllane verschiedener Pflanzen verhalten sich hierbei verschieden. Das Rohchlorophyllan der Brennnesseln reagiert mit $Zn(OH)_2$ und CO_2 verhältnismäßig rasch, die heiß filtrierte Lösung gibt bei Abkühlung bereits nach eintägiger Einwirkung der genannten Reagenzien nur einen kleinen Niederschlag, der nicht die Charaktere der grünen Zinkverbindung besitzt, der sich in Chloroform mit olivbrauner Farbe löst und spektroskopisch sich dem ursprünglichen Rohchlorophyllan ähnlich verhält. Im Falle des Rohchlorophyllans von Ahornblättern (*Acer pseudoplatanus*) ist das Resultat anders. Bei eintägiger Einwirkung von $Zn(OH)_2$ und CO_2 auf dieselbe Menge Rohchlorophyllan, wie in dem Versuche mit Brennnesselrohchlorophyllan, ist der mit Zink nicht in Reaktion getretene Teil bedeutend größer und die Farbe seiner Chloroformlösung ist rotstichig braun und zeigt ein Spektrum, das von dem des ursprünglich angewandten Produktes nicht unwesentlich abweicht. Dieser mit Zink träge reagierende Anteil kann von dem entgegengesetzt sich verhaltenden weiter getrennt werden, indem man ihn wiederholt mit $Zn(OH)_2$ und CO_2 behandelt. In dieser Weise kann der erstere, die Zn-Verbindung schwieriger liefernde Teil, in reinem Zustande erhalten werden. Wird andererseits das Rohchloro-

phyllan längere Zeit mit $Zn(OH)_2$ und CO_2 behandelt, dann kann die ganze Substanz in ein Gemisch von grünen Substanzen umgewandelt werden.

Die Deutung dieses Verhaltens von Rohchlorophyllanen kann zunächst von zwei verschiedenen Voraussetzungen ausgehen. Erstens könnte angenommen werden, Rohchlorophyllan wäre eine einheitliche Substanz, ein chemisches Individuum, das eine Kombination zweier chemisch vereinigter Teile ist; durch die Wirkung des $Zn(OH)_2$ wird die Bindung zwischen beiden Teilen gelöst und einer von ihnen reagiert mit $Zn(OH)_2$ mit größerer Geschwindigkeit als der andere, und zweitens, Rohchlorophyllan ist ein Gemisch zweier Komponenten, die nicht miteinander in chemischer Verbindung stehen, von denen die eine mit $Zn(OH)_2$ und CO_2 rascher reagiert als die andere. Die erste Deutung ist aus folgenden Gründen zu verwerfen. Zunächst zeigen Rohchlorophyllane, die aus solchen Rohchlorophyllösungen dargestellt werden, die die Kraussche Reaktion in normaler Weise zeigen und die kein kristallisierbares Chlorophyll in Lösung enthalten, unter Umständen bedeutende Unterschiede, die besonders durch ein genaues spektroskopisches Studium ermittelt werden können. Diese Unterschiede treten nicht nur bei Chlorophyllanen verschiedener Pflanzenarten auf, sondern auch bei Chlorophyllanen derselben Pflanzenarten. Als besonders drastisches Beispiel kann *Acer platanoides* erwähnt werden, worauf noch unten ausführlich zurückzukommen sein wird. Diese Variationen der spektralen Eigenschaften von Chlorophyllanen spricht allein schon gegen ihre Einheitlichkeit und gegen die erste oben diskutierte Annahme. Gegen sie und gleichzeitig für die zweite Annahme spricht weiterhin der Umstand, daß die Menge des mit $Zn(OH)_2$ träge reagierenden Körpers um so größer ist, je intensiver die Sorbysche Reaktion auf Allochlorophyll ausfällt, d. h. das Vorhandensein des mit $Zn(OH)_2$ träge reagierenden Körpers steht mit dem Vorkommen des Allochlorophylls im ursächlichen Zusammenhange. Endlich kann hervorgehoben werden, daß die Eigenschaften des mit $Zn(OH)_2$ träge reagierenden Körpers in den meisten Fällen denjenigen entsprechen, die Tswett für das Säureumwandlungsprodukt des Allochlorophylls angibt. Tswetts Methode hat jedenfalls den Vorzug, daß bei ihr das Mitwirken von chemischen Agenzien nicht angenommen werden kann, und das Übereinstimmen der Resultate, die nach der Adsorptionsmethode und der „Zinkmethode“ erhalten wurde, spricht ebenfalls für die zweite diskutierte Deutung des beschriebenen Experimentes.

Eine andere Frage, die sich aufdrängt und einer Diskussion bedarf, ist die, ob die langdauernde Wirkung des Zinkhydrates auf das Allochlorophyllan ohne Nachteil ist. Das früher von Malarski und Marchlewski untersuchte Produkt zeigte einen Gehalt von 2,03% OCH_3 , während das zu seiner Darstellung benutzte Rohchlorophyllan aus *Acer pseudoplatanus* im Mittel 2,74% OCH_3 enthält. Damals wurde angenommen, daß ca. 2% OCH_3 das Allochlorophyllan charakterisiert, neuere Erfahrungen belehrten uns jedoch, daß diese Annahme unberechtigt ist, und zwar, weil wir jetzt ein Allochlorophyllan mit 3%

OCH_3 isolierten, das einem Rohchlorophyllan entsprang, das weit reicher an Allochlorophyllan war. Bei der Isolierung dieses Präparates war eine weit kürzere Behandlung mit $\text{Zn}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2$ notwendig und der Mehrgehalt an (OCH_3) konnte darin eine Erklärung finden, daß in diesem Falle die schädigende methoxylabspaltende Wirkung des $\text{Zn}(\text{OH})_2$ im Vergleich mit den früheren Versuchen bedeutend eingeschränkt war. Um noch einen direkteren Beweis der schädigenden Wirkung des $\text{Zn}(\text{OH})_2$ zu erhalten, wurden „Zinkchlorophylle“, die nach zwei verschiedenen Methoden dargestellt wurden, verglichen; es wurde einerseits Brennesselchlorophyllan mit Zinkacetat in alkoholischer Lösung kombiniert, andererseits mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ und CO_2 . Die erhaltenen Produkte waren sich äußerst ähnlich, aber das erstere enthielt 4,07% OCH_3 und das zweite nur 3,01%. Eine schädigende Wirkung des $\text{Zn}(\text{OH})_2$ ist also jedenfalls nicht zu vermeiden, dieselbe wird sich jedoch aller Wahrscheinlichkeit nach nur auf der teilweisen Verseifung der Methoxylgruppen und eventuell auch eines Teiles des Phytols, das, wie sich zeigte, ebenfalls im Allochlorophyllan vorhanden ist, beschränken. Sie wird um so geringer, je reicher an Allochlorophyllan das angewandte Rohchlorophyllan war, denn je höher der Gehalt an ersterem ist, desto kürzer darf die Behandlung mit $\text{Zn}(\text{OH})_2$ und CO_2 sein.

I. Vergleich von nach verschiedenen Methoden dargestellten „Zinkchlorophyllen“.

(Mitbearbeitet von Z. Leyko.)

A. Kombination von Brennesselchlorophyllan mit $\text{Zn}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2$ nach der Methode von Malarski und Marchlewski¹⁾.

Das Chlorophyllan war gewonnen aus Brennesselblättern, die im Jahre 1910 gesammelt und getrocknet wurden.

Das gewonnene „Zinkchlorophyll“ zeigte folgende Zusammensetzung nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure:

1. 0,1457 g gaben 0,3697 g CO_2 und 0,1082 g H_2O , entsprechend 69,20% C und 8,25% H.

2. 0,1032 g gaben 0,2622 g CO_2 und 0,0783 g H_2O , entsprechend 69,29% C und 8,43% H.

3. 0,1038 g gaben 6,3 ccm N bei $t = 18^\circ$, $b = 743,6$ mm, entsprechend 6,82% N.

4. 0,1005 g gaben 6,2 ccm N bei $t = 20^\circ$, $b = 730,0$ mm, entsprechend 6,78% N.

5. 0,1996 g gaben 0,0153 g ZnO , entsprechend 7,66% ZnO oder 6,12% Zn.

¹⁾ l. c.

6. 0,2307 g gaben 0,0545 g AgJ, entsprechend 3,12% OCH_3 .
7. 0,2312 g gaben 0,0507 g AgJ, entsprechend 2,90% OCH_3 .
8. 1,0803 g gaben 0,3092 g Phytol, entsprechend 28,62%.

B. Kombination von Brennesselchlorophyllan mit Zinkacetat.

10 g Zinkacetat wurden in 2 l Alkohol gelöst und ohne die Abscheidung von basischem Acetat zu beachten, 5 g Chlorophyllan nach und nach eingetragen. Die Mischung wurde 2 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dieser Zeit erfolgte die Abdestillierung der Hälfte des Alkohols, Zusatz von Wasser und Filtration des „Zinkchlorophylls“. Das Produkt wurde in Äther aufgenommen, die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Analysen ergaben folgendes:

1. 0,0945 g gaben 0,2405 g CO_2 und 0,0699 g H_2O , entsprechend 69,41% C und 8,22% H.
2. 0,0950 g gaben 0,2411 g CO_2 und 0,0717 g H_2O , entsprechend 69,21% C und 8,44% H.
3. 0,1020 g gaben 5,95 ccm N bei $t = 18^\circ$ und $b = 738$ mm, entsprechend 6,51% N.
4. 0,1005 g gaben 5,8 ccm N bei $t = 17^\circ$ und 740 mm, entsprechend 6,48% N.
5. 0,2260 g gaben 0,0188 g ZnO, entsprechend 8,32% ZnO oder 6,68% Zn.
6. 0,2470 g gaben 0,0734 g AgJ, entsprechend 3,92% OCH_3 .
7. 0,2400 g gaben 0,0768 g AgJ, entsprechend 4,22% OCH_3 .
8. 1,0441 g gaben 0,3294 g Phytol, entsprechend 31,54%.

Zusammenstellung.

	„Zinkchlorophyll A“	„Zinkchlorophyll B“
C	69,25%	69,31%
H	8,34 „	8,33 „
N	6,78 „	6,50 „
O	9,51 „	9,18 „
Zn	6,12 „	6,68 „
OCH_3	3,01 „	4,07 „
Phytol	28,62 „	31,54 „
Ausbeute aus 10 g Chlorophyllan	7,91 g	10,90 „

Aus vorhergehender Zusammenstellung ist ersichtlich, daß, obwohl die Werte für C, H, N, O, Zn in beiden Präparaten sich sehr nahe stehen, ein Unterschied in den Methoxyl- und Phytolwerten zu bemerken ist. Derselbe wird höchstwahrscheinlich auf die hydrolisierende Wirkung des Zinkhydrates zurückzuführen sein.

Optisch verhalten sich beide Produkte ganz analog. Gemessen wurden die Bänder des Präparates B. Die angewandte Lösung enthält im Liter 0,5 g.

Schichtendicke	1 mm	2 mm	5 mm	10 mm	15 mm	20 mm
Band I	670,0—641,8	673,5—635,8	} 679,8—592,8	} 690,0—587,5	} 700,5—643,0	} 702,8—504,3
" II	—	615,3—594,8				
" III	—	575,8—554,3	} 575,8—550,8	} 575,8—548,8		
" IV	—	kaum sichtbar	} 590,5—610,8	} 590,5—608,3		
Endabsorption		476,0	481,0	489,5	493,3	498,0

Außerdem wurden die Extinktionskoeffizienten für die obige Lösung in 1 mm Schicht bestimmt:

λ	α_1	α_2	E	Runde Zahlen für E
680	32,60	49,32	2,5988	2,60
670	19,63	63,23	7,4489	7,45
660	unbestimmbar wegen zu starker Absorption			
650	"	"	"	"
640	10,40	74,38	12,8977	12,90
630	23,40	62,98	6,5623	6,56
620	25,88	59,98	5,5234	5,52
610	27,20	58,93	5,0913	5,10
600	27,58	59,10	5,0498	5,05
590	31,20	53,93	3,5542	3,55
580	32,60	52,03	3,0180	3,02
570	33,08	52,08	2,9460	2,95
560	33,05	52,15	2,9619	2,96
550	32,23	47,48	2,3798	2,38
540	34,88	45,43	1,6323	1,63
530	34,73	46,05	1,7441	1,74
520	33,88	45,28	1,7722	1,77
510	34,25	45,60	1,7603	1,76
500	36,28	43,98	1,1881	1,19
490	34,93	44,45	1,4756	1,48
480	34,63	49,43	2,2819	2,29

Diese Werte wurden zur Konstruktion der Absorptionskurve Fig. 1 verwendet.

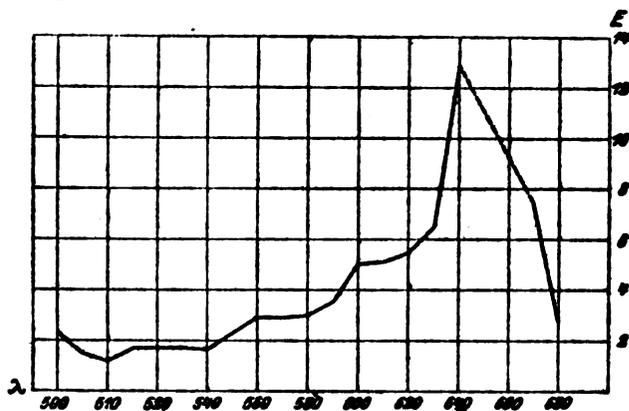


Fig. 1.

II. Über die Verschiedenheit von Chlorophyllanen.

(Mitbearbeitet von J. Marzalek.)

Es wurde bereits früher auf den Umstand hingewiesen, daß Chlorophyllane verschiedener Pflanzenarten verschieden sein können, sowie auch, daß Chlorophyllane einer und derselben Pflanzenart Variationen unterliegen können. Die letzterwähnte Tatsache fanden wir jetzt bei der Untersuchung der Chlorophyllane von *Acer platanoides*-Blättern besonders eklatant bestätigt. Als Rohmaterial dienten einerseits Blätter, die einem Baume entnommen wurden, der im Garten des hiesigen Instituts wächst und andererseits Blätter großer Waldbestände der Provinz Ukraina in Russisch-Polen, für deren Sammlung wir den Eigentümern, Frl. Terese und Helene v. Krassowska, zu größtem Danke verpflichtet sind.

Das Chlorophyllan unseres Baumes war demjenigen, das wir aus *Acer ps-platanus* extrahierten, ganz analog. Letztere Blätter entstammten großen Waldbeständen aus der Gegend von Przemysl in Galizien, für deren Sammlung wir Herrn Konst. v. Obmiński bestens danken. Der unten angeführte Vergleich bezieht sich auf Chlorophyllane des *Acer platanoides* der Ukraina und *Acer ps-platanus* aus Galizien, die, wie gesagt, mit dem Chlorophyllan des *Acer platanoides* unseres Gartens in optischer Beziehung identisch waren.

Um dem Vorwurf vorzubeugen, daß die Differenzen in den Chlorophyllanen durch Beimischungen des Säureumwandlungsproduktes des krystallisierbaren Chlorophylls bedingt sind, wurde zunächst ermittelt, ob die Art der Extrahierung des Pflanzenmaterials auf die Beschaffenheit der Chlorophyllane in diesen Fällen von Einfluß war. Zu diesem Ende wurde ein Teil des Pflanzenmaterials nach der früher beschriebenen Methode in der Kälte extrahiert und ein anderer Teil in einer Weise, die das Eingreifen der Chlorophyllase jedenfalls ausschließt. Die Methode bestand in folgendem: 1 kg des Blättermehles (*Acer platanoides* aus der Ukraina) wurde mit 2 l siedendem Alkohol übergossen, gut durchgerührt und nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen in eine Presse gegeben und unter 300 Atm. ausgepreßt. Erhalten wurden 1400 ccm Lösung mit dem Extinktionskoeffizienten für Na-Licht 20,5995. Die erhaltene Lösung wurde von neuem zum Sieden erwärmt und neuerdings auf 1 kg Blättermehl gegossen. Nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen wurde wieder gepreßt, wobei 880 ccm Lösung gewonnen wurden mit dem Extinktionskoeffizienten 38,7291. Die Lösung wurde dann in der Kälte auf die übliche Art auf Chlorophyllan verarbeitet, wobei 2,65 g resultierten. Dasselbe wurde zweimal nach der Methode von E. Schunck gereinigt und im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. 0,2453 dieses Produktes ergaben 0,0640 g AgJ, entsprechend 3,45% OCH_3 .

Dasselbe Material in der Kälte extrahiert gab eine Lösung, deren Extinktionskoeffizient nur 12,8914 betrug. Die Methoxylzahl war unwesentlich geringer, wie folgende Analysen zeigen:

0,3825 g gaben 0,0939 g AgJ, entsprechend 3,24%
 0,2459 „ „ 0,0602 „ „ „ 3,23%

Die Phytolzahl war hoch, es wurde nämlich gefunden: 1,3335 g gaben 0,4224 g, entsprechend 34,24%. Aus diesen Resultaten folgt, daß die benutzten *Acer platanoides*-Blätter (Ukraina), ob in der Kälte oder in der Hitze extrahiert, dasselbe Material liefern; der Rohextrakt liefert die Kraussche Reaktion in normaler Weise. Aus alledem folgt, daß die gewonnenen Chlorophyllane kein Umwandlungsprodukt des krystallisierbaren Chlorophylls enthalten.

Das gleiche Resultat wurde bei der Untersuchung der *Acer ps.-platanus*-Blätter erhalten, d. h. die Rohchlorophyllane

haben die gleiche Zusammensetzung, unabhängig davon, ob die Blätter mit heißem Alkohol kurze Zeit oder mit kaltem längere Zeit extrahiert wurden.

Die Menge des Farbstoffs, die durch Extraktion dieses Materials erhalten wurde, war im Falle der Anwendung von heißem Alkohol geringer als im vorhergehenden. Als 1 kg des Blättermehls mit 2 l Alkohol von Siedetemperatur versetzt wurde, und die Masse nach $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen ausgepreßt wurde, entstand eine Lösung, deren Extinktionskoeffizient für Na-Licht nur 28,3755 betrug. Die auf kaltem Wege erhaltene Lösung gab einen Extinktionskoeffizient von 12,8502, also nahezu denselben wie das *Acer platanoides*-Mehl. Der Methoxygehalt des Rohchlorophyllans erwies sich etwas geringer als im Falle des *Acer platanoides*-Rohchlorophyllans. 0,2020 g des aus kalt hergestellten Extrakten gewonnenen Produktes gab 0,0427 g AgJ, entsprechend 2,79% OCH_3 . Das Produkt, aus dem auf warmem Wege gewonnene Rohchlorophyllan ergab ein analoges Resultat: 0,1885 g Rohchlorophyllan ergaben 0,0413 g AgJ, entsprechend 2,90% OCH_3 .

Der besseren Übersicht wegen seien die gewonnenen Resultate nochmals tabellarisch zusammengestellt.

	kalt	heiß
Rohchlorophyllan aus <i>Acer</i>		
<i>platanoides</i> (Ukraina 1910) .	3,23% OCH_3	3,45% OCH_3
Rohchlorophyllan aus <i>Acer</i>		
<i>ps.-platanus</i> (Galizien 1910) .	2,79% „	2,90% „

Die elementare Zusammensetzung des Rohchlorophyllans aus *Acer platanoides*-Blättern, das aus auf warmem Wege hergestellten Extrakten gewonnen wurde, ergab:

1. 0,1049 g gaben 6,1 ccm N, $t = 23^\circ$, $b = 732,3$, entsprechend 6,27% N.

2. 0,1036 g gaben 6,2 ccm N, $t = 22,6^\circ$, $b = 731,3$, entsprechend 6,44% N.

3. 0,0999 g gaben 0,2728 g CO_2 und 0,0767 g H_2O , entsprechend 8,59% H und 74,47% C.

4. 0,1035 g gaben 0,2840 g CO_2 und 0,0788 g H_2O , entsprechend 8,52% H und 74,84% C.

Das Rohchlorophyllan, das aus *Acer ps.-platanus* (im Jahre 1910 gesammelt) dargestellt wurde (auf kaltem Wege), ergab:

1. 0,1177 g Substanz 0,3252 g CO₂, 0,0885 g H₂O, entsprechend 8,36% H und 75,36% C.

2. 0,1006 g Substanz 5,8 ccm N, $t = 22^\circ$, $b = 748$ mm, entsprechend 6,39% N.

Mit diesen Resultaten seien Werte verglichen, die bei der Verbrennung von Rohchlorophyllanpräparaten erhalten wurden, die Blättern des Acer ps.-platanus entstammen, und die im Jahre 1907 bzw. 1908 geerntet wurden:

	C	H	N	OCH ₃
Rohchlorophyllan aus Acer				
platanoides 1910 (heiß) .	74,65%	8,55%	6,35%	3,45%
Rohchlorophyllan aus Acer				
ps.-platanus 1907 (kalt) .	74,70%	8,77%	5,50%	—
Rohchlorophyllan aus Acer				
ps.-platanus 1908 (kalt) .	75,78%	9,34%	5,93%	2,73%
Rohchlorophyllan aus Acer				
ps.-platanus 1910 (kalt) .	75,36%	8,36%	6,39%	2,79%

Die Zusammensetzung aller 3 Präparate ist also ziemlich übereinstimmend, ein Umstand, der besonders aus dem Grunde auffallend ist, da die optischen Eigenschaften derselben sehr bedeutend abweichen. Da die spektralen Eigenschaften in diesem Falle für die Beurteilung der untersuchten Substanz von ausschlaggebender Bedeutung sind, so wollen wir der Beschreibung derselben etwas mehr als gewöhnlich Platz widmen und dabei noch das Rohchlorophyllan der Brennesselblätter mit heranziehen. Betrachtet man zunächst äußerlich die Chloroformlösungen aller Präparate nebeneinander, so ergibt sich ein auffallender Farbenunterschied. Die Lösung des Rohchlorophyllans der Brennessel ist im Vergleich mit der des Rohchlorophyllans der Acer platanoides-Blätter aus der Ukraina viel grüner; letztere Lösung hat einen äußerst ausgeprägten nelkenroten Stich und ist den Lösungen des reinen Allochlorophyllans sehr ähnlich. Eine Mittelstellung zwischen diesen 2 Lösungen nehmen die Chloroformlösungen der Rohchlorophyllane aus Acer ps.-platanus ein, gleichwohl von welcher Ernte, und, was besonders zu unterstreichen ist, die Lösung des Rohchlorophyllans unseres Laboratoriumsbaumes (Acer platanoides). Betrachtet man nun diese Lösungen im Spektroskop, so zeigt sich, daß die olivgrüne Lösung des Brennesselchlorophyllans dasjenige Spektrum zeigt,

das bis jetzt als normales Chlorophyllanspektrum galt. Auf den ersten Blick erscheinen 5 gut ausgeprägte Bänder, von denen das im Gelb gelegene das schwächste ist. Im Gegensatz hierzu erscheinen im Chlorophyllanspektrum der *Acer platanoides*-Blätter aus der Ukraina als allgemeiner Eindruck nur 4 Bänder. Das erste Band ist im Vergleich mit dem ersten Band des Brennesselchlorophyllans etwas mehr nach Violett hin verschoben, ebenso das zweite; das vierte ist breiter und etwas dunkler, während dem fünften Brennesselchlorophyllanband nur ein sehr mattes, kaum sichtbares, verschwommenes entspricht. Besonders markant ist auch der Unterschied der Lage der ersten Bänder beider Lösungen in sehr verdünntem Zustande; in solchen geringen Konzentrationen erscheint sogar der stärker gebrochene Rand des ersten Bandes des Brennesselchlorophyllans im Vergleich mit dem schwächer gebrochenen Rand des ersten Bandes des Ahornchlorophyllans mehr nach Ultrarot hin verschoben. Direkte Messungen ergaben folgende Werte:

Brennesselchlorophyllan . λ 673,6—664,0

Ahornchlorophyllan . . λ 662,5—651,5

Die Rohchlorophyllane aus *Acer ps.-platanus* sowie aus *Acer platanoides* des Laboratoriumgartens verhalten sich nun so, als wenn sie ein Gemisch der beiden oben besprochenen Rohchlorophyllane wären. Das fünfte Band erscheint weit stärker als im Falle des Ukrainischen und weit schwächer als im Brennesselchlorophyllan, das vierte ist dunkler und breiter als das letztere, die beiden ersten sind etwas mehr nach Ultraviolett hin verschoben im Vergleich mit dem Ukrainischen. Bei der Untersuchung sehr verdünnter Lösungen erscheint das erste Band von der schwächer gebrochenen Seite von einem Schatten begleitet.

Diese merkwürdigen, auf Grund der früheren Arbeiten von Stokes, Sorby, Tswett, Marchlewski und Malarski aber leicht verständlichen Verhältnisse werden noch weiter durch die numerische Verfolgung der Lage der Bänder beleuchtet.

Die folgenden Tabellen geben die Lage der Bänder der Rohchlorophyllane aus *Acer ps.-platanus*- und *Acer platanoides*-Blättern an.

Das Spektrum des Rohchlorophyllans aus *Acer platanoides* unseres Laboratoriumbaumes ist, wie nochmals hervorgehoben werden mag, mit dem des *Acer ps.-platanus* identisch.

Rohchlorophyllan der Blätter von Acer ps.-platanus (Galizien 1910).

0,2 g im Liter.

Schichten- dicke	1 mm	3 mm	5 mm	7 mm	10 mm	15 mm	20 mm
Band Ia	677,0—668,0	677,5—652,8	680,0—649,0	681,8—647,0	684,8—644,5	685,8—640,5	686,8—639,5
" Ib	664,0—655,8						
" II	unsichtbar	608—598,5	610,3—596,5	610,9—595,0	612,0—594,5	615,0—593,0	617,5—594,3
" III	"	567,5—558,5	567,8—557,5	569,5—557,0	567,8—556,5	570,3—556,5	570,5—553,5
" IV	"	541,0—535,0	541,5—534,5	542,0—533,5	542,2—532,3		
" V	"	kaum sichtbar	kaum sichtbar	526,3—520,5	Schatten bis 520,3		
" VI	—	—	510,3—495,5	513,0—494,0	513,3—493,5		546,5—491,8

Rohchlorophyllan der Blätter von Acer platanoides (Ukraina 1910).

0,2 g im Liter.

Schichten- dicke	1 mm	3 mm	5 mm	7 mm	10 mm	15 mm	20 mm
Band I	Schatten von 674,0	Schatten 676,3	677,3—649,3	680,0—646,5	682,6—643,3	683,3—640,3	687,3—637,5
" II	665,5—654,0	668,0—652,5	609,5—597,0	610,8—594,3	611,0—593,1	613,5—592,5	616,5—590,0
" III	kaum sichtbar	606,0—597,3	566,8—559,3	568,4—557,5	569,8—557,3	570,8—555,3	
" IV	"	kaum sichtbar	540,5—535,8	541,0—534,8	541,9—532,5		
" V	"	kaum sichtbar	kaum sichtbar	528,9—521,4	Schatten bis 519,0		
" VI	"	"	"	507,5—494,5	512,5—492,3	543,6—492,3	End- absorption von 573,3 an

(Vgl. hierzu Figuren.)

Die verschiedenen Absorptionsverhältnisse der beiden verglichenen Rohchlorophyllane treten auch deutlich hervor, wenn man beide Lösungen spektralphotometrisch vergleicht. Dies trifft besonders für die stärker gebrochene Spektrumregion zu. Die untersuchten Lösungen enthalten 0,2 g im Liter Chloroform und wurden in 1 mm Schicht untersucht.

Rohchlorophyllan aus *Acer platanoides* (Ukraina).

λ	α_1	α_2	E
680	39,45	33,50	0,9455
670	46,30	28,25	2,8948
660	55,25	21,05	5,7350
650	56,20	21,20	5,8560
640	44,96	31,10	2,1830
630	41,50	33,80	1,2110
620	41,32	33,57	1,2212
610	41,47	31,65	1,5648
600	43,76	31,17	1,9951
590	41,72	33,57	1,2823
580	41,02	33,62	1,1671
570	43,32	32,95	1,6283
560	43,88	32,37	1,8101
550	43,85	31,35	1,9780
540	45,93	30,10	2,5091
530	45,83	29,70	2,5641
520	45,03	31,10	2,1996
510	43,62	32,35	1,7739
500	43,87	32,87	1,7251
490	43,31	33,62	1,5161
480	43,62	30,32	2,1205
470	43,41	35,75	1,1861

Rohchlorophyllan aus *Acer ps.-platanus* (Galizien).

λ	α_1	α_2	E
680	41,53	30,67	1,7418
670	54,38	21,10	5,5837
660	58,95	18,00	7,0859
650	54,47	22,22	5,3606
640	43,97	30,82	2,0870
630	41,06	34,35	1,0538
620	41,38	33,22	1,2882
610	43,47	31,70	1,8607
600	42,85	30,15	2,0332
590	40,60	32,95	1,2134
580	38,75	30,27	1,3834

(Fortsetzung vorhergehender Tabelle.)

λ	α_1	α_2	E
570	40,78	33,72	1,1139
560	43,10	32,37	1,6917
550	42,55	31,35	1,7805
540	44,17	30,42	2,1866
530	44,15	29,12	2,4122
520	44,91	31,32	2,1439
510	45,33	31,00	2,2623
500	45,35	32,85	1,9528
490	44,91	34,62	1,5956
480	45,01	34,90	1,5654
470	43,86	33,87	1,5585

Die Werte beider vorhergehender Tabellen wurden zur Konstruktion der Kurven Fig. 2 verwendet. Wie ersichtlich, ist bei 510 und 500 die Absorption des Rohchlorophyllans des *Acer platanoides* geringer als die des *Acer ps-platanus*.

Resumiert man die vorhergehenden Ausführungen, so kommt man zu folgendem Schluß. Die Chlorophyllane verschiedener Pflanzen können untereinander sehr variieren; der Grund hierfür ist der Umstand, daß der grüne Farbstoff der Blätter ein Gemisch zweier grüner Farbstoffe ist, die beide Säuren gegenüber empfindlich sind. Jeder derselben gibt unter dem Einfluß einer Säure ein Chlorophyllan, das Gemisch beider möge fortan Rohchlorophyllan genannt werden. Die beiden Komponenten des Rohchlorophyllans, nämlich das Chlorophyllan und das Allochlorophyllan, treten nicht in konstanten, sondern in wechselnden Mengen auf. Sie können sogar bei einer und derselben

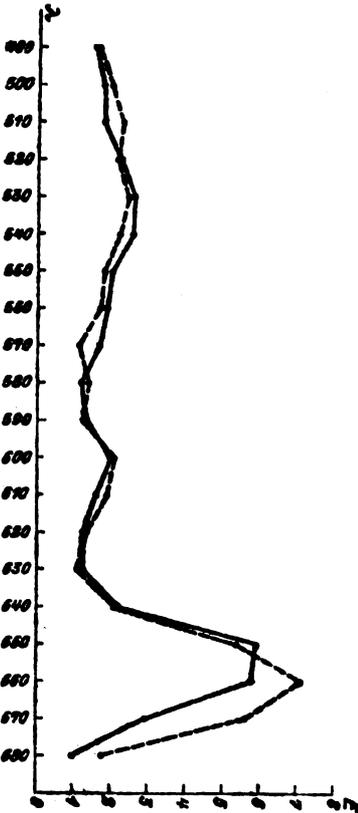


Fig. 2.

Pflanzenart (*Acer platanoides*) in wechselnden Mengen auftreten. In dem Streit, ob Allochlorophyll nur in sehr geringen Mengen das eigentliche Chlorophyll begleitet oder in beträchtlicheren, hatten beide streitende Lager recht bzw. unrecht. Es gibt Pflanzen, wie die Brennessel (*Urtica dioica*), die in der Regel nur wenig Allochlorophyll enthalten, andererseits gibt es Pflanzen, die, wie *Acer platanoides*, verhältnismäßig viel davon führen können. Trotzdem ist in dem, wenigstens mir zu Gebote stehenden, Pflanzenmaterial in den Rohextrakten spektroskopisch direkt das Allochlorophyll nicht nachzuweisen. Die Chlorophyllrohextrakte derjenigen *Acer platanoides*-Blätter, die uns überraschend viel Allochlorophyll lieferten, zeigten ein Spektrum, das von dem Spektrum der Brennesselextrakte nicht zu unterscheiden war. Wenn trotzdem die Rohchlorophyllane die oben beschriebenen frappanten Unterschiede zeigen, so kann dies vielleicht durch die Annahme erklärt werden, daß aus Chlorophyllrohlösungen das Allochlorophyllan quantitativ ausgefällt wird als Chlorophyllan. Diese Frage erfordert jedenfalls noch weitere Studien.

III. Über Allochlorophyllan.

Dank dem Umstande, daß wir gegenwärtig ein Rohmaterial zur Verfügung hatten, das verhältnismäßig viel Allochlorophyllan enthielt, konnten die bisher von Malarski und Marchlewski ausgeführten Studien über Allochlorophyllan vervollständigt werden. Die Methode der Isolierung und Reinigung des Körpers war in den Hauptzügen dieselbe. 5 g Rohchlorophyllan wurden in 2 l 96%igem Alkohol verteilt, zum Sieden erhitzt und ca. 100 ccm einer dicken Zinkhydroxydsuspension zugegeben. Die Lösung wurde dann abwechselnd auf dem Wasserbade und bei Zimmertemperatur mit CO_2 behandelt, und zwar während 10 Stunden. Die Lösung wurde zuletzt zum Sieden erwärmt, filtriert und über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Morgen wurde der aus der Lösung abgeschiedene Körper auf einem Filter gesammelt und mit Alkohol gut ausgewaschen, sodann in $1\frac{1}{2}$ l Alkohol verteilt und von neuem mit 50 ccm Zinkhydratsuspension und Kohlensäure während 8 Stunden behandelt. Das am nächsten Tage gesammelte und gewaschene Präparat erwies sich bei der spektroskopischen Untersuchung als rein.

Im ganzen wurden auf diese Art 20 g Rohchlorophyllan der *Acer platanoides*-Blätter aus der Ukraina verarbeitet. Die vereinigten Allochlorophyllanpräparate wurden dann zweimal nach der Methode gereinigt, die Schunck zur Reinigung des Phylloxanthins empfohlen hatte, d. h. sie wurden in Chloroform gelöst, filtriert und die Chloroformlösung nach starker Konzentration mit Alkohol gefällt. Erhalten wurden so 5,764 g des vakuumtrockenen Präparates, zu dessen Bereitung 26,5 kg Blättermehl verwendet wurden.

In derselben Art wurden auch 10 g (insgesamt) Rohchlorophyllan aus *Acer ps.-platanus*-Blättern (Galizien) verarbeitet, nur mußte die Behandlung mit Zinkhydrat und Kohlensäure in diesem Falle 3 und sogar 4 Arbeitstage lang dauern. Erhalten wurde 1,2 g des aus Chloroform gefällten Produktes, wozu 10 kg Blättermehl verwendet wurden.

Optisch verhielten sich beide Präparate völlig analog, und zwar übereinstimmend mit den Beschreibungen, die Malarski und Marchlewski gaben¹⁾, nicht übereinstimmend mit den Angaben Tswetts²⁾.

Bei der analytischen Untersuchung ergab sich vor allem, daß Allochlorophyllan, längere Zeit einer Temperatur von 105° ausgesetzt, seine Zusammensetzung ändert, obwohl es in dieser Art konstantes Gewicht erreicht. Der Versuch wurde mit Allochlorophyllan der *Acer platanoides*-Blätter ausgeführt; er bezog sich auf Methoxylbestimmungen:

1. 0,2435 g gaben 0,0177 g AgJ, entsprechend 0,96% OCH₃,
2. 0,3325 g „ 0,0241 g AgJ, „ 0,96% OCH₃.

Das im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Präparat ergab:

0,3315 g Subst. gaben 0,0801 g, entsprechend 3,148% OCH₃.

Da nun das Rohchlorophyllan 3,45% OCH₃ enthielt, so folgt daraus, daß in diesem Falle die schädigende methoxyl-
abspaltende Wirkung des Zn(OH)₂ auf Allochlorophyllan, wenn überhaupt, so nur in sehr geringem Grade zum Ausdruck gelangte. Elementaranalysen des Produktes ergaben folgendes:

1. 0,0957 g gaben 5,41 ccm N, t = 18°, b = 739,8, entsprechend 6,32% N.

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

2. 0,0986 g gaben 5,50 ccm N, $t = 17^\circ$, $b = 739,1$, entsprechend 6,26% N.

3. 0,0972 g gaben 0,2624 g CO_2 und 0,0718 g H_2O , entsprechend 8,27% H und 73,63% C.

Ganz analoge Werte ergab auch das Allochlorophyllan aus *Acer ps.-platanus*-Blättern:

1. 0,0960 g gaben 5,60 ccm N, $t = 18^\circ$, $b = 735,1$, entsprechend 6,42% N.

2. 0,0921 g gaben 0,2498 g CO_2 und 0,0687 g H_2O , entsprechend 8,35% H und 73,97% C.

Der Methoxylwert ist in diesem Falle etwas geringer:

0,1988 g gaben 0,0444 g AgJ, entsprechend 2,95% OCH_3 , aber doch bedeutend größer als das im vorigen Jahre analysierte Produkt, bei dessen Darstellung die Einwirkung des $\text{Zn}(\text{OH})_2$ augenscheinlich zu energisch war.

Die folgende Zusammenstellung ist übersichtlicher:

	H	C	N	OCH_3
Allochlorophyllan aus				
<i>Acer platanoides</i> 1910	8,27%	73,63%	6,28%	3,15%
Allochlorophyllan aus				
<i>Acer ps.-platanus</i> 1908	8,52%	74,04%	6,01% ¹⁾	2,03%
Allochlorophyllan aus				
<i>Acer ps.-platanus</i> 1910	8,35%	73,97%	6,42%	2,95%

Sie zeigt, daß, obwohl das Allochlorophyllan bis jetzt nur in nichtkrystallisiertem Zustande analysiert war, verschiedene Präparate doch eine sehr nahe Zusammensetzung aufweisen.

Die interessante Frage, ob Allochlorophyllan Phytol enthält, ließ sich nunmehr auch entscheiden, und zwar im positiven Sinne.

1. 1,0328 g Allochlorophyllan aus *Acer platanoides*-Blättern, getrocknet bei 105° , gaben 0,3393 g Phytol, entsprechend 32,85%.

2. 1,0236 g Allochlorophyllan aus *Acer platanoides*-Blättern vakuumtrocken gaben 0,3148 g Phytol, entsprechend 30,75%.

Das Rohchlorophyllan dieser Blätter enthielt 34,24%, wie aus folgenden Werten folgt:

1,2335 g gaben 0,4224 g.

Es folgt also, entweder daß Allochlorophyllan etwas weniger Phytol enthält als das Chlorophyllan, oder daß ein klein wenig

¹⁾ Auch 5,74%.

davon durch die $Zn(OH)_2$ -Wirkung gespalten wird. Das gewonnene Phytol zeigte die normale Zusammensetzung:

0,1111 g gaben 0,3297 g CO_2 und 0,1316 g H_2O , entsprechend 13,25% H und 80,94% C.

Allochlorophyllan löst sich leicht in Chloroform mit nelkenroter Farbe auf, ebenso, aber schwieriger, in Äther. In Alkohol ist es schwer löslich. Besonders interessant ist sein Verhalten zu Alkalien. Wie Chlorophyllan, so wird auch Allochlorophyllan durch Alkalien verseift, und es entstehen dabei rote Produkte, die Allochlorophyllansäuren genannt sein mögen. Je nach den Verseifungsbedingungen bilden sich verschiedene Produkte, aber niemals werden grüne oder olivgrüne Produkte erhalten. Entstehen dieselben, so ist dies ein Beweis, daß das Allochlorophyllanpräparat noch unrein war, d. h. Chlorophyllan enthält. Wir geben zunächst eine Übersicht über die Resultate, die bei der Verseifung des Allochlorophyllans in der Wärme erhalten wurden. 1 g Allochlorophyllan wurde mit 12 ccm 10%igem methylalkoholischem NaOH während 1 Stunde unter häufigem Umrühren auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Entfernen des Phytols auf übliche Art werden die in Äther unlöslichen Natriumsalze der Allochlorophyllansäure im Wasser gelöst und nach dem Ansäuern mit Essigsäure in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde sodann mit Salzsäure verschiedener Konzentration extrahiert. Die schwächsten Lösungen, nämlich 1- und 3%ige, wurden gar nicht angefärbt. 5%ige Salzsäure wurde ziemlich stark gefärbt; es wurden im ganzen 1,9 l dieser Säure verwendet und dabei eine grünblaue Lösung erhalten. Von der 7%igen Säure wurden 2 l verbraucht, von der 9%igen 1 l, von der 11%igen endlich ebenfalls 1 l. Die ätherische rückständige Lösung besaß eine kirschrote Farbe. Aus den sauren Lösungen wurden die verschiedenen Allochlorophyllansäuren nach dem Verdünnen mit Wasser durch Äther extrahiert. Am interessantesten ist der Farbstoff, der der 7%igen Säure entzogen wird. Ein großer Teil desselben geht auch ohne Verdünnung der Lösung in Äther über. Aus der ätherischen Lösung scheidet er sich in schwarzen langen Säulen ab, deren Photographie wir reproduzieren (vgl. Taf. 2, Fig. 2). Diese Allochlorophyllansäure ist nach dem Abscheiden in kristallisiertem Zustande in Äther unlöslich, ebenso in Chloroform; Alkohol wird bei Siede-

hitze etwas angefärbt, und zwar rot. Die Lösung zeigt grünen Dichroismus. Konzentrierte Salzsäure nimmt die Krystalle mit grüner Farbe auf. Verdünnte Natronlauge löst mit olivgrüner Farbe auf, ebenso verdünntes Ammoniak. Letztere Lösung erscheint in künstlichem Licht rot.

Die ammoniakalische Lösung zeigt im Spektrum 4 Absorptionsbänder im schwächer gebrochenen Spektrumteil; die Lage derselben entspricht den folgenden Wellenlängen:

Band I:	λ 668,0—640,0
„ II:	λ 609,8—589,3
„ III:	λ 571,8—553,8
„ IV:	λ 538,5—520,3

Bei weiterem Verdünnen erscheinen die Bänder sehr verwaschen. Wird die Lösung mit Essigsäure versetzt, so fallen schwarze Flocken, die beim Schütteln mit Ather teilweise mit roter Farbe gelöst werden. Auch diese Lösung zeigt 4 Bänder von folgender Lage:

Band I:	λ 663,5—642,5
„ II:	λ 605,8—591,3
„ III:	λ 569,5—552,0
„ IV:	λ 536,8—512,3

Dieses Spektrum entspricht genau dem Spektrum der ursprünglichen Lösung, die durch Ausschütteln mit Ather der 7%igen HCl ohne Verdünnen mit Wasser gewonnen wurde:

Schichtdicke	2 mm	5 mm	10 mm	15 mm
Band I	660,8—649,0	662,5—644,5	666,8—639,5	668,0—638,0
„ II	unsichtbar	603,0—592,3	606,0—591,5	606,0—590,0
„ III	„	570,0—552,3	570,8—550,0	571,3—547,5
„ IV	„	535,3—511,8	536,8—508,3	538,5—501,5

Das nämliche Spektrum zeigt übrigens auch der Farbstoff der 9%igen HCl-Fraktion¹⁾.

In alkoholischer Lösung, mit Zinkacetat erwärmt, bildet Allochlorophyllan eine Zinkverbindung von grüner Farbe und prächtiger roter Fluorescenz. Das Absorptionsspektrum desselben ist durch 4 Bänder gekennzeichnet. Die Lage derselben

¹⁾ Das Verhältnis der Allochlorophyllansäuren zu Phylloxantrubin soll später besprochen werden.

wird später angegeben werden. Dieses Allo-Zink-Chlorophyll gibt, mit Alkalien behandelt, eine Zinkverbindung, die bei weiterer Behandlung kein Phyllotaonin liefert. Ebenso mißlang bis jetzt der Versuch, aus Allochlorophyllan das Phylloporphyrin von Schunck und Marchlewski zu gewinnen. Eine Probe mit 10%igem methylalkoholischem KOH, auf 200° erwärmt, ergab ein Gemisch von Farbstoffen, unter denen kein Phylloporphyrin aufzufinden war. Der Versuch wird demnächst wiederholt unter Variierung der Versuchsbedingungen.

Endlich mögen noch Messungen der Absorptionsbänder einer Chloroformlösung des Allochlorophyllans gegeben werden. Die Lösung enthielt im Liter 0,2 g.

Schichten- dicke	1 mm	3 mm	5 mm	7 mm	10 mm	15 mm	20 mm
Sand I	662,0—651,8	663,5—649,5	668,0—645,5	672,5—644,5	676,0—640,3	681,1—638,3	681,8—635,8
„ II	—	606,3—593,8	606,6—592,8	607,5—592,0	610,3—591,5	611,3—590,8	614,3—589,6
„ III	—	567,3—557,6	570,5—557,5	571,1—555,5	571,5—554,0	571,8—551,8	} End- absorption 572,3
„ IV	—	540,5—532,5	540,8—531,6	} 541,1—517,4	} 542,1—516,5	} 542,8—514,4	
„ V	—	528,8—520,0	529,0—519,0				
„ VI	—	500,3—483,6	501,3—483,4	{ schwer zu messen	—	—	

Das Studium des Allochlorophyllans wird fortgesetzt.

Krakau, den 12./7. 1911.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I, Fig. 1, zeigt das Spektrum des Rohchlorophyllans aus *Acer platanoides*-Blättern, Fig. 2 das Spektrum des Rohchlorophyllans aus *Acer pa. platanus*-Blättern. Man vergleiche besonders die Spektren der vierten Schichtendicken. Dieselben wurden nebeneinander besonders photographiert (Taf. II, Fig. 1); zur Orientierung wurden auch die Heliumlinien aufgenommen.

Der Purinstoffwechsel bei einigen Leberkrankheiten.

Von

S. La Franca.

(Aus dem Institut für demonstrative Pathologie der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 20. Juli 1911.)

Mit 5 Figuren im Text.

Das Studium des Verhaltens des Purinstoffwechsels bei Leber- und Nierenkrankheiten erscheint wichtig, nicht nur was die Kenntnis des Anteils betrifft, den diese Organe im menschlichen Organismus an der Spaltung der Molekulargruppenkomplexe der in den Organismus eingeführten Nucleine nehmen, sondern auch zur Entscheidung der Frage, ob und auf welche Weise diese Funktion des Organs bei den verschiedenen Affektionen eine Änderung erleidet.

Bekanntlich haben die Untersuchungen von Wiener¹⁾, Burian²⁾ und Schittenhelm³⁾ konstatiert, daß beim Hunde, Schwein und Rind diese Spaltung in der Niere und in der Leber erfolgt, während die Untersuchungen von Soaffidi⁴⁾ bei den Selachiern ergaben, daß die Spaltung auch in den Muskeln, im Magen, Darmrohr usw. eintritt. Vor kurzem haben dann M. Ascoli, Bezzola, Izar und Preti⁵⁾ nachgewiesen, daß die hinzugesetzte und zerstörte Harnsäure der Hundeleber wieder erscheint, wenn die Anwesenheit von Sauerstoff unterdrückt oder wenn das Organ mit CO₂ geladen wird, was von Preti⁶⁾ jedoch für die Wirkung eines im Blute enthaltenen Fermentes gehalten wurde.

Edwin Sweet und Levene⁷⁾ haben beim Hunde mit Eckescher Fistel eine beträchtliche Ausscheidung des exogenen Purinstickstoffs nach

1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42.

2) Zeitschr. f. physiolog. Chem. 43, 1905.

3) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 4.

4) Diese Zeitschr. 18 u. 24.

5) Biochimica e Terapia sperimentale 1909.

6) Ibid.

7) Studies from the Rockefeller Institute 7, 1907.

Einführung von Nucleoproteid, Nucleinsäure und Adenin erhalten; vorher hatten schon Hahn und Nencki¹⁾ beobachtet, daß im Harn von Hunden, bei denen nach Pawlow und Maassim eine Eckische Fistel angelegt war, die Menge der Harnsäure beträchtlich, ja bis zum Neunfachen der unter normalen Verhältnissen ausgeschiedenen Menge zunahm.

Beim Menschen ist in dieser Hinsicht nichts Bestimmtes bekannt. Im allgemeinen hat man seit den Untersuchungen von Fawitzkis²⁾ geglaubt, daß im ganzen die in Prozenten ausgedrückten Stickstoffaustausche bei Cirrhosen sich sehr den Zahlen nähern, die man bei Experimenten am gesunden Menschen erhält, der einer gemischten Ernährung unterliegt. Es wurde Verminderung des Harnstoffes und relative Zunahme der Harnsäure, Anwesenheit von Ammoniak und Amidosäuren konstatiert, und bezüglich des Mangels an Gesamtstickstoff, den einige Autoren behaupteten, wurde eingewendet, daß er nicht mehr relativ, sondern absolut in Beziehung zur spärlichen Ernährung und zur mangelhaften Absorption infolge der bei Cirrhose so häufigen veränderten Bedingungen des Magendarmrohrs zu bringen sei.

Die vorliegenden Untersuchungen verfolgen ausschließlich den Zweck, den Purinstoffwechsel bei Kranken, die an Lebercirrhose leiden und zwar sowohl an der nach Laennec als an der nach Hanot benannten Form, zu studieren.

Diese Untersuchungen behandeln ausschließlich den Purinstoffwechsel; die dabei befolgte Reihenfolge war die nachstehende:

1. Untersuchung des Harns des zum Experiment dienenden Kranken während der normalen Ernährung;
2. Untersuchung während der purinstofffreien Ernährung;
3. Untersuchung während der purinstoffhaltigen Ernährung.

In einigen Fällen wurden auch die Faeces untersucht; die Resultate wurden jedoch nicht berücksichtigt, weil infolge der häufigen Störungen im Darmrohr, die die Kranken zeigten, die für die in 24 Stunden ausgeschiedenen Stoffe erhaltenen Werte nicht immer genau zu nennen waren.

Die dargereichten Speisen wurden analysiert und ihr Quantum wurde so berechnet, daß die Bilanz aufgestellt werden konnte.

Hinsichtlich der Bestimmungen habe ich die folgenden Methoden befolgt: der Gesamtstickstoff wurde nach der

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. 32.

²⁾ Deutsches Arch. f. klin. Med. 50.

Kjeldahlschen Methode bestimmt, die Harnsäure und der Stickstoff der Purinbasen nach der Ludwig-Salkowskischen Silber-Ammoniakmethode, der Phosphor nach der titrimetrischen Uraniumnitratmethode, das Ammoniak nach der Schlösingschen Methode, die Acidität des betreffenden Harns mit titrierter Sodalösung.

Die purinstofffreie Ernährung bestand in Brot, Reis, Butter, Milch und Kartoffelpüree. Bei der purinstoffhaltigen Ernährung wurde Kalbfleisch verabreicht, sowie eine bestimmte Menge Coffein.

Der Gehalt an Gesamtstickstoff, Purin und an P_2O_5 der dargereichten Speisen ist in der folgenden Tabelle angegeben; ich beziehe mich dabei zum Teil auf die von Burian¹⁾, Walter Hall²⁾ und Scaffidi³⁾ erhaltenen Zahlen, zum Teil auf diejenigen, die ich selbst erhalten habe.

	Prozentgehalt			
	N g	Purin- stickstoff g	P_2O_5 g	
Brot	1,76	—	0,26	1) pro Liter 0,0020 g
Milch	0,488	1)	0,14	
Brei	2,3	—	0,39	
Reis	1,85	—	0,258	
Butter	0,12	—	0,08	
Kartoffeln	0,417	—	0,65	
Kalbfleisch	4,108	0,07	0,6	
Coffein	—	28,88	—	
Frischer Käse	2,95	0,005	0,62	

I.

H. S. Laennecsche atrophische Cirrhose; reichlicher Ascites. Purinstofffreie Ernährung 2 Tage lang: Brot 200 g, Milch 800 g, Brei 150 g, Butter 150 g, Reis 200 g, frischer Käse 100 g. Ingesamt: N 16,54; purinstoffhaltiger N 0,022; P_2O_5 2,53. Am 3. und 4. Tage purinstoffhaltige Ernährung: Milch 800 g, Butter 50 g, zerriebenes Kalbfleisch 200 g, Brot 100 g, Reis 100 g, Brei 150 g, Coffein, zweimal per os dargereicht, 0,20 g. Ingesamt: N 18,73; P_2O_5 2,44. Purinstickstoff 0,736.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 38.

²⁾ The purin bodies of food stuffs, London 1903.

³⁾ Internat. Beiträge z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen 2, Heft 2.

In der folgenden Tabelle (I) führe ich die erhaltenen Resultate an:

Tabelle I.

Bestimmungen	Harnmenge von 24 Stunden ccm	Resultate der Bestimmungen						Purin-Bilanz			
		Harnsäure g	Harnsäure- stickstoff mg	Purinbasen-N mg	Gesamt-Pu- rinstickstoff mg	Gesamtstick- stoff mg	P ₂ O ₅ g	Acidität in % ₁₀ -NaOH ccm	Eingeführter Purin N mg	Ausgeschiede- ner Purin-N mg	Differenz mg
1	840	0,6228	207,6	34,58	242,18	13,80	1,90	390,3	2,00	242,18	+ 240,18
2	730	0,5991	199,7	33,26	232,96	13,45	2,05	412,0	2,00	232,96	+ 230,96
3	800	0,7964	265,5	44,21	309,71	15,82	1,88	436,3	736	306,71	- 426,29
4	812	0,8248	274,9	45,80	320,70	15,95	1,96	424,8	736	320,70	- 415,30

Aus den oben angeführten, bei den verschiedenen Bestimmungen erhaltenen Werten ergibt sich, daß die während der purinstofffreien Ernährung in 24 Stunden ausgeschiedene Menge Harnsäure von 0,5991 bis 0,6228 variiert, dagegen während der Darreichung von Purinstickstoff enthaltenden Stoffen ein Maximum von 0,8248 und ein Minimum von 0,7964 erreicht. Gleichzeitig steigt der Harnsäurestickstoff im gleichen Verhältnis. So verhält sich auch der Stickstoff der Purinbasen, der von 33,26 und 34,58 am 3. und 4. Tage auf 44,21 und 45,80 steigt.

Prüft man jedoch die betreffende graphische Linie (I), so bemerkt man, daß kein vollkommener Parallelismus zwischen der Zunahme des Purinstickstoffs und dem der Purinbasen besteht; der Purinstickstoff erfährt nämlich geringe Schwankungen im Vergleich zu denen des Harnstickstoffs, durch die also die beträchtlichen Schwankungen des gesamten Purinstickstoffs bedingt sind; in der Tat zeigen sich die beiden Linien in der graphischen Darstellung im großen und ganzen analog.

Der Unterschied zwischen dem eingeführten Purinstickstoff und dem ausgeschiedenen ist insofern beträchtlich, als, während bei der purinstofffreien Ernährung eine Ausscheidung von 242,18 bis 233,96 mg gegen nur 2 mg stattfindet, bei der Ernährung mit Purin enthaltenden Stoffen eine Ausscheidung von 309,71 bis 320,70 mg gegenüber einer Einführung von 736 mg stattfindet, was also einem Unterschied von 426,29 bis 415,36 mg entspricht.

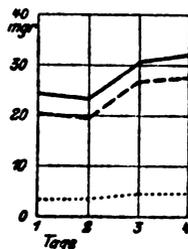


Fig. 1.

..... Stickstoff der Purinbasen.
 - - - - - Harnsäurestickstoff.
 ————— Gesamt-Purinstickstoff.

II.

A. P. Atrophische Cirrhose von Laennec. Sehr reichlicher Ascites. Beträchtliche trophische Störungen längs des Umfangs des Abdomen, am Rücken und an den Hinterbacken. Bedenkliche Verhältnisse.

Nach 14 tägiger Dauer des Experiments will der Kranke die Klinik verlassen. Nachdem er einige Tage wieder in seinem Hause verweilt hat, stirbt er.

Zwei Tage lang hatte purinstofffreie Ernährung stattgefunden: Brot 150 g, Milch 2000 cem, Butter 100 g, Reis 200 g = Total: Gesamt-N 15,22. Purinstickstoff 0,004. Am 3. und 4. Tage wurde er mit Purin enthaltenden Stoffen ernährt: Milch 1600 cem, gehacktes Kalbfleisch 200 g, Brot 150 g, Kartoffelpüree 150 g. Coffein, zweimal dargereicht, je 0,10 = 0,20 g. Total: Gesamt-N 20,99 = P_2O_5 3,97. Purinstickstoff 0,719.

In der folgenden Tabelle stelle ich die erhaltenen Resultate zusammen.

Tabelle II.

Bestimmungen	Harnmenge von 24 Stunden cem	Resultate der Bestimmungen						Purin-Bilanz			
		Harnsäure g	Harnsäure- stickstoff mg	Purinbasen-N mg	Gesamt-Pu- rinstickstoff mg	Gesamtstick- stoff mg	P_2O_5 g	Acidität in $\frac{1}{10}$ -NaOH mg	Eingeführter Purin-N mg	Ausgeschiede- ner Purin-N mg	Differenz mg
1	925	0,9735	324,5	54,58	397,08	12,3	2,31	460,1	2,00	397,08	+ 395,08
2	840	1,278	386,8	49,05	435,85	13,0	2,05	452,8	2,00	435,85	+ 433,85
3	1010	2,054	636,2	186,2	822,43	15,1	2,43	474,2	719	822,43	+ 103,43
4	900	1,812	548,3	252,0	800,31	14,8	2,15	485,0	719	800,31	+ 81,31

Aus den in der Tabelle II angeführten Werten ergibt sich, daß die Menge der innerhalb 24 Stunden während der purinstofffreien Ernährung ausgeschiedenen Harnsäure von 0,7935 bis 1,278 variiert, während sie bei der Darreichung von Purinstickstoff enthaltenden Stoffen ein Maximum von 2,054 und ein Minimum von 1,812 erreicht. Gleichzeitig steigt der Harnsäurestickstoff auf 636,2 bzw. 548,3 mg.

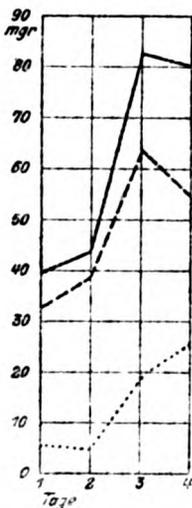


Fig. 2.

Der Purinbasenstickstoff, der am 1. und 2. Tage 54,58 und 49,05 mg, beträgt, steigt am 3. und 4. Tage auf 186,2 bzw. 252 mg.

Betrachtet man die betreffende graphische Darstellung, so bemerkt man jedoch hier nicht jene gewisse Regelmäßigkeit, die im vorhergehenden Falle in der Beziehung zwischen der Zunahme des Harnsäurestickstoffs und der der Purinbasen zu beobachten war.

Die den Harnsäurestickstoff bezeichnende Kurve steigt am 2. Tage, rasch am 3. und fällt am 4. Tage; die den Purinstickstoff bezeichnende dagegen fällt leicht am 2. Tage und steigt am 3. und 4. Tage.

Der Unterschied zwischen dem eingeführten Purinstickstoff und dem ausgeschiedenen Stickstoff

ist nicht beträchtlich, weil, während bei purinstofffreier Ernährung eine Ausscheidung von 397,08 bis 435,8 mg gegenüber 2 eingeführten Milligramm stattfindet, bei Ernährung mit Purin eine Ausscheidung von 822,43 bis 800,31 mg gegenüber 719 eingeführten Milligramm erfolgt, d. h. mit einem Unterschied von 103,43 bis 81,31 mg.

III.

A. F. Atrophische Cirrhose von Laenneo. Beträchtlich reduzierte Leber. Mässige Flüssigkeitsmenge im peritonealen Umkreis. Heruntergekommene Ernährung. Leicht erfolgende Gärungen im Darmrohr.

Zwei Tage lang purinstofffreie Ernährung: Milch 1500 ccm, Kartoffelpüree 250 g, Butter 100 g, frischer Käse 150 g, Brot 150 g. Gesamtstickstoff 15,53; Purinstickstoff 0,01; $P_2O_5 = 5,12$. Am 3. und 4. Tage wird der Patient der folgenden Diät unterzogen: Milch 1500 ccm, Kartoffelpüree 100 g, zerriebenes Kalbfleisch 200 g, Butter 50 g, Brot 150 g; Coffein per os, zweimal dargereicht, je 0,10 = 0,20 g. Total: N 18,63; Purinstickstoff 0,720; P_2O_5 4,38.

Tabelle III.

Bestimmungen	Harnmenge von 24 Stunden ccm	Resultate der Bestimmungen						Purin-Bilanz			
		Harnsäure g	Harnsäure- stickstoff mg	Purinbasen-N mg	Gesamt-Pu- rinstickstoff mg	Gesamtstick- stoff g	P_2O_5 g	Acidität in $\frac{1}{10}$ -NaOH ccm	Eingeführter Purin-N mg	Ausgeschiede- ner Purin-N mg	Differenz mg
1	1012	0,6000	200,0	33,32	233,32	13,22	3,16	510	1,00	233,32	+ 232,32
2	1006	0,6028	200,9	33,47	233,56	13,66	2,92	521	1,00	233,56	+ 232,56
3	1025	0,9486	316,2	52,67	368,87	15,88	2,80	545	720	368,87	- 351,13
4	1019	0,8945	298,2	49,67	347,87	14,90	3,01	528	720	347,87	- 372,13

Aus den in der vorstehenden Tabelle (III) angeführten Werten ergibt sich, daß die innerhalb 24 Stunden während der purinstofffreien Ernährung ausgeschiedene Harnsäuremenge von 0,6000 bis 0,6028 variiert, während sie bei Darreichung von Purinstickstoff enthaltenden Stoffen auf 0,8945 bis 0,9486 steigt. Der Harnsäurestickstoff verhält sich auf die gleiche Weise. Der Stickstoff der Purinbasen, der am 1. und 2. Tage 33,32 bis 33,47 betrug, stieg am 3. und 4. Tage bis zu den Werten 52,67 bis 49,67.

Bei Betrachtung der betreffenden Kurve (Fig. 3) bemerkt man, daß, obwohl sich eine ausgesprochene Regelmäßigkeit im Verhalten der Kurven erhält, der Parallelismus in der Intensität der Schwankungen fehlt, weil die Schwankungen der Werte des Harnsäurestickstoffs viel deutlicher hervortreten als die Schwankungen des Stickstoffs der Purinbasen.

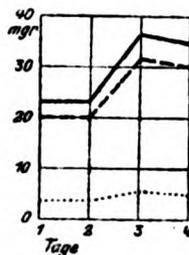


Fig. 3.

Der Unterschied zwischen dem eingeführten Purinstickstoff und dem ausgeschiedenen ist insofern beträchtlich, als er am 1. und 2. Tage 233,32 und 233,56 betrug, er am 3. und 4. Tage 368,87 bis 347,87 gegenüber einem eingeführten von 720 betrug, was also einem Unterschied von 351,13 bis 372,13 an diesen letzten Tagen entspricht.

IV.

G. P. Hanotsche hypertrophische Cirrhose. Haut und Harn stark gefärbt. Heruntergekommener Ernährungszustand. Leber umfangreich, Splenomegalie. Abwechselnd Diarrhöe und Verstopfung, beträchtlicher Meteorismus intestinalis. Die Krankheit dauert schon 3 Jahre 4 Monate. Oft war Fieber vorhanden. Während der Beobachtungsperiode ist der Kranke fieberfrei.

Der Patient wird immer ein absoluten Milchdiät unterzogen. Während der ersten Tage des Experiments werden 3 l Milch verabreicht. N = 14,64; P₂O₅ = 4,20; Purinstickstoff = 0,0060.

Am 3. und 4. Tage werden außerdem 0,30 mg Coffein dargereicht, so daß der Purinstickstoff auf 872,40 mg steigt.

Die erhaltenen Werte sind in der folgenden Tabelle (IV) verzeichnet.

Tabelle IV.

Bestimmungen	Harnmenge von 24 Stunden ccm	Resultate der Bestimmungen						Purin Bilanz			
		Harnsäure g	Harnsäure- stickstoff mg	Purinbasen-N mg	Gesamt-Pu- rinstickstoff mg	Gesamtstick- stoff g	P ₂ O ₅ g	Acidität in % ₁₀ NaOH ccm	Eingeführter Purin-N mg	Ausgeschiede- ner Purin-N mg	Differenz mg
1	1760	0,3826	127,6	22,52	150,02	11,24	2,75	432	6	150,02	+ 144,02
2	1340	0,4653	155,1	27,45	182,55	11,68	2,54	362	6	182,55	+ 176,55
3	1624	0,5086	169,5	30,57	200,07	10,96	2,40	385	872,4	200,07	- 672,33
4	1800	0,4924	164,1	29,40	193,5	12,45	2,93	412	872,4	193,5	- 678,9

Aus den in der vorstehenden Tabelle angeführten Werten ergibt sich, daß die innerhalb 24 Stunden während der zwei Tage dauernden purinstofffreien Ernährung ausgeschiedene Harnsäure zwischen 0,3826 und 0,4653, während der zwei Tage der Ernährung mit Purin aber zwischen 0,4924 und 0,5086 mg schwankt. Der Harnsäurestickstoff folgt diesen Werten parallel. Der Stickstoff der Purinbasen, der an den beiden ersten Tagen 22,52 bis 27,45 mg betrug, erreichte am 3. und 4. Tage 30,57 bis 29,40 mg.

So betrug der Gesamt-Purinstickstoff an den beiden ersten Tagen 150,02 bis 182,55 mg, an den beiden folgenden Tagen 200,07 bis 193,5 mg (Fig. 4).

Der Unterschied zwischen dem eingeführten und dem ausgeschiedenen Purinstickstoff ist beträchtlich, weil er am 1. und am 2. Tage 150,02 bis 182,55 mg gegenüber 6 mg, am 3. und am 4. Tage dagegen 200,07 bis 193,5 mg gegenüber 872,4 mg betrug, was also einer Differenz von 672,33 bis 678,9 mg entspricht.

V.

N. P. Hanotsche hypertrophische Cirrhose. Haut und Harn mäßig gefärbt. Ernährungszustand mäßig. Leber vergrößert, wie auch die Milz. Seit mehreren Tagen besteht Diarrhöe, übel riechende, weißliche Faeces. Abdomen etwas gespannt, oft schmerzhaft. Der Kranke klagt über einen wiederkehrenden, zuweilen stechenden Schmerz in der Gegend des rechten Leberlappens. Die Krankheit dauert schon $1\frac{1}{2}$ Jahr.

Der Patient wird der Milchdiät unterzogen. Während der ersten Tage des Experiments werden $3\frac{1}{2}$ l Milch täglich verabreicht. N = 17,10; Purinstickstoff = 0,0070; P_2O_5 = 4,90.

Am 3. und 4. Tage erhält er außerdem 0,30 mg Coffein, so daß der Purinstickstoff auf 873,40 mg steigt.

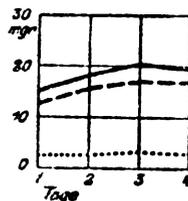


Fig. 4.

Tabelle V.

Bestimmungen	Harnmenge von 24 Stunden ccm	Resultate der Bestimmungen						Purin-Bilanz			
		Harnsäure g	Harnsäure- stickstoff mg	Purinbasen-N mg	Gesamt-Pu- rinstickstoff mg	Gesamtstick- stoff g	P_2O_5 g	Acidität in $\frac{P}{10}$ -NaOH ccm	Eingeführter Purin-N mg	Ausgeschie- dener Purin-N mg	Differenz mg
1	1625	0,4104	136,8	26,00	162,80	11,26	2,60	296	7,0	162,80	+ 155,8
2	1340	0,4002	133,4	23,35	158,75	11,86	2,02	284	7,0	158,75	+ 151,75
3	1680	0,3986	132,9	25,25	158,15	13,11	2,93	212	873,4	158,15	- 715,25
4	1420	0,4238	141,3	26,84	168,14	11,89	2,53	256	873,4	154,14	- 719,26

Aus den in der vorstehenden Tabelle (V) verzeichneten Werten ergibt sich, daß, während die innerhalb 24 Stunden am 1. und 2. Tage ausgeschiedene Harnsäure 0,4104 bis 0,4002 mg betrug, sie am 2. und 3. Tage 0,3986 bis 0,4238 mg betrug mit einer Regelmäßigkeit, die auch beim Harnsäurestickstoff und beim Purinbasenstickstoff sich erhält. Der Gesamt-Purinstickstoff erleidet nämlich in seinem Quantum zwischen den beiden ersten und den folgenden Tagen keine beträchtlichen Schwankungen.

So ist der Unterschied zwischen dem eingeführten und dem ausgeschiedenen Purinstickstoff ein sehr beträchtlicher; denn während er am 1. und 2. Tage sich auf 162,8 bzw. 158,75 mg gegenüber 7 mg des einge-

fürten belüft, zeigt er am 3. und 4. Tage 158,15 bis 154,14 mg gegenüber 873,4 mg des eingeführten, was also einem Unterschied von 715,25 bis 719,26 mg entspricht.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Bei Zusammenfassung der Resultate, die ich bei den von mir ausgeführten Bestimmungen und bei den verschiedenen Beobachtungen erhalten habe, ist zu bemerken, daß, was die Laennecsche Cirrhose anbelangt, das Verhalten der im 1. und 3. Falle erhaltenen Werte so ziemlich dasselbe ist, weshalb die daraus entstehenden Kurven einander gleichen, während die der 2. Beobachtung sich beträchtlich davon unterscheiden.

Im 1. und 3. Falle nämlich, wenn die Kranken Purinstickstoff erhielten, ergab sich eine mäßige Zunahme des ausgeschiedenen Gesamt-Purinstickstoffs, der sich seiner Zusammensetzung nach zum größten Teile als aus Harnsäurestickstoff, zum geringeren Teile als aus Purinbasenstickstoff bestehend erwies.

Dies steht verhältnismäßig gut im Einklang mit der von Burian¹⁾, Kennaway²⁾ und Scaffidi³⁾ konstatierten Tatsache, daß sowohl normal, als auch unter verschiedenen Bedingungen, denen der menschliche Organismus ausgesetzt werden kann (Ermüdung), fast konstant, wenn eine Zunahme der Harnsäure vorhanden ist, die Purinbasen entweder nicht zu- oder abnehmen. Es würde also, was diese meine Experimente betrifft, dieses Gesetz dem Anschein nach auch unter pathologischen Bedingungen Gültigkeit haben. In beiden Fällen ergibt sich, wenn man die Unterschiede zwischen dem während der purinstofffreien Ernährung ausgeschiedenen Purinstickstoff und dem bei den aufeinander folgenden Bestimmungen gefundenen berechnet, daß im Durchschnitt im 1. Falle 668 mg von den eingeführten 736 mg und im 3. Falle 600 mg von den eingeführten 720 mg zerstört worden sind.

Bei der 2. Beobachtung hingegen bemerkt man vor allem eine beträchtliche Ausscheidung von Harnsäure während der purinstofffreien Ernährung, während die den Purinbasenstick-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 43.

²⁾ Journ. of Physiol. 28.

³⁾ l. c.

stoff bezeichnenden Werte sich nicht auf allzu großer Höhe halten. Bei Darreichung von Stoffen dagegen, die Purinstickstoff enthalten, steigen die Werte für beide Formen beträchtlich an.

Berechnet man jedoch den im ersten und im zweiten Stadium ausgeschiedenen Stickstoff, so ergibt sich, daß von den eingeführten 719 mg Purinstickstoff nur 297 mg zerstört worden sind.

Bei der IV. und V. Beobachtung, die sich auf die Hanot'sche hypertrophische Cirrhose beziehen, vollzieht sich der Purinstoffwechsel auf normale Weise. Fast der ganze eingeführte Purinstickstoff wird nicht im Harn als solcher angetroffen.

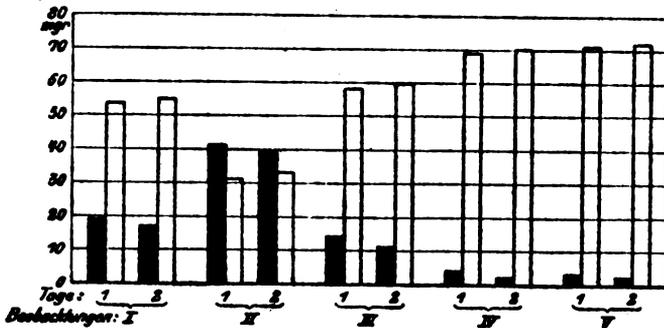


Fig. 5.

■ Ausgeschiedene Purinstickstoffe.
□ Zerstörte Purinbasen.

Bezüglich der Verwertung des eingeführten Purinstickstoffs habe ich ein Diagramm konstruiert (Fig. 5), in dem die Werte des ausgeschiedenen und die des zerstörten Stickstoffs im Vergleich mit dem eingeführten und als konstanter Wert festgesetzten Stickstoff dargestellt sind. Die betreffenden Werte wurden auf folgende Weise erhalten. Von der Menge des während der purinhaltigen Ernährung ausgeschiedenen Purin-Gesamtstickstoffs wird derjenige abgezogen, der im Mittel während der purinstofffreien Ernährung ausgeschieden wird und für endogenen Ursprungs gehalten werden muß; die Differenz ergibt den Wert des von der Ernährung stammenden ausgeschiedenen Purinstickstoffs. Andererseits ergibt die Differenz zwischen ihm und dem eingeführten Purinstickstoff das zerstörte Quantum

des eingeführten Purinstickstoffs. Um sie gleichmäßig zu gestalten, habe ich alle Werte auf das Verhältnis von 720 g des eingeführten Purinstickstoffs gebracht.

Bei der Abschätzung dieser Resultate ist jedoch, wie bekannt, zu berücksichtigen, daß eine gewisse Menge Coffein als solches in den Harn übergeht.

Überblicken wir alle diese Resultate, die sich bei meinen Experimenten ergeben haben, so können wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Der Purinstoffwechsel erfolgt in verschiedener Weise bei der Laennecschen atrophischen Cirrhose und bei der Hanotschen hypertrophischen Cirrhose. Bei der ersteren geht er mehr oder weniger mangelhaft vor sich, je nach dem Grade der Veränderung des Organs, bei letzterer dagegen in normaler Weise.

2. Der mangelhafte Stoffwechsel bei atrophischer Cirrhose erklärt sich zum größten Teil durch die Art der Umgestaltung der Harnsäure. In den schweren Fällen ist dieses Verhältnis nicht vorhanden.

Was die Erklärung des verschiedenen Verhaltens des Purinstoffwechsels bei beiden Leberaffektionen anbelangt, so würden die Ergebnisse meiner Versuche für die Laennecsche Cirrhose den je nach den Fällen verschiedenen Grad des Mangels der fermentativen Einwirkung der Leber feststellen, die, wie aus den zahlreichen früheren Untersuchungen hervorgeht, beim Durchgang der Absorptionsprodukte durch den Pfortaderkreislauf die Basen und die Harnsäure zerstört; bei der Hanotschen Cirrhose dagegen wäre dieses Vermögen erhalten.

Der Umstand, daß ein Teil der eingeführten Purinbasen zerstört wird, findet seine Erklärung einestheils durch die Hypothese, daß die fermentative Einwirkung der Leber eher mangelhaft ist als ganz fehlt, andernteils durch die weitere Hypothese, die der Niere von diesem Gesichtspunkte aus eine analoge Funktion zuweist. Was diese Fragen betrifft, gedenke ich demnächst den Purinbasenstoffwechsel bei den Veränderungen der Niere gründlich zu studieren.

Weitere Untersuchungen zur Kenntnis hämolytischer Organextrakte.

Von
P. Schäfer.

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

(Eingegangen am 21. Juli 1911.)

Die folgenden Untersuchungen schließen sich eng an die Mitteilung von Morgenroth und Schäfer „Zur Kenntnis der hämolytischen Organextrakte“¹⁾ an und sind in der Absicht unternommen, die dort mitgeteilten Ergebnisse zu ergänzen und weiterzuführen. In letzterer Hinsicht mußte vor allem auf die Arbeit Friedemanns „Über die hämotoxischen Stoffe der Organe“²⁾ Rücksicht genommen werden, die eine Reihe neuer und eigenartiger Beobachtungen enthielt. Bezüglich der Entwicklung der hier zu behandelnden Fragen verweisen wir auf die obenerwähnte Mitteilung, die auch die nötigen Vorkenntnisse und Literaturangaben vermittelt³⁾.

I.

Von zahlreichen Autoren ist schon früher darauf hingewiesen worden, daß das wirksame Prinzip der hämolytischen Organextrakte in Seifen oder seifenähnlichen Substanzen zu suchen sei, während Friedemann dies für die aus Magen und Darm gewonnenen Hämolsine zugibt, dagegen die aus dem Pankreas gewonnenen alkohollöslichen Hämolsine als Toxolecithide

¹⁾ Diese Zeitschr. 21, 1909.

²⁾ Arch. f. Hygiene 69, 105, 1909.

³⁾ Die Kosten der Versuche, die auf Veranlassung von Prof. Morgenroth unternommen wurden, sind zum Teil aus den diesem bewilligten Mitteln der Gräfin Luise Bose-Stiftung bestritten worden.

anspricht. Wir haben nun auf die von Korschum und Morgenroth zuerst beobachtete merkwürdige Eigenschaft hingewiesen, daß diese Seifen resp. Toxolecithide an corpusculäre Elemente gebunden sind. Sie werden nur langsam an die Blutkörperchen abgegeben, ein Vorgang, den schon Korschum und Morgenroth mit dem „Abbluten“ gewisser Farbstoffe verglichen haben.

Kocht man hämolytische wässrige Organextrakte, so fallen aus ihnen reichlich Eiweißflocken aus, die allein das hämolytische Agens enthalten, während die von den corpusculären Elementen durch Zentrifugieren oder Filtrieren befreite Flüssigkeit keine hämolytische Fähigkeit mehr besitzt. Uns gelang es nun, an indifferente Eiweißcoagula, die aus Pferdeserum gewonnen wurden, Seife zu binden. Diese an die Eiweißcoagula gebundene Seife ließ sich unter denselben Verhältnissen wieder nachweisen, wie das hämolytische Agens in den Organextrakten. In ganz entsprechender Weise wurden von der an Eiweißcoagula gebundenen Seife keine nachweisbaren Mengen an Kochsalzlösung abgegeben, während die Seife ebenso wie das Hämolysin der Organextrakte von den Eiweißcoagula auf die in demselben Medium aufgeschwemmten Blutkörperchen übergeht. Damit wurde der Beweis geführt, daß die Organextrakte wie auch die Pankreasextrakte nach demselben Wirkungsmechanismus ihr hämolytisches Agens an die Blutkörperchen abgeben, wie die künstlich mit Seife beladenen Eiweißflocken.

Es erübrigt daher nur noch zu untersuchen, ob durch einen Zusatz von Seife zu hämolytischen Organextrakten (richtiger würde man von Organsuspensionen sprechen) dasselbe Verhalten zu erzielen ist, ob also die corpusculären Elemente der Organextrakte resp. die dieselben einschließenden Coagula neu zugefügte Seife nach demselben Modus zur Hämolyse abgeben, wie ihr ursprüngliches Hämolysin. Wenn dies bewiesen ist, so kann auf keinen Fall mehr die Möglichkeit bestritten werden, daß es sich bei der Hämolyse durch Organextrakte um Seifen handelt. Zu diesen Versuchen benutzte ich Natrium oleinicum (Merck); es wurde eine 1%ige Lösung in 0,85%iger Kochsalzlösung oder in Alkohol absolutus¹⁾ unter Erwärmen her-

¹⁾ Die Lösung in Alkohol muß nach Sachs und Altmann nach Anfeuchten der Seife mit Wasser geschehen.

gestellt. Beim Erkalten gelatiniert die 1%ige wässrige Seifenlösung. Es wurde also, ehe weitere Verdünnungen mit 0,85%igen Kochsalzlösungen hergestellt wurden, jedesmal die Seife im Wasserbad völlig zur Lösung gebracht. 0,5 bis 0,25 ccm der so bereiteten 1%igen Seifenlösung löste in der Regel 1 ccm 5%iges 1mal gewaschenes Ziegenblut komplett.

Nachfolgend führe ich einen unserer diesbezüglichen Versuche ausführlich an¹⁾.

Versuch 1.

Hundepankreas, sofort nach Entfernung durch Operation (Prof. Biokol), wird in der Reibschale mit Seesand fein verrieben, dann wird im Verhältnis 9:1 0,85%ige Kochsalzlösung zugesetzt, so daß eine 10%ige feine Emulsion entsteht. 0,025 ccm (= 0,25 einer Verdünnung 1:10 in physiologischer Kochsalzlösung) dieser Emulsion lösen 2 ccm 5%iges 1mal gewaschenes Ziegenblut noch komplett. 1 ccm dieser Emulsion wird mit 9 ccm Kochsalzlösung versetzt (= $\frac{1}{10}$) und 15 Minuten im kochenden Wasserbad (Steigrohr) erhitzt. Dieser gekochte und beim Erhitzen unter feiner Flockenbildung koagulierte Pankreasextrakt wird auf Hämolyse geprüft (I.). Dann wird zentrifugiert, und es werden das Sediment nach Auffüllen mit 0,85%iger Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volumen (II.) und der Abguß gesondert geprüft.

Prüfung mit 2 ccm 5%igem 2mal gewaschenem Ziegenblut.

I. gekocht	II. Sediment	III. Abguß	
1,5	} komplett	} 0	
1,0			} (= $\frac{1}{10}$)
0,8			
0,6			} komplett, Zone
0,45	} f. komplett, Zone		
0,3			} stark, Zone
0,25	} wenig, Kuppe		
0,2			} sehr wenig, Kuppe
0,15	} Spur, Kuppe		
0,1			} minimal, Kuppe
0	0		

Der Pankreasextrakt, der in Mengen von 0,025 ccm 2 ccm Ziegenblut löste, ist in dieser Versuchsanordnung also auf $\frac{1}{10}$ verdünnt. Man sieht nun in dem Versuch 1, daß nach dem Kochen eine geringere Menge Hämolyse nachzuweisen ist. Dies ist dadurch zu erklären, daß durch das Kochen Flocken entstehen, die das Hämolyse nur langsamer abgeben, wie die ungekochten Pankreassuspensionen, in denen das hämolytische Agens an feinste corpusculäre Teilchen gebunden ist. Aus diesem Grunde kann man auch nie einen quantitativen Ausfall der Versuche

¹⁾ Einige Versuche wurden von Dr. Wossidlo ausgeführt.

erwarten, da es nicht möglich ist, dieselbe Größe und Beschaffenheit der Teilchen bei Pankreassuspensionen ungekocht und gekocht herzustellen.

Das hämolytische Agens ist allein an die Flocken gebunden (II.), während der klare Abguß (III.) kein Hämolyysin enthält.

9 ccm der Suspension 1:10 desselben Extraktes werden nun mit 1 ccm einer Verdünnung 1:10 (in Kochsalzlösung) einer 1%igen alkoholischen Lösung von Natrium oleinicum (Merck) versetzt. Die Lösungen werden wieder 15 Minuten im kochenden Wasserbad (Steigrohr) erhitzt und wiederum die gekochten Extrakte (I.), ferner Sediment (II.) und Abguß (III.) für sich mit 2 ccm 5%igem 2mal gewaschenem Ziegenblut auf Hämolyse geprüft.

I. Extrakt und Seifenlösung gekocht	II. Sediment	III. Abguß
1,5	1,5	1,5 komplett
1,0	1,0	1,0 stark, Zone
0,8	0,8	0,8 wenig, Zone
0,6	0,6	0,6 Spürchen, Kuppe
0,45 } komplett	0,45 } komplett	0,45 minimal, Kuppe
0,3	0,3	0,3
0,25	0,25	0,25
0,2	0,2	0,2
0,15 komplett, Zone	0,15 komplett, Zone	0,15 } 0
0,1 wenig, Zone	0,1 minimal, Kuppe	0,1
0	0	0

Während also derselbe gekochte Pankreasextrakt in Mengen von 0,45 ccm 2 ccm Ziegenblut komplett löste, ist die Verstärkung durch den Seifenzusatz um das dreifache klar in die Augen fallend. Man sieht ferner, daß auch die zugefügte Seife von den Pankreascoagula aufgenommen worden ist und in gleicher Weise wie das hämolytische Agens, das schon vorher in den Pankreascoagula nachzuweisen war, durch die Verstärkung der Hämolyse zu finden ist. Nur eine ganz geringe Menge der Seife ist im Abguß nachzuweisen.

Man sieht also aus diesem Versuch, daß die hämolytischen Pankreasextrakte, sowie die noch besonders mit Seife beladenen Pankreasextrakte den gleichen Wirkungsmechanismus haben, wie die an Eiweißcoagula gebundenen Seifen.

Ein weiterer Versuch zeigt dieselben Verhältnisse.

Versuch 2.

Ein frisches Hundepankreas wird in der Reibschale mit Secsand fein verrieben und zu je 1 g 10 ccm Kochsalzlösung zugefügt. Die Suspension wird im Schüttelapparat geschüttelt und nach Filtrieren durch

Papier bei -12° aufbewahrt. 0,25 ccm $\frac{1}{10}$ dieses wässrigen Extraktes löst 2 ccm 5 $\%$ iges 1mal gewaschenes Ziegenblut. Je 10 ccm dieses Extraktes werden mit 10 ccm Kochsalzlösung verdünnt und 1 Stunde im kochenden Wasserbade gekocht. Alsdann wird die Flüssigkeit zentrifugiert und das Sediment in

1. 10 ccm $\frac{1}{10}$ 1 $\%$ iger Seifenlösung (in Kochsalzlösung),
2. 10 „ $\frac{1}{100}$ 1 $\%$ iger „ „ „
3. 10 „ 0,85 $\%$ iger Kochsalzlösung

aufgeschwemmt.

Die Aufschwemmungen werden 4 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und dann bis zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt. Nummehr Filtration und Prüfung der klaren Filtrate mit 2 ccm Ziegenblut.

Sowohl der Abguß des gekochten Pankreasextraktes, wie sämtliche 3 Filtrate zeigen auch in Mengen von 1,5 ccm keine Spur von Hämolyse, während die Aufschwemmungen der Filtrerrückstände nach 2maligem Waschen das hämolytische Agens nachweisen ließen.

In einem Kontrollversuch mit demselben Hundepankreasextrakt und derselben 1 $\%$ igen Seifenlösung in $\frac{1}{10}$ Kochsalzlösung löste der 2mal gewaschene Filtrerrückstand des gekochten wässrigen Pankreasextraktes in Mengen von 0,15 ccm; der Filtrerrückstand des mit Seifenlösung versetzten wässrigen Pankreasextraktes in Mengen von 0,06 ccm 2 ccm Ziegenblut.

Die Verstärkung der Wirkung des gekochten Pankreasextraktes durch Seifenzusatz ist also auch hier klar in die Augen fallend. Vor allem aber überzeugt man sich aus diesem Versuch, daß die zugefügte Seife von den Flocken des Pankreasextraktes in derselben Weise wie das ursprünglich vorhandene Hämolsin gebunden wird.

Friedemann spricht nun das hämolytische Agens der Pankreasextrakte als Toxolecithid an und bringt für diese Anschauung gute Gründe vor, besonders den Phosphorgehalt des Hämolsins. Es erwuchs deshalb die Aufgabe, zu untersuchen, ob überhaupt bei dem ganz eigentümlichen Mechanismus dieser Hämolsinwirkung ein Toxolecithid in Frage kommen kann, d. h. ob auch Toxolecithide als solche von corpusculären Elementen aufgenommen und dann wieder am Blutkörperchen abgegeben werden, um Hämolyse zu veranlassen. Es war also in der bereits durch die vorstehenden Versuche gekennzeichneten Richtung ein bekanntes Toxolecithid zu untersuchen, und zwar wählten wir das Kobralecithid, das für alle Untersuchungen über Toxolecithide grundlegend ist. Die Übertragung der mit dem Kobralecithid erhaltenen Resultate auf das von Friede-

mann als Toxolecithid angesprochene Hämolysin des Pankreas erscheint bei dem gegenwärtigen Stand der Lecithidfrage vollkommen erlaubt, da beide — wenn man sich Friedemanns Standpunkt anschließt — als identisch anzusehen sind. Es kann nach den Untersuchungen von Manwaring¹⁾ kaum noch einem Zweifel unterliegen, daß die Ansicht von Willstätter, Lüdecke, Dungern und Coca das Richtige getroffen hat, daß also das sogenannte Lecithid des Kobragiftes nicht, wie Ehrlich, Kyes und Sachs, Morgenroth und viele andere glaubten, eine Verbindung des Kobragiftes mit Lecithin darstellt. Das sogenannte Lecithid ist vielmehr ein Spaltungsprodukt des Lecithins, entstanden durch Abspaltung eines Fettsäurerestes unter der Einwirkung eines besonderen, im Kobragift enthaltenen Ferments, der Lecithinase. Wenn man also das Hämolysin des Pankreas mit Friedemann als Lecithid ansprechen will, so muß dieses Lecithid mit dem sogenannten Kobralecithid identisch sein, das Pankreas enthält das nämliche Spaltungsprodukt des Lecithins; sei es nun dort als solches deponiert, sei es aus dem im Pankreas enthaltenen Lecithin durch eine gleichfalls gegenwärtige Lecithinase abgespalten. Unsere mit dem Kobralecithid erzielten Resultate lassen sich also ohne Einschränkung auf das Hämolysin des Pankreas übertragen.

Ich untersuchte nun, ob sich die Kobralecithide in ähnlicher Weise wie die Seifenlösungen verhalten und fand meine Annahme bestätigt. Es zeigte sich nämlich, daß es gelingt, das Kobralecithid in ähnlicher Weise an indifferente Eiweißflocken zu binden, wie das Natrium oleicum. Auch der Mechanismus der Abgabe des hämolytischen Agens ist hier der gleiche; allerdings bestehen der Seife gegenüber quantitative Unterschiede, die aber für die vorliegende Frage ohne Bedeutung sind.

Versuch 3.

2 ccm Pferdeserum + 8 ccm Kochsalzlösung werden im Wasserbad von 70 bis 90°C langsam erwärmt. Nach dem Abkühlen werden 30 ccm Kochsalzlösung zugesetzt und die feinen Eiweißflocken abzentrifugiert.

Zu den aus je 2 ccm erhaltenen Flocken werden:

I. 10 ccm einer Kobragift-Lecithinlösung

II. 10 „ „ „ „ in ($\frac{1}{5}$ Kochsalzlösung)

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforschung 6, Orig., 1910.

zugesetzt und 2 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, durch gehärtete Filter filtriert und bis zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt.

Filtrat von I.: opaleszierend,

Filtrat von II.: klar.

Der Filtrerrückstand wird je 1 mal in 30 com Kochsalzlösung gewaschen und dann auf 2 com Kochsalzlösung aufgefüllt. Prüfung mit 1 com 5^o/_o igem 1 mal gewaschenen Kaninchenblut.

Das Kobragift-Lecithid wurde folgendermaßen hergestellt: 2,5 com von 5^o/_o Lecithol Riedel in Methylalkohol werden mit 25 com ¹/₁₀ Kobragift versetzt (Kobragift von Prof. Calmette in Lille 1^o/_o in 0,85^o/_o iger Kochsalzlösung und Glycerin äs) und 48 Stunden im Brutschrank bei 37°C gehalten und dann für den Gebrauch im Eisschrank aufbewahrt. Von dieser Lösung löst 0,75 ¹/₁₀₀ com 1 com 5^o/_o iges 1 mal gewaschenes Ziegenblut.

I. Filtrat unverdünnt		II. Filtrat ¹ / ₅	
0,75	} komplett	} komplett	Kuppe
0,5			
0,25			
1,0 ¹ / ₁₀			
0,75			
0,5	} Kuppe, Zone	} 0	
0,25			
1,0 ¹ / ₁₀₀			
0,75			
0,5			
0	} 0		
0,75			
0,5			
0			
0			
I. Rückstand unverdünnt		II. Rückstand ¹ / ₅	
0,5	} komplett	} komplett	
0,25			
1,0 ¹ / ₁₀			
0,75			
0,5			
0,25	} fast komplett, Zone Kuppe	} fast komplett, Zone Kuppe	
1,0 ¹ / ₁₀₀			
0,75			
0,5			
0,25			
0,1	} Spur, Kuppe Spürchen, Kuppe	} Spur, Kuppe Spürchen, Kuppe	
0,5			
0,25			
0,1			
0			

Es gelingt also auch in diesem Versuch, bei I ca. ¹/₅, bei II ca. ¹/₅ der zugefügten Kobragiftlecithidlösung an die Eiweißcoagula zu binden und dann an die Kaninchenblutkörperchen wieder abgeben zu lassen, während der Rest des wirksamen Agens gleich im Filtrat erscheint.

Bei dem folgenden Versuch wird versucht, an die in gleicher Weise gewonnenen Eiweißcoagula einmal Seife in wechselnder Konzentration, einmal Kobragiftlecithid zu binden.

Versuch 4.

Zu aus je 2 cem Pferdeserum in gleicher Weise hergestellten Eiweißflocken werden

I. 10 cem einer 1%igen Lösung von Natrium oleicum Merck in Kochsalzlösung,

II. 10 cem einer 1%igen Lösung $\frac{1}{2}$,

III. 10 cem einer 1%igen Lösung $\frac{1}{6}$

zugesetzt, die Fläschchen 2 Stunden geschüttelt und durch gehärtete Filter im Eisschrank filtriert. Filtrat und Sediment gesondert geprüft. Jedes Sediment wird 1mal in 30 cem Kochsalzlösung gewaschen und dann auf 4 cem mit Kochsalzlösung aufgefüllt.

Filtrate.

I. 1% $\frac{1}{2}$	II. 1% $\frac{1}{2}$	III. 1% $\frac{1}{6}$
0,25		
1,0 $\frac{1}{10}$		
0,75		
0,5		
0,25		
1,0 $\frac{1}{100}$	0	0
0,75		
0,5		
0,25		
1,0 $\frac{1}{1000}$		
0,5		
0		

Niederschläge.

I.	II.	III.
0,5		
0,25		
1,0 $\frac{1}{10}$		
0,75	komplett	komplett
0,5	komplett	
0,25		fast komplett, Zone
1,0 $\frac{1}{100}$	komplett, Zone	Spürchen, Kuppe
0,75	f. komplett, Zone	
0,5	Spur, Kuppe	
0,25	etwas gelbüch	0
0,1		
0	0	

Zu je aus 2 cem Pferdeserum in üblicher Weise gewonnenen Eiweißfloeken werden

I. 10 cem Kobraleithidlösung $\frac{1}{2}$,

II. 10 cem „ „ $\frac{1}{5}$

zusetzt.

Die Fläschchen werden 2 Stunden geschüttelt, im Eisschrank durch gehärtete Filter filtriert, der Filtrerrückstand 1mal in 25 cem Kochsalzlösung gewaschen und auf 4 cem mit Kochsalzlösung aufgefüllt.

Der Abguß von I ist opaleszierend,

„ „ „ II ist klar.

Prüfung mit 1 cem 5 $\frac{0}{10}$ igem 1mal gewaschenem Kaninchenblut.

Filtrate (Abgüsse).

	I. $\frac{1}{2}$	II. $\frac{1}{5}$
0,5	} komplett	komplett fast komplett
0,25		
1,0 $\frac{1}{10}$	} komplett, Zone fast komplett, Zone Spürchen, Kuppe 0	} 0
0,75		
0,5		
0,25		
0		

Rückstände.

	I. $\frac{1}{2}$	II. $\frac{1}{5}$
0,5	} komplett	komplett
0,25		
1,0 $\frac{1}{10}$		} komplett, Zone fast komplett, Zone Kuppe etwas gelblich
0,75		
0,5		
0,25	} fast komplett, Zone etwas gelblich 0	} 0
1,0 $\frac{1}{100}$		
0,75		
0		

25 cem der Waschflüssigkeit des Filtrerrückstandes opaleszierend, keine sichtbaren Partikel.

Prüfung mit 1 cem Kaninchenblut.

	I. Lösung $\frac{1}{2}$	II. Lösung $\frac{1}{5}$
1,0	} komplett	komplett, Zone stark, Zone Kuppe
0,75		
0,5		
0,25		
1,0 $\frac{1}{10}$	} Kuppe, Zone Spürchen, Kuppe 0	} 0
0,75		
0,5		
0		

Auch an diesem Parallel-Versuch sieht man, daß die Seife an die Eiweißcoagula gebunden wird und die Abgüsse keine

nachweisbaren Mengen von Seifen enthalten. Bei Zufügung von Kobralecithidlösung zu den Eiweißcoagula wird ein großer Teil des hämolytischen Agens von den Coagula aufgenommen, ein Teil erscheint aber im Abguß wieder. Die Bindung an die Eiweißcoagula scheint auch nicht so fest zu sein, wie bei Seife, denn in der Waschlüssigkeit der mit Kobralecithid beladenen Coagula ist eine reichliche Menge von Hämolyain nachweisbar.

Der folgende Versuch zeigt ähnliche Verhältnisse.

Versuch 5.

Die verwendeten Eiweißcoagula wurden so hergestellt, daß je 2 ccm Pferdeserum mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung im Wasserbad von 60° auf 90° erwärmt wurden und noch 5 Minuten bei 90° blieben. Die erkalteten, sehr fein koagulierten Eiweißflocken wurden abzentrifugiert und zum Versuch benutzt.

Es wurden zu ihnen je

I. 10 ccm einer 1^o/₁₀igen Lösung von Natrium oleinicum Merck in 0,85^o/₁₀iger Kochsalzlösung ¹/₂,

II. 10 ccm einer 1^o/₁₀igen Lösung von Natrium oleinicum ¹/₅,

III. 10 ccm einer Kobralecithidlösung ¹/₂,

IV. 10 ccm „ „ ¹/₅

zugeetzt. Dann wurden die Suspensionen 2 Stunden geschüttelt, nach 12 Stunden die Coagula abzentrifugiert und Abguß und Coagula, zu je 10 ccm mit Kochsalzlösung aufgefüllt, auf Hämolyse mit 1 ccm 5^o/₁₀igem 1 mal gewaschenen Kaninchenblut geprüft.

Abguß.

Seifenlösung ¹ / ₂		Seifenlösung ¹ / ₅	
0,5	fast komplett		Spürchen, diffus
0,25	Spur, diffus		diffus, etwas gelblich
1,0 ¹ / ₁₀	Spürchen, diffus		diffus, Spürchen gelblich
0,75	} 0	}	0
0,5			
0			

Kobralecithidlösung ¹ / ₂		Kobralecithidlösung ¹ / ₅	
0,5	} komplett	0,5	} komplett
0,25		0,25	
1,0 ¹ / ₁₀		1,0 ¹ / ₁₀	fast komplett, Zone
0,75		0,75	stark, Zone
0,5		0,5	Spur, Kuppe
0,25	fast komplett, Zone	0,25	} 0
0,1	Spürchen, Kuppe	0,1	
0	0	0	

Coagula.

Seifenlösung $\frac{1}{2}$		Seifenlösung $\frac{1}{5}$	
0,5	} komplett	0,5	} komplett
0,25		0,25	
$1,0 \frac{1}{10}$		$1,0 \frac{1}{10}$	
0,75		0,75 fast komplett	
0,5	} fast komplett	0,5	Spur, Kuppe
0,25		0,25 diffus, etwas gelblich	
$1,0 \frac{1}{100}$	diffus, etwas gelblich	$1,0 \frac{1}{100}$	} 0
0,75	diffus, Spürchen gelblich	0,75	
0,5	} 0	0,5	} 0
0		0	
Kobralecithid $\frac{1}{2}$		Kobralecithid $\frac{1}{5}$	
0,5	} komplett	0,5	} komplett
0,25		0,25	
$1,0 \frac{1}{10}$		$1,0 \frac{1}{10}$ stark, Kuppe	
0,75		0,75 mäßig, Kuppe	
0,5	} Spur, Kuppe	0,5	diffus, etwas gelblich
0,25		0,25 do.	
$1,0 \frac{1}{100}$	Spürchen, Kuppe	$1,0 \frac{1}{100}$	} 0
0,75	diffus, etwas gelblich	0,75	
0,5	} 0	0,5	} 0
0		0	

Auch in diesem Versuch tritt wie in einigen weiteren, deren Mitteilung, da sie in gleicher Weise verliefen, zu weit führen würde, deutlich hervor, daß Eiweißcoagula die Fähigkeit besitzen, Seife und Kobralecithidlösung aufzunehmen und an Blutkörperchen wieder abzugeben. Der Mechanismus ist bei beiden der gleiche, nur besteht ein gradueller Unterschied zwischen beiden, da die Eiweißflocken nicht imstande sind, quantitativ dieselbe Menge Kobralecithid wie Seife aufzunehmen. Auch scheint das Kobralecithid leichter wie die Seife wieder abgegeben zu werden.

Es wurde also durch vorstehende Versuche gezeigt, daß Kobralecithide und Seifen mit demselben Mechanismus wirken; so kann man wohl mit Recht annehmen, daß an Stelle der Seifen auch Toxolecithide in Frage kommen.

II.

Morgenroth und Schäfer haben durch mehrere Versuche gezeigt, daß im Pankreas des Hundes, auch wenn es lebensfrisch verarbeitet wird, ein alkohollösliches Hämolytin nachzu-

weisen ist. Es steht dies im Gegensatz zu den Ergebnissen der Arbeit von Friedemann, der angibt, daß die alkoholischen Hämolysine aus Hundepankreas nicht primär gefunden werden, sondern erst bei längerem Lagern des Pankreas durch Autolyse entstehen. Es wurde schon früher darauf hingewiesen, daß es durch eine von Friedemanns Verfahren abweichende Technik gelingt, in frisch entnommenem, mit Alkohol extrahierten Hundepankreas reichlich Hämolysin nachzuweisen, das also primär in der Drüse vorhanden war und nur bei der Methode Friedemanns nicht zur Wirkung kommen konnte. Auf Grund eines Versuches an dem Pankreas eines Hungerhundes, in dem weder primär, noch nach Autolyse ein Hämolysin sich nachweisen ließ, kommt Friedemann zu dem weiteren Schluß, daß beim Hungerhund kein Hämolysin vorhanden ist, resp. daß auch durch Autolyse des Hungerhundepankreas kein Hämolysin entsteht, und bezieht das Auftreten des hämolytischen Agens durch Autolyse auf den Fütterungszustand der Versuchstiere.

Wir haben schon darauf hingewiesen, daß wir zu abweichenden Ergebnissen kamen, und daß die Verhältnisse viel komplizierter liegen, wie Friedemann auf Grund seiner Versuche annahm.

Um diese Verhältnisse zu klären, führte ich noch weitere zahlreiche Versuche aus, die zwar zeigten, daß wir gegenüber Friedemann im Recht sind, jedoch Resultate ergaben, die sich nicht erklären und die vor allem keinen bestimmten Zusammenhang zwischen Fütterung und Auftreten des Hämolysins erkennen ließen.

Ich versuchte zuerst Kaninchenpankreas zu meinen Versuchen zu benutzen. In einem Falle fand ich in dem in der üblichen Weise hergestellten alkoholischen Pankreasextrakte weder primär, noch nach Autolyse ein Hämolysin. Im übrigen erschien mir zu den nötigen größeren Versuchsreihen das Kaninchenpankreas als zu klein.

Bei meinen Versuchen mit Hundepankreas benutzte ich fast ausschließlich ausgewachsene Terriers. Bei in der üblichen Weise hergestellten Leberextrakten fand ich nie ein Hämolysin, weder in den sofort, noch in den nach 3 und 24 Stunden (Zimmertemperatur) verarbeiteten Lebern.

Sämtliche Pankreasextrakte wurden so hergestellt, daß die Hunde durch einen Schlag auf den Kopf betäubt und aus der Carotis entblutet wurden. Das Pankreas wurde sofort entfernt und vom anhaftenden Fett befreit. Ein Teil desselben wurde sofort, ein Teil nach 2 resp. 3stündigem, ein weiterer Teil nach 24stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur verarbeitet. Das Organ wurde mit Secsand fein verrieben und dann auf je 1 g desselben 5 ccm Alcohol absolutus zugesetzt. Nach mehrstündigem Schütteln im Schüttelapparat wurden die Fläschchen bis zum nächsten Morgen im Eisschrank aufbewahrt und dann einmal klar durch Papier filtriert. Geprüft wurde mit 2 ccm einer 5%igen, 1mal gewaschenen Ziegenblutaufschwemmung, Gesamtvolumen 4 ccm. Die Röhren kamen 2 Stunden in den Brutschrank bei 37°, dann bis zum nächsten Morgen in den Eisschrank. Dann erfolgte die Ablesung der Versuchsergebnisse.

Ich ging zuerst von der Angabe Friedemanns aus, daß beim hungernden Hunde weder primär, noch nach längerer Autolyse hämolytische alkohollösliche Substanzen im Pankreas auftreten. Ein früherer Versuch von Morgenroth und Schäfer mit dem Pankreas eines Hundes, der 24 Stunden gehungert hatte, zeigte folgendes Ergebnis:

Der sofort verarbeitete Extrakt löste in Mengen von 0,03 ccm, der nach 3 Stunden Autodigestion bei Zimmertemperatur verarbeitete in Mengen von 0,008 ccm, der nach 24 Stunden mit 0,01 ccm komplett.

Das Resultat eines weiteren Versuches stimmt damit überein.

Versuch 2.

Ein ausgewachsener weiblicher Hund hungert 3 $\frac{1}{2}$ Tage, bekommt aber Wasser. Er wird morgens durch Entbluten getötet. Gewicht des getöteten Hundes 5450 g. Pankreas, sofort entfernt, wiegt 10,5 g. Ein Teil sofort, ein Teil nach 3 Stunden, ein Teil nach 24 Stunden verarbeitet.

	I. Sofort	II. Nach 3 St.	III. Nach 24 St.	
0,25	} komplett	0,25	} komplett	
1,0 $\frac{1}{10}$		1,0 $\frac{1}{10}$		
0,8		0,8		
0,6		0,6		
0,45		0,45		
0,3	fast komplett	0,3	} 0	
0,2	Spur, Kuppe gelbl.	0,2		
0,1	0	0,1		Spur gelblich
0		0		0
0		0		0

In beiden Fällen zeigte also der sofort hergestellte Extrakt eine sehr beträchtliche hämolytische Wirkung. Nach 3 Stunden

Autodigestion war er einmal $3\frac{1}{2}$ mal, in anderen Fällen ca. doppelt so stark, während nach 24stündiger Autodigestion der Extrakt dem nach 3 Stunden gewonnenen an Wirkung gleichbleibt oder um ein Geringes an Wirkung abnimmt.

Zwei weitere Hunde ließ ich 6 Tage hungern, entblutete und prüfte die alkoholischen Extrakte in der üblichen Weise.

Versuch 3.

Weiblicher Jagdhund, 9 Monate alt, Gewicht nach Entbluten 8000 g. Pankreas 33 g.

I. Sofort.	II. Nach 3 Stunden.	III. Nach 24 Stunden.	
0,25 komplett	0,25 mäßig diffus	0,25	} komplett
$1,0\frac{1}{10}$	$1,0\frac{1}{10}$	$1,0\frac{1}{10}$	
0,8	0,8	0,8	
0,6	0,6	0,6	} 0
0,45	0,45	0,45	
0,3	0,3	0,3	
0,2	0,2	0,2	} 0
0,1	0,1	0,1	
0	0	0	

Versuch 4.

Ein weiblicher, ausgewachsener Terrier hungert 6 Tage und wird am Morgen des 7. Tages entblutet. Gewicht 4500 g. Pankreas 10,5 g.

I. Sofort.	II. Nach 3 Stunden.	III. Nach 24 Stunden.	
0,25 Spur, Kuppe	0,25 Spur, Kuppe	0,25 Spur, Kuppe	
$1,0\frac{1}{10}$	$1,0\frac{1}{10}$	$1,0\frac{1}{10}$	} 0
0,8	0,8	0,8	
0,6	0,6	0,6	
0,45	0,45	0,45	} 0
0,3	0,3	0,3	
0,2	0,2	0,2	
0,1	0,1	0,1	} 0
0	0	0	

Bei Hund 3 war also sofort eine geringe Menge von Hämolyisin nachweisbar. Nach 3 Stunden Autodigestion war diese wieder verschwunden; denn die geringe Hämolyse durch 0,25 com Extrakt dürfte teilweise, wie wir schon früher erwähnt haben, auf die Wirkung des verwendeten Alkohols bezogen werden. Nach 24 Stunden dagegen wurde eine starke Hämolyisinbildung gefunden.

Bei Hund 4 war weder primär noch auch nach längerer Autolyse Hämolyisin nachweisbar. Dieser Extrakt entspricht dem Extrakt des Hungerhundes von Friedemann.

Versuch 5.

Interessant ist es, daß im Pankreas dreier neugeborener Hunde aus einem Wurf, die noch keine Nahrung aufgenommen hatten, deren Pankreas also auch noch nicht funktioniert hatte, weder in den sofort noch in den nach 24 Stunden (Zimmer-temperatur) hergestellten Extrakten ein Hämolsin zu finden war.

Wegen der Kleinheit des Pankreas waren die Drüsen aller 3 Hunde zusammen in der üblichen Weise verarbeitet worden.

Hund	Hungerzeit	Fütterung	Dauer	sofort	nach 3 St.	nach 24 St.
1	24 Stunden	—	—	0,03	0,008	0,01
2	3 ¹ / ₂ Tage	—	—	0,045	0,02	0,02
3	6 Tage	—	—	0,25	0	0,045
4	6 Tage	—	—	0	0	0
5	neugeborene Hunde	—	—	0	0	0

Man sieht aus den vorhergehenden Versuchen, daß beim Hungerhund alle drei Typen vorkommen können. In Versuch 1 und 2 war sofort und nach Autodigestion Hämolsin vorhanden. In Versuch 3 waren sofort Spuren, nach 24 Stunden Autodigestion eine reichliche Menge Hämolsin nachzuweisen. Dagegen fand sich bei Versuch 4 und 5 weder primär noch nach Autolyse ein Hämolsin.

Als ich nun weiter versuchte, bei Hunden, die mit einheitlicher Nahrung gefüttert waren, den Einfluß dieser Ernährung auf die Hämolsinbildung zu untersuchen, fand ich ebenfalls ein wechselndes Verhalten.

Ich erwähne hier als 1. Versuch einen Versuch, der in der Arbeit von Morgenroth und Schäfer als Versuch 6 schon ausführlich mitgeteilt ist, nochmals summarisch.

Versuch 6.

Als ich einen Hund mit 250 g rohem Pferdefleisch fütterte und ihn ¹/₂ Stunde danach tötete, fand ich 0,03 ccm Extrakt des sofort und nach 3 Stunden verarbeiteten Pankreas komplett lösend.

Anders liegen die Verhältnisse bei folgendem Versuch.

Versuch 7.

Ein weiblicher, ausgewachsener Terrier erhält 3 Tage lang ausschließlich Pferdefleisch, das von anhaftendem Fett möglichst befreit ist.

Am 4. Morgen wird er eine Stunde nach Fütterung von 500 g ebensolchem Pferdefleisch getötet. Gewicht 6000 g. Pankreas 18 g.

I. Sofort	II. Nach 3 Stunden.	III. Nach 24 Stunden.
0,25 Spürchen, Kuppe	0,25 Spürchen, Kuppe	0,25
1,0 ¹ / ₁₀ } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0 0,15 } 1,0 ¹ / ₁₀₀ } 0,6 } 0 }	1,0 ¹ / ₁₀ } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0 0,15 } 1,0 ¹ / ₁₀₀ } 0,6 } 0 }	1,0 ¹ / ₁₀ } 0,8 } komplett 0,6 } 0,45 } 0,3 komplett, Zone 0,15 Spur, Kuppe 1,0 ¹ / ₁₀₀ Spürchen, Kuppe 0,6 } 0 0 }

Bei diesem Versuch ist also weder sofort ein Hämolymin nachweisbar noch tritt es nach Autodigestion nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur in Erscheinung. Wohl aber ist nach 24 stündiger Autodigestion eine reichliche Menge Hämolymin vorhanden.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei folgendem Versuch.

Versuch 8.

Ein männlicher Terrier erhält 6 Tage lang rohes, fettarmes Pferdefleisch. Am 7. Morgen wird er $\frac{1}{2}$ Stunde nach einer Fütterung von 250 g entblutet. Pankreas 27 g schwer.

I. Sofort.	II. Nach 3 ¹ / ₂ Stunden.	III. Nach 24 Stunden.
0,25 mäßig	0,25	0,25
1,0 ¹ / ₁₀ } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 }	1,0 ¹ / ₁₀ } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 }	1,0 ¹ / ₁₀ } komplett 0,8 } 0,6 fast komplett 0,45 Spur, Kuppe 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 0 }

Auch bei diesem Hund tritt das Hämolymin erst nach 24 stündiger Autodigestion (Zimmertemperatur) in Erscheinung. Die Menge ist geringer als bei Versuch 7.

Ein anderes Verhalten sieht man in Versuch 9.

Versuch 9.

Ein ca. 1 Jahr alter männlicher Terrier hungert 3 Tage, erhält am 4. Morgen 250 g rohes, fettarmes Pferdefleisch und wird 5 Stunden danach entblutet. Gewicht 5550 g. Gewicht des Pankreas 14,5 g.

I. Sofort.	I. Nach 2 Stunden.	III. Nach 24 Stunden.
0,25 Spürchen	0,25	0,25 fast komplett
1,0 ^{1/10} } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 }	1,0 ^{1/10} } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 }	1,0 ^{1/10} } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0,2 } 0,1 } 0 }

Bei diesem Versuch 9 ist wohl kaum ein Einfluß der Autodigestion zu konstatieren.

Besondere Verhältnisse finden wir bei folgendem Versuch.

Versuch 10.

Hungert 18 Stunden, erhält dann 500 g rohes Pferdefleisch und wird 1 Stunde darauf in Athernarkose aus der Femoralis entblutet. Gewicht 6300 g. Pankreas 18 g.

6 g Pankreas werden sofort, 6 g nach einer Stunde und 6 g nach 3 Stunden verarbeitet.

I. Sofort.	II. Nach 1 Stunde.	III. Nach 3 Stunden.
0,5 } 0,25 } 1,0 ^{1/10} } 0,8 } 0,6 etwas gelblich } 0,45 } 0,3 } 0 }	0,5 } 0,25 } 1,0 ^{1/10} mäßig } 0,8 } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0 }	0,5 } 0,25 } 1,0 ^{1/10} } 0,8 mäßig } 0,6 } 0,45 } 0,3 } 0 }

Sofort ist also eine reichliche Hämolysinmenge vorhanden, nach 1 Stunde hat dieselbe stark abgenommen, um nach 3 Stunden wieder an Menge zuzunehmen.

Hund	Hungerzeit	Fütterung	getötet	sofort	nach 3 St.	nach 24 St.
6	—	1 mal rohes Pferdefleisch. 250 g.	1/2 St. p. c.	0,03	0,03	—
7	—	3 Tagerohes Pferdefleisch	4. Morgen 500 g 1 St. p. c.	0	0	0,03
8	—	6 Tage fettarmes Pferdefleisch	7. Morgen 250 g 1/2 St. p. c.	0	n. 3 1/2 St. 0	0,08
9	3 Tage	1 mal 200 g fettarmes Pferdefleisch	5 St. p. c.	0	0	Spuren
10	18 St.	1 mal 500 g Pferdefleisch	1 St. p. c.	0,08	n. 1 St. 0,25	n. 3 St. 0,1

Nach Fütterung mit fettarmem Pferdefleisch war ein einheitliches Resultat nicht zu konstatieren. Ein Hund, der nach 3 tägigem Hungern 200 g Pferdefleisch erhielt und 5 Stunden nach dem Füttern getötet wurde, hatte primär kein Hämolyisin, und auch nach 24 Stunden Autodigestion war nur eine Spur zu finden. 2 andere Hunde, von denen einer 3 Tage, der andere 6 Tage lang ausschließlich Pferdefleisch erhalten hatte, hatten primär und nach 3 Stunden kein Hämolyisin, nach 24-stündiger Autodigestion dagegen eine erhebliche Menge.

Von den beiden Hunden, bei denen sich primär erhebliche Mengen von Hämolyisin nachweisen ließen, hatte der eine nach 18 Stunden Hungerzeit 1mal eine sehr reichliche Fleischfütterung bekommen, der andere war ohne vorheriges Hungern mit Pferdefleisch gefüttert worden.

Irgendein Einfluß der Zeit der Entblutung nach der Nahrungsaufnahme war nicht zu konstatieren.

Bei Hund 10 fiel mir nun das merkwürdige Verhalten auf, daß das nach einiger Zeit Autodigestion zu Extrakt verarbeitete Pankreas weniger Hämolyisin enthielt als das sofort und nach längerer Zeit verarbeitete. In geringerem Umfange, teilweise nur angedeutet, findet sich dasselbe Verhalten bei 3 Hunden (3, 8, 9).

Dieses Verhalten legte nun die Frage nahe, ob etwa das nach Autodigestion gefundene Hämolyisin von dem, das primär in den Pankreasdrüsen nachzuweisen war, verschieden sei.

Als ich die weiteren Versuchstiere mit verschiedenen Nahrungsmitteln fütterte und in wechselnder Zeit nach der Nahrungsaufnahme entblutete, fand ich ein sehr verschiedenes Verhalten der in der üblichen Weise hergestellten alkoholischen Pankreasextrakte.

Da es zu weit führen würde, sämtliche Versuche ausführlich anzuführen, gebe ich die Resultate in Form von Tabellen wieder.

Zuerst fütterte ich mit Kartoffeln. In der folgenden Tabelle finden sich die Ergebnisse.

Bei Hund 11, der neben Kartoffeln und Leguminosen auch 3 Tage lang Fett erhalten hatte, fand sich sofort eine reichliche Menge Hämolyisin, die nach 3 Stunden abnahm, um nach 24 Stunden wieder die ursprüngliche Höhe zu erreichen.

Bei ausschließlicher, mehrtägiger Kartoffelfütterung war sofort eine reichliche Menge Hämolysin zu finden, die sich nach $3\frac{1}{2}$ stündiger Autodigestion noch erheblich gesteigert hatte, um nach 24 stündiger sich auf derselben Höhe zu halten.

Hund	Hungerzeit	Fütterung	Dauer	ge-tötet	so-fort ¹⁾	nach 3 St.	nach 24 St.
11	0	gekochte Kartoffeln, Leguminosen, Fett	3 Tage, am 4. früh reichlich	1 St. p. c.	0,03	0,06	0,03
12	0	gekochte Kartoffeln	6 Tage, am 7. früh reichlich	$\frac{1}{2}$ St. p. c.	0,08	n. $3\frac{1}{2}$ St. 0,02	0,02
13	3 Tage	gekochte Kartoffeln	1 mal reichlich.	5 St. p. c.	0	0,25	0,08

Als Hund 13 nach 3 tägigem Hungern 1 mal ausschließlich mit Kartoffeln gefüttert wurde, konnte im Pankreas sofort kein Hämolysin nachgewiesen werden, nach 3 Stunden trat eine geringe Menge auf, die nach 24 stündiger Autodigestion eine beträchtliche Steigerung erfuhr.

Reines Olivenöl vertrugen die Versuchshunde sehr schlecht; schon nach einigen Tagen treten Durchfälle auf, die Hunde magern ab und erscheinen krank.

Hund	Hungerzeit	Fütterung	Dauer	ge-tötet	sofort	nach 3 St.	nach 24 St.
14	0	Olivenöl	3 Tage, am 4. früh 250 g	$\frac{1}{2}$ St. p. c.	0,25	0,03	0,02
15	0	Olivenöl	3 Tage, am 4. früh 250 g	1 St. p. c.	0,045	0	0,1
16	0	Olivenöl	6 Tage, am 7. früh 250 g	$\frac{1}{2}$ St. p. c.	0	n. $3\frac{1}{2}$ St. 0,045	nicht geprüft
17	3 Tage	Olivenöl	1 mal 250 g	5 St. p. c.	0	n. 2 St. 0,045	0,03

Auch bei reiner Ölfütterung sieht man wechselnde Ergebnisse. Hund 16 mit mehrtägiger Fütterung hat primär 0, Hund 13 eine geringe Menge Hämolysin; nach 3 resp. $3\frac{1}{2}$ Stunden haben beide eine beträchtliche Menge, die einmal nach 24 stündiger Autodigestion noch weiter ansteigt. Hund 15 hat primär eine erhebliche Menge Hämolysin, deren Nachweis nach

¹⁾ Die Zahlen geben die komplett lösenden Dosen an.

3 stündiger Autodigestion nicht mehr möglich ist. Wohl aber tritt nach 24 Stunden Autodigestion wieder eine größere Menge Hämolysin auf.

Der Hungerhund 17, der 1 mal mit 250 g gefüttert und nach 5 Stunden getötet ist, hat das Öl teilweise gut verdaut. Ein Teil befindet sich bei der Sektion noch im Magen, die Chylusgefäße sind strotzend gefüllt. Im sofort verarbeiteten Pankreas ist kein Hämolysin nachzuweisen, schon nach 2 stündiger Autodigestion ist eine beträchtliche Menge vorhanden, die nach weiterer Autodigestion nach 24 Stunden einen noch höheren Wert erreicht.

Also auch bei reiner Ölfütterung sind keine eindeutigen Ergebnisse zu finden.

Bei Fütterung mit Vollmilch, die anstatt der reizenden Ölnahrung als Fettnahrung zugeführt wurde, zeigte sich folgendes Verhalten:

Hund	Hungerzeit	Nahrung	Dauer	ge- tötet	sofort	nach 3 St.	nach 24 St.
18	3 Tage	Vollmilch	1 mal 500 g	$\frac{3}{4}$ St. p. c.	0	0	0,03
19	3 Tage (aber Wasser)	Vollmilch	1 mal 500 g	$1\frac{3}{4}$ St. p. c.	0	0	0,06
20	6 Tage (aber Wasser)	Vollmilch	1 mal 500 g	$3\frac{1}{2}$ St. p. c.	0	0	0,08
21	60 Stunden	Vollmilch	1 mal 500 g	4 St. p. c.	0,08	0,25	0,03
22	6 Tage (aber Wasser)	Vollmilch	1 mal 500 g	5 St. p. c.	0,02	0,045	0,02
23	60 Stunden	Vollmilch	1 mal 500 g	$6\frac{1}{2}$ St. p. c.	0,25	0,25	0,045

In diesen Parallelversuchen wurde vor allem auf die zeitlichen Verhältnisse geachtet. Nach mehrtägigem Hungern wurden die Hunde nach einmaliger Nahrungsaufnahme zu verschiedenen Zeiten entblutet. $\frac{3}{4}$ Stunden (Hund 18), $1\frac{3}{4}$ Stunden (Hund 19) und $3\frac{1}{2}$ Stunden (Hund 20) nach der Nahrungsaufnahme war primär, und nach 3 Stunden Autodigestion Hämolysin nicht nachweisbar. Dagegen wurden nach 24 stündiger Autodigestion reichliche Mengen von Hämolysin gefunden. Hund 21 zeigte 4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme eine größere Menge Hämolysin, das nach 3 Stunden Autodigestion wieder ab-

genommen hatte, um nach 24 Stunden ganz erheblich anzu-
steigen. Bei Hund 22 liegen die Verhältnisse anders. Hier ist
5 Stunden nach der Nahrungsaufnahme in dem sofort und in
dem nach 24 Stunden verarbeiteten Pankreas eine sehr große
Menge Hämolysin zu finden, während nach 3 stündiger Auto-
digestion die Hämolysinmenge geringer ist. $6\frac{1}{2}$ Stunden nach
der Nahrungsaufnahme (Hund 23) sind sofort und nach $3\frac{1}{2}$ stün-
diger Autodigestion nur Spuren von Hämolysin zu finden, wohl
aber eine reichliche Menge nach 24 stündiger Autodigestion.

3 weitere Hungerhunde wurden mit Schweinefett gefüttert
und in wechselnder Zeit entblutet.

Hund	Hunger- zeit	Nah- rung	Dauer	getötet	sofort	nach 3 St.	nach 24 St.	
24	$3\frac{1}{2}$ Tage	Adeps suilli	1 mal 200 g	$1\frac{1}{4}$ St. p. c.	0,08	0,03	0,08	Fett im Magen flüssig
25	$3\frac{1}{2}$ Tage	Adeps suilli	1 mal 200 g	$2\frac{1}{2}$ St. p. c.	0	0	0	Magen fast leer, Chylusgefäße strotzend
26	$3\frac{1}{2}$ Tage	Adeps suilli	1 mal 200 g	$3\frac{1}{2}$ St. p. c.	0	0,1	0,03	Fett im Magen flüssig, Chylus- gefäße strot- zend

$1\frac{1}{4}$ Stunden nach der Fütterung (Hund 24) war sofort und
nach 24 Stunden eine erhebliche Menge Hämolysin zu finden,
eine ganz erhebliche Steigerung aber nach 3 stündiger Auto-
digestion zu konstatieren. Bei Hund 25, bei dem die Ver-
dauung wohl schon vollendet war, wurde weder primär, noch
nach Autolyse ein Hämolysin gefunden. Bei Hund 26 war im
sofort verarbeiteten Pankreas kein Hämolysin nachweisbar, eine
mäßige Menge nach 3 stündiger, eine erhebliche Menge nach
24 stündiger Autodigestion.

Betrachtet man die Resultate dieser Fütterungsversuche,
so sieht man nirgends eine Gesetzmäßigkeit. Das primäre
Hämolysin läßt sich unabhängig von der Nahrungsaufnahme
und somit auch von der Funktion der Drüse nachweisen. Auch
bei Hungerhunden ist es zu finden. Auch die Länge der Ver-
dauungszeit hat offenbar keinen Einfluß. Andererseits findet
man gleiche Verhältnisse bei einem Hungerhund und einem mit
Schweinefett einmal gefütterten Hund insofern, als bei beiden

weder in dem sofort, noch nach 3- und 24ständiger Autodigestion im Pankreas ein Hämolysin zu finden ist.

Abgesehen nun von den beiden Fällen 3 und 10, die mich auf den Gedanken brachten, daß das primäre Hämolysin verschieden sein könnte von dem durch Autodigestion entstehenden, konnte ich dasselbe Verhalten noch bei 4 meiner Fütterungstiere feststellen (12, 15, 21, 22).

Im Gegensatz zu Friedemann finde ich also in meinen Versuchen, daß sowohl beim gefütterten Hund als auch beim hungernden primär Hämolysin in dem sofort nach dem Tode entnommenen Pankreas durch Alkoholextraktion nachzuweisen ist. (Vgl. 1, 2, 3, 6, 9, 11, 12, 14, 15, 21, 22, 23, 24.) In vielen Fällen tritt die auch von Friedemann beobachtete, durch die Autodigestion entstehende Hämolysinbildung, bzw. Verstärkung deutlich zutage (vgl. 2, 3, 7, 8, 11, 13, 14, 17, 19, 20, 21, 23, 26). In Fall 24 ist sofort 0,08, nach 3ständiger Autodigestion 0,03, nach 24 Stunden 0,08 Hämolysin vorhanden. Mir scheint es wahrscheinlich, daß das primär in den Drüsenzellen vorhandene Hämolysin in diesem Falle noch nicht verschwunden war, als das durch die Autodigestion entstehende in Erscheinung trat, so daß es sich im vorliegenden Falle vielleicht um eine Summation beider handelt, während nach 24 Stunden nur das durch die Autodigestion entstandene Hämolysin in Erscheinung tritt.

III.

Endlich möchte ich noch kurz über einige Versuche berichten, die von einer offenbar nicht zutreffenden Voraussetzung aus angestellt wurden, jedoch immerhin wohl mitteilenswerte Resultate ergaben. Gleichzeitig mit den im vorausgehenden beschriebenen Versuchen, den möglichen Ursprung der Pankreas-hämolysine aus den Hauptbestandteilen der Nahrung oder seinen Zusammenhang mit der Funktion des Pankreas zu ermitteln, versuchte ich festzustellen, ob etwa direkt in den Kreislauf eingebrachte Seife als Hämolysin im Pankreas wieder erscheint, mit anderen Worten, ob das Pankreas ein Depot bildet, das Seife aus der Blutbahn aufnimmt. Für ein solches wird von mehreren Seiten die Leber angesehen¹⁾; das Fehlen eines Häm-

¹⁾ S. über die einschlägigen Verhältnisse: J. Munk, in Asher-Spiro, Ergebnisse 1, 1902.

lysins gerade in diesem Organ wäre dann auf eine besondere Art der Seifenbindung, resp. auf Fettbildung aus derselben — im Gegensatz zu anderen Organen — zurückzuführen. Wir wollen gleich vorausschicken, daß unser Resultat in dieser Richtung völlig negativ war; die mit Seife injizierten Hunde, die vorher gehungert hatten, boten nur minimale oder gar keine Hämolyse durch Pankreasextrakt. Dagegen fanden wir in Übereinstimmung mit J. Munk und anderen, daß die Seife mit größter Schnelligkeit aus der Blutbahn verschwindet, und wir führen die diesbezüglichen Versuche besonders der einfachen Methodik wegen hier an.

Bekanntlich (Noguchi, v. Liebermann) übt das Serum eine sehr erhebliche Schutzwirkung gegen die durch Seifen hervorgebrachte Hämolyse aus; sowie Seife nach vorausgegangener venöser Injektion derselben im Serum gelöst ist, müßte diese Schutzkraft entsprechend sinken, wie durch einfache Reagensglasversuche festzustellen wäre. Wie aus dem folgenden ersichtlich, ist das schnelle Verschwinden der injizierten Seife aus dem Blute durch diese Methode in leichtester und einfachster Weise zu zeigen.

Ich injizierte einem Hunde, der 5 Tage gehungert hatte, 100 ccm einer 2^o/_oigen Lösung von Natr. oleinicum in Aqua destillata in die Vena femoralis. Der Hund stirbt am Schlusse der Injektion unter dem Bilde der Erstickung. Im Herzen findet sich eine große Menge Blut, das in 5^o/_oiger Kochsalzaufschwemmung vollkommen hämolytisch ist.

Das Pankreas wird in der üblichen Weise verarbeitet. Weder in dem sofort, noch nach 2, noch nach 24 Stunden hergestellten alkoholischen Extrakt war ein Hämolysin nachweisbar.

Einem anderen Hunde, der 6 Tage gehungert hat, werden 100 ccm einer 1^o/_oigen Lösung von Natr. oleinicum in Kochsalzlösung in der Zeit von ³/₄ Stunden mit stets gleichem Druck in die Vena femoralis injiziert. Er befindet sich nach der Injektion wohl, 1 Stunde nach beendeter Injektion aus der Art. femoralis entblutet. Im Pankreas ist weder sofort, noch nach 3 Stunden Hämolysin nachzuweisen, nach 24 Stunden Autodigestion wird eine geringe Menge gefunden. Im Pankreas

wurde also keine Vermehrung der hämolytischen Substanzen gefunden.

Um nun den Seifengehalt des Serums zu bestimmen, prüfte ich die hämolytische Wirkung von aktivem Hundeserum, das vor der Injektion gewonnen war, gleichzeitig mit dem, das nach dem Entbluten gewonnen wurde. Geprüft wurde mit 1 ccm von 5^o/_oigem, 1 mal gewaschenem Meerschweinchenblut.

I. Serum vor der Injektion.		II. Serum nach der Injektion.
1. 0,35	}	1.)
2. 0,25		2.)
3. 0,2		3.)
4. 0,15		4.)
5. 0,1		5.)
6. 0,075		6. fast komplett
7. 0,05		7. mäßig
8. 0,025		8. Spur, diffus
9. 0		9. 0

Das aktive Hundeserum nach der Seifeninjektion zeigte sich also nur um ein ganz Geringes stärker hämolytisch als das normale Serum des Hungerhundes.

Weiter wurde dann die Fähigkeit des Serums geprüft, die Seifenhämolysen zu hemmen.

Folgender Versuch zur Erläuterung.

1. Normales Serum (vor der Injektion), inaktiv = 0,15 ccm.
2. Hundeserum, 1 Stunde nach der Injektion gewonnen, inaktiv = 0,15 ccm.

Natrium oleicum, 1^o/_oig in Kochsalzlösung; Ziegenblut, einmal gewaschen, 5^o/_oig = 1 ccm.

Serum + Seifenlösung werden gemischt, dann wird sofort Blut zugesetzt.

I. Normales Serum.		II. Serum nach der Injektion.
1. 0,2	}	1. 0,2
3. 0,15		2. 0,15
3. 0,1		3. 0,1
4. 0,075		4. 0,075
5. 0,05		5. 0,05 minimal Spürohen, Kuppe
6. 0,035	}	6. 0,035
7. 0		7. 0

Der Parallelversuch, in dem Serum + Seifenlösung, gemischt, dann gut geschüttelt und dann Blut zugesetzt wurde, ergab das gleiche Resultat.

I. Normales Serum.

1. 0,1	} komplett
2. 0,09	
3. 0,08	
4. 0,07	Spur, Kuppe
5. 0,06	Spürohen, Kuppe
6. 0,055	} 0
7. 0	

II. Serum nach der Injektion.

1. 0,1	} komplett
2. 0,09	
3. 0,08	
4. 0,07	
5. 0,06	Spur, Kuppe
6. 0,055	} 0
7. 0	

Die hämolytische Kontrolle mit der verwendeten 1%igen Seifenlösung allein, anstatt Serum 0,15 ccm Kochsalzlösung, ergab, daß 0,005 ccm Seifenlösung 1 ccm des verwendeten Ziegenblutes löste.

Die Unterschiede der Hemmungsfähigkeit des vor und des nach der Injektion entnommenen Serums sind demnach äußerst gering. Die injizierte Seife ist also weder im Pankreas, noch im Blute nachzuweisen.

Bei zwei weiteren Versuchshunden fand ich in analogen Versuchen dasselbe Verhalten. Einmal injizierte ich 100 ccm 1%iger Seifenlösung in Kochsalzlösung intravenös innerhalb 5 Minuten und entblutete den Hund 10 Minuten nach der Injektion aus der Arteria femoralis. Der Extrakt des sofort verarbeiteten Pankreas war nur in Mengen von 0,25 ccm komplett hämolysierend.

Das aktive, durch Entbluten vor und nach der Injektion gewonnene Hundeserum zeigte (Meerschweinchenblut) dieselbe hämolytische Fähigkeit. Beiderseits löste 0,15 ccm Serum komplett. 1 ccm 1 mal gewaschenes 5%iges Kaninchenblut wurde von beiden Sera in Mengen von 0,25 ccm komplett gelöst. Auch die die Seifenhämolyse hemmende Wirkung des inaktivierten Hundeserums war die gleiche. Die Seifenlösung und das Serum wurden hier gemischt, geschüttelt, standen $\frac{1}{4}$ Stunde bei Zimmertemperatur, dann wurde erst das Blut zugesetzt. Hier wurde durch 0,15 ccm normales Serum 0,05 ccm 1%ige Seifenlösung gebunden, während durch 0,15 ccm des nach der Injektion gewonnenen Serums die Wirkung von 0,055 ccm 1%iger Seifenlösung aufgehoben wurde.

Bei dem anderen Hunde, 4800 g schwer, gelang es mir, 100 ccm einer 2%igen Seifenlösung in Kochsalzlösung in ca. 10 Minuten intravenös zu injizieren. Der Hund wird 10 Minuten nach Beendigung der Injektion entblutet. In der Blase wenig hämorrhagischer Urin.

Das Serum, das vor der Injektion gewonnen wurde, ist etwas gelblich, das durch das Entbluten gewonnene stark rot. Beide verhalten sich wieder, aktiv auf Kaninchenblut geprüft, gleich: 0,35 ccm löst 1 ccm 5%iges, 1 mal gewaschenes Kaninchenblut komplett. Auch die hemmende Wirkung des inaktiven Serums auf Seifenhämolyse zeigt keine nennenswerten Unterschiede.

Es gelingt also, Hunden eine große Seifenmenge intravenös zu injizieren, deren Verschwinden nach kurzer Zeit durch unser Verfahren in einfachster Weise nachzuweisen ist.

Zusammenfassung.

Nach unseren früheren Versuchen ist das wirksame Prinzip der hämolytischen Organextrakte in Seifen oder seifenähnlichen Substanzen zu suchen. Wir stellten nämlich fest, daß Gemische von indifferenten Eiweißcoagula und Seife nach demselben Mechanismus wirken wie die Organextrakte.

I. Durch Zusatz von Seife zu den Organextrakten wird der Mechanismus der Organextrakt-Hämolyse nicht verändert, die Seife wird in derselben Weise an Blut abgegeben wie das ursprüngliche Hämolysin.

II. An Stelle der Seifen kommen nach Friedemann Toxolecithide in Frage. Die angegebenen Versuche zeigen, daß dieser Annahme der Mechanismus der Hämolyse nicht im Wege steht. Toxolecithide verhalten sich im wesentlichen wie Seife.

III. Beim Hungerhund kann Hämolysin im Pankreas völlig fehlen, aber es kann auch primär und nach Lagern bei Zimmertemperatur vorkommen.

IV. In zahlreichen Fällen ist ein deutlicher Einfluß der Autodigestion auf das Auftreten des Hämolysins zu konstatieren.

V. Wahrscheinlich ist das primäre Hämolysin verschieden von dem durch Autodigestion entstandenen.

VI. Die Art der Fütterung, sowie die Verdauungszeiten nach der Fütterung sind offenbar ohne Einfluß auf die Hämolysinbildung im Pankreas.

VII. Bei Injektion von Seifenlösung in die Blutbahn ist schon nach kurzer Zeit die Seife nicht mehr im Blute der Versuchstiere nachzuweisen, ebensowenig im Pankreas.

Über den Einfluß des Lecithins auf die Resorption der Haut.

Von
S. Borschim.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 23. Juli 1911.)

Die zahlreichen Forschungen über die Natur des Lecithins und seine biologische und therapeutische Bedeutung deuten auf das hervorragende wissenschaftliche Interesse dieses Stoffes hin.

Das verbreitete Vorkommen der Lecithine im Pflanzen- und Tierreiche bezeugt ihre hohe physiologische Bedeutung.

Das Lecithin findet sich in fast allen bisher darauf untersuchten einzelligen und hoch entwickelten tierischen und pflanzlichen Organismen.

Zahlreiche Forscher berichten über die hohe Bedeutung der Lecithine für die Entwicklung und das Wachstum der lebenden Organismen.

Nach Overton¹⁾ gehört das Lecithin zu den Stoffen, die die sog. Plasmahaut der Zelle bilden; und nur solche Stoffe, die sich in ihm lösen, sollen dieser Theorie nach unmittelbar durch Osmose in die Zelle eintreten können.

Overton und H. Meyer berichten über die Bedeutung der Lipoide für die physiko-chemischen Vorgänge in der Zelle und versuchten ihre Theorie der Narkose auf der mechanischen Affinität der Narkotica zum Cholesterin oder Lecithin des Gehirngewebes zu begründen.

Henri de Waele²⁾ berichtet über den günstigen Einfluß geringer Lecithinmengen auf die Alkaloidwirkung und erklärt denselben durch das

¹⁾ Overton, Studien über die Narkose, Jena 1901.

²⁾ Henri de Waele, Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experim. Therap., Orig.-Bd. 3, Teil 1, Heft 5, 1909.

Vermögen der Lipide, die eingeführten Alkaloide zu lösen und die Aufnahme derselben zu erleichtern. Das weitere Lipidstudium wird vielleicht so manche jetzt noch unverständlichen und komplizierten Vorgänge im lebenden Organismus aufklären.

Der jetzt herrschenden Ansicht nach gehört die Haut zu den ausscheidenden und nicht aufnehmenden Organen; sie kann aber unter gewissen Bedingungen aufnahmefähig werden.

Einerseits wird die Resorption durch die Haut für zweifelhaft gehalten, andererseits zeigen uns vielseitige Beobachtungen, daß in die Haut eingeriebene Fettstoffe vom Organismus aufgenommen werden.

In der bevorstehenden Mitteilung will ich über die auf Frau Dr. N. Siebers Vorschlag hin angestellten Versuche und Beobachtungen über die Rolle des Lecithins bei der Resorption der Haut berichten.

Der Zweck unserer Untersuchung war, den Einfluß des Lecithins, das in verschiedener Form in die Haut eingerieben wurde, auf die Resorption chemisch verschiedener Körper durch die Haut kennen zu lernen und festzustellen, unter welchen Bedingungen dieser oder jener Einfluß des Lecithins stattfinden kann.

Als Versuchstiere dienten große und vollständig gesunde Kaninchen.

Das Rasieren der für den Versuch bestimmten Hautoberfläche erwies sich als sehr unbequem, weil das vollständige Entfernen der Haare niemals erreicht werden konnte und die zarte Haut oft unwillkürlich verwundet wurde. In Dr. Thomsons Poudre depilatoire fanden wir ein vorzügliches Mittel zur Entfernung der Haare. Dieses Pulver besteht wohl offenbar aus Calciumhydrosulfid, das von Prof. P. H. Römer und Rud. Samogyi¹⁾ zum selben Zweck verwandt wurde.

Das Entfernen der Haare geschah folgenderweise: Das in einem Gestell auf dem Rücken befestigte Kaninchen wurde in der Bauchgegend auf der Strecke eines ovalen Kreises von 11 und 7 cm im Diameter mit einer krummen Schere kurz geschoren und dieser Kreis mit 1,5 bis 2,0 g des mit Wasser zu einer weichen Paste verriebenen Depilatoriums bedeckt.

¹⁾ Römer und Samogyi, Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experim. Therap., Orig.-Bd. 3, Teil I, Heft 5, 1909.

Nach 5 Minuten langer Wirkung wurde die Paste mit warmem Wasser entfernt, die Haut gut gewaschen und mit Glycerin oder Vaseline leicht bedeckt. Durch eine histologische Untersuchung überzeugten wir uns, daß auf diese Weise das vollständige Entfernen der Haare ohne jegliche Verletzung der Haut gelang. Nach Schluß unserer Versuche wurde nämlich die Haut eines Versuchskaninchens zu mikrotomischen Schnitten präpariert, d. h. mehrere Tage mit der Flüssigkeit „Helly“ bearbeitet, in Paraffin eingebettet und die Schnitte mit Pikrocarmin nach der in Kahldens¹⁾ „Technik der histologischen Untersuchungen“ angegebenen Methode gefärbt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Schnitte erwies sich das histologisch vollständig normale Bild mit den dicht an der Haut unegal hervorstehenden Haaren. Ein mehr als 5 Minuten dauernder Einfluß des Depilatoriums rief öfters eine Hautreizung hervor, und dann waren 6 bis 10 Tage zur vollständigen Erholung oder zum Verschwinden des bisweilen aufgetretenen Ekzems nötig.

Die Einreibung des Lecithins geschah niemals gleich nach Entfernen der Haare, sondern gewöhnlich erst nach 18 bis 20 Stunden, wo die Haut sich vollständig erholt hatte und ein jeder Reiz vorüber war.

Zu unseren Versuchen dienten folgende Lecithinpräparate:

1. Lecithin „Agfa“ per se.
2. Huile léocithinée à 10%, Laboratoire Clin.²⁾
3. Emulsion 10%, stérile d'ovoléocithine Billon d'après Nerking (Poulenc Frères, Paris).

Das reine Lecithin eignete sich seiner zähen Konsistenz wegen nicht zum Einreiben und deshalb benutzten wir hauptsächlich die Lecithinemulsion von Billon, da das von uns erwähnte Präparat von Clin eine Öllösung darstellte. Um diesen oder jenen Lecithineinfluß auf die Hautresorption nachzuweisen, wählten wir zu pharmakologisch verschiedenen Gruppen gehörige Verbindungen, deren Nachweis im Harn möglich ist, wie Jodkalium (50%ige Wasserlösung), Traubenzucker, Salicyl-

¹⁾ Kahlden, Technik der histologischen Untersuchung, Jena 1898.

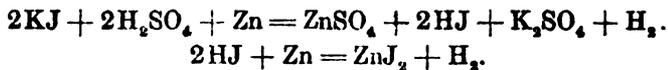
²⁾ Der Firma Clin in Paris sage ich auch an dieser Stelle im Namen des Laboratoriums den besten Dank für das zur Verfügung gestellte Öllecithin.

säure (gesättigte wässrige Lösung), schwefelsaures Eserin (0,2%ige und 1,2%ige wässrige Lösung). Zum selben Zweck benutzten wir außerdem das jedesmal ex tempore gelöste trockene Tetanustoxin (0,01 g in 10 ccm 0,85 NaCl-Lösung).

Das Lecithin wurde den im Apparat „Latapie“ liegenden Versuchskaninchen auf der früher enthaarten Stelle eingerieben und dann das Jodkalium oder eine andere Lösung gleichmäßig auf der Fläche des ovalen Kreises verteilt. Nach 25 bis 40 Minuten war die Haut vollkommen trocken und das Kaninchen wurde dann in einem Käfig, der mit einem unten stehenden Becher zur Harnaufnahme versehen war, placiert.

Es erwies sich, daß die gesamte Jodmenge sich in 8 bis 10 Tagen ausschied und in den folgenden Tagen niemals Jodspuren nachweisbar waren; deshalb wurde die Jodbestimmung in der Gesamtmenge des im Laufe von 10 Tagen gesammelten Harns ausgeführt, wobei ein jeder Versuch begleitet war von einer Jodbestimmung im Harn des 11. Tages, die aber ausnahmslos negativ ausfiel. Die Jodbestimmung geschah im Anfang unserer Versuche nach der Rabourdinischen¹⁾ Methode, wobei wir die von dem Autor benutzten Silbertiegel durch Nickel- und Quarzschalen ersetzten. Das Veraschen ging ziemlich schnell, leider wurden dabei aber hauptsächlich die Quarzschalen durch KOH stark angegriffen.

In späteren Versuchen wurde die Jodbestimmung nach der von Paolini²⁾ beschriebenen Methode ausgeführt. Diese Methode gibt genaue Resultate und ist leichter ausführbar. Sie besteht darin, daß der in statu nascendi entstehende Wasserstoff die organischen Bestandteile des Harns zerstört oder zersetzt und sich mit dem Jod laut folgender Formel verbindet:



Das von Paolini oben beschriebene Verfahren wurde von uns etwas modifiziert und die Bestimmung folgenderweise ausgeführt:

10 ccm des mit 60 ccm Wasser verdünnten Harns wurden in einem 300 ccm fassenden Kolben mit 40 g Zinkstaub gemischt

¹⁾ Zitiert nach Baumann-Roos, Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 489.

²⁾ Paolini, Arch. di Farmacolog. sperim. e scienze off. 9, 280, 1910.

und konzentrierte (95,6%ige) Schwefelsäure bis 25% (Volum) hinzugegossen (25% berechnet auf den Gesamthalt des Kolbens).

Der mit einem Korken und $\frac{3}{4}$ m langem Glasrohr versehene Kolben wurde bis zur vollständigen Entfärbung des Inhalts, gewöhnlich auf 6 bis 8 Stunden, in ein Wasserbad gestellt, dann filtriert, der Zinküberschuß sorgfältig ausgewaschen, bis das Wasser neutral abfloß, und die vereinigten Filtrate bis zu 1 l mit Wasser aufgefüllt. 200 ccm des Filtrats, entsprechend 2 ccm Harn, wurden in einem gut verschließbaren, graduierten Zylinder mit 10 ccm Schwefelkohlenstoff und 10 bis 20 Tropfen einer 10%igen Natriumnitritlösung stark ausgeschüttelt, wobei das Jod sich im Schwefelkohlenstoff löste.

In einem zweiten Zylinder wurden 10 ccm einer Jodkaliumlösung (0,1 g in 1 l destilliertem Wasser) bis 200 ccm mit Wasser verdünnt, einige Tropfen Schwefelsäure hinzugegossen und mit Natriumnitrit und Schwefelkohlenstoff in derselben Weise ausgeschüttelt.

In je 5 ccm der filtrierten Schwefelkohlenstoff-Jodlösungen wurden die Jodmengen im Colorimeter Duboscq¹⁾ bestimmt und auf die Gesamtmenge des Harns berechnet.

Ein Kontrollversuch bestätigte diese verhältnismäßig leicht ausführbare und genügend exakte Methode. Zu 10 ccm jodfreiem Harn wurden 0,001 g Jodkalium hinzugegeben und derselbe mit Zinkstaub und Schwefelsäure bearbeitet, bis auf 1 l verdünnt und in 200 ccm, entsprechend 2 ccm Harn (mit einem Gehalt von 0,0002 g KJ oder 0,00015 g J), colorimetrisch 0,00016 g KJ oder 0,00012 g J nachgewiesen.

Es handelte sich also um einen Verlust von nur 0,00003 g J oder 0,00004 g KJ.

Die in den Harn übergegangene Salicylsäure wurde nach der im König²⁾ beschriebenen Methode bestimmt, der Traubenzucker nach Worm-Müllers Methode [Hoppe-Seylers³⁾ Handbuch] und das Eserin nach Koberts⁴⁾ Lehrbuch.

¹⁾ Max Merker-Dellbruque, Branntweinbrennerei (russ. Übersetzung) 2, 1331, 1907.

²⁾ König, Chemie der Nahrungsmittel 3.

³⁾ Hoppe-Seylers Handbuch, 1909.

⁴⁾ Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, 1893.

Tabelle I.

0,25 g Jodkalium, entsprechend 0,19 g Jod, als 50%ige Lösung auf die Haut aufgetragen und dann im Harn bestimmt.

Kaninchen Nr.	Dauer des Versuchs		Die Jodmenge im Harn	
	Beginn	Schluß	in g	in % der Jodmenge (0,19 g), die auf die Haut als Jodkalium kam
5	10. XI.	18. XI.	0,09578	50,41
1	14. XII.	21. XII.	0,10904	57,38
5	11. XII.	22. XII.	0,113526	59,75
8	29. XII.	8. I.	0,126	66,31
7	8. I.	18. I.	0,1075	56,57
Im Durchschnitt			0,110369	58,08

Tabelle II.

0,02 g Lecithin als Emulsion in die Haut eingerieben und 0,25 g Jodkalium, wie bei Tabelle I beschrieben, daraufhin aufgetragen.

Kaninchen Nr.	Dauer des Versuchs		Die Jodmenge im Harn	
	Beginn	Schluß	in g	in % zur Jodmenge (0,19 g), die auf die Haut als Jodkalium kam
1	26. XI.	6. XII.	0,085763	45,13
7	1. XII.	11. XII.	0,148856	78,34
9	20. XII.	31. XII.	0,08034	42,28
3	21. XII.	31. XII.	0,111628	58,75
9	12. I.	24. I.	0,13485	70,97
Im Durchschnitt			0,112287	59,09

Tabelle III.

0,1 g Lecithin als Emulsion (Poulenc) oder Öllösung (Clin) in die Haut eingerieben und 0,25 g Jodkalium wie bei Tabelle I beschrieben aufgetragen.

Kaninchen Nr.	Dauer des Versuchs		Lecithin- form	Lecithin und Jod- kalium eingerieben oder nur aufgetragen	Die Jodmenge im Harn	
	Beginn	Schluß			in g	in % zur Jodmenge (0,19 g), die auf die Haut als Jodkalium kam
5	26. XI.	6. XII.	} Wasser- emulsion Poulenc	Lecithin eingerieben, Jodkalium tropfen- weise aufgetragen	0,039275	20,67
6	4. I.	15. I.		0,03675	19,34	
Im Durchschnitt					0,038012	20,0
3	12. I.	24. I.	} Öllösung Clin	Lecithin eingerieben, Jodkalium aufgetragen	0,098	51,57
9	16. II.	28. II.		Jodkalium mit Lecithin eingerieben	0,1155	60,78

Tabelle IV.

0,25 g Jodkalium, wie bei Tab. I beschrieben, tropfenweise auf die mit Olivenöl früher bedeckte Haut getragen oder mit Olivenöl zusammen eingerieben.

Kaninchen Nr.	Dauer des Ver- suchs		Ol und Jodkalium eingerieben oder aufgetragen	Die Jodmenge im Harn	
	Beginn	Schluß		in g	in %, zur Jodmenge (0,19 g), die auf die Haut als Jodkalium kam
5	25. I.	5. II.	Ol eingerieben, Jod- kalium aufgetragen	0,1482	78,0
9	21. II.	4. III.	Ol mit Jodkalium eingerieben	0,1134	59,68

Aus den von uns erzielten Resultaten geht hervor, daß geringe Lecithinmengen in Form einer Emulsion die Aufnahme des Jodkaliums in wässriger Lösung durch die Haut schwach günstig beeinflussen (Tab. I und II), und daß größere Mengen des Lecithins diese Aufnahme scheinbar hemmen, indem sie vielleicht eine dem Jodkalium undurchdringbare Schicht bilden (Tab. III). Olivenöl, das das Lecithin löst und überhaupt die Resorption befördert, beeinflusst hier wohl die Aufnahme dadurch, daß es das Verdunsten der Jodkaliumlösung verhindert.

Was die übrigen von uns angewandten Verbindungen anbetrifft, so gaben dieselben leider keine für unsere Jodkaliumversuche pro oder contra sprechenden Resultate.

Es gelang nicht, im Harn, sogar nach wiederholtem Einreiben (9 bis 16stündige Pausen), mit (0,02 g) oder ohne Lecithin, Traubenzucker nachzuweisen.

Ebenso konnten Salicylsäure und Eserin (0,001 g, 0,003 g, 0,006 g) auch nicht im Harn nachgewiesen werden.

Das Tetanotoxin (0,1 bis 0,25 cem einer Lösung von 0,01 in 10 cem 0,85 NaCl), auf die Haut nach einer Einwirkung von 0,02 g Lecithin getragen, blieb auch ohne jeglichen Einfluß auf das Versuchskaninchen. 0,0001 g dieses Toxins rief beim Meer-schweinchen bei subcutaner Injektion alle dieser Toxinvergiftung charakteristischen Erscheinungen hervor und wirkte letal.

Resümee.

Geringe Lecithinmengen beeinflussen die Resorption der Haut sehr wenig und nur für solche Körper, die in normalen Verhältnissen resorbierbar sind. Was die nicht resorbierbaren Stoffe anbetrifft, so scheint das Lecithin denselben gegenüber vollständig indifferent zu sein und auf die Resorption keinen Einfluß zu haben.

Über den Nachweis kleiner Arsenmengen in Harn, Blut und anderen organischen Substanzen.

Von

Georg Lockemann.

(Aus der chemischen Abteilung des kgl. Instituts für Infektionskrankheiten
in Berlin.)

(Eingegangen am 28. Juli 1911.)

Eine lange umstrittene Frage, die bald nach der vor nunmehr 75 Jahren erfolgten Veröffentlichung der klassischen Arsennachweismethode von James Marsh¹⁾ auftauchte, ist die nach dem normalen Vorkommen des Arsens im menschlichen und tierischen Organismus. Die Pariser Akademie setzte im Jahre 1840 eine besondere Kommission zur Bearbeitung dieser für die forensische Chemie in erster Linie wichtigen Frage ein, die schließlich zu dem Ergebnis kam, daß das Arsen nicht zu den normalen Bestandteilen des Organismus gehöre²⁾. Als jedoch später die Empfindlichkeit des Arsennachweises weiter gesteigert war, wurde man wieder unsicher, und die Frage des „normalen Arsens“ ist dann von verschiedenen Seiten mit wechselndem Erfolge, besonders eingehend von A. Gautier³⁾ experimentell untersucht worden.

Das Interesse an einem möglichst exakten Arsennachweis wurde andererseits vor mehreren Jahren durch das Auftreten einer Vergiftungsepidemie in England (infolge von arsenhaltigen Brauereiprodukten) wieder wachgerufen und neuerdings be-

¹⁾ Edinburgh new Philosoph. Journal, t. XXI (Oktober 1836),
Liebig's Annalen d. Pharm. 23, 207, 1837.

²⁾ Compt. rend. de l'Acad. des Scienc. 12, 1076, 1841.

³⁾ Compt. rend. de l'Acad. des Scienc. 129, 929, 936, 1899; 130, 284,
1900; 131, 361, 1900; 134, 1394, 1902; 135, 812, 833, 1115, 1902; 137,
158, 232, 295, 374, 1903; 139, 101, 1904.

sonders durch die umfangreiche Anwendung der Ehrlichschen Arsenikalien in der medizinischen Praxis.

Da ich selber Gelegenheit hatte, eine größere Anzahl Untersuchungen, besonders von Harnproben nach Injektion von Arsenikalien¹⁾ auszuführen, so möchte ich hier die von mir ausgearbeitete Untersuchungsmethode angeben, die gestattet, die kleinsten Arsenmengen zuverlässig nachzuweisen und auch quantitativ zu bestimmen. Es handelt sich dabei um Arsenmengen, die sich durch Behandeln mit Schwefelwasserstoff und Ausfällen als Magnesiumsalz nicht mehr ermitteln lassen.

I. Reinigung und Prüfung der Chemikalien.

Die Schwefelsäure wird in der Technik fast immer aus arsenhaltigen Rohmaterialien gewonnen, und so kommt es, daß nicht nur diese Säure und ihre Salze einen gewissen Arsengehalt aufweisen, sondern auch auf die übrigen Säuren und chemischen Produkte, bei deren Darstellung die Schwefelsäure direkt oder indirekt eine Rolle spielt (und das ist ungefähr bei allen anorganischen Präparaten der Fall), diese Verunreinigung übertragen wird, soweit sie nicht schon aus den sonst verwendeten natürlichen Ausgangsmaterialien damit behaftet sind. Auch die nach dem Kontaktverfahren gewonnene Schwefelsäure scheint nicht absolut arsenfrei zu sein.

Schon seit längerer Zeit hat man daher Methoden ausgearbeitet, um die für bestimmte Zwecke zu verwendenden Chemikalien von ihrem Arsengehalt zu befreien. Besonders galten diese Bemühungen der Gewinnung von arsenfreier Salzsäure, da diese Säure im Verein mit Kaliumchlorat nach dem Verfahren von Fresenius und Babo²⁾ in der toxikologischen Analyse zur Zerstörung der organischen Substanz ganz allgemein angewendet wird. Bis zu einem gewissen Grade ist diese Befreiung von Arsen ja auch gelungen, und man findet in fast allen Chemikalienkatalogen „garantiert arsenfreie“ Salzsäure für forensische Zwecke angezeigt. Für die gewöhnliche

¹⁾ Über die Hauptergebnisse dieser Untersuchungen habe ich auf dem Kongreß der Freien mikrobiologischen Vereinigung am 9. Juni d. J. in Dresden kurz berichtet (Referat im Centralbl. f. Bakt. I. Abt., Referate, 49. Beiheft). Die ausführliche Veröffentlichung wird demnächst erfolgen.

²⁾ Liebigs Annalen 49, 308, 1844.

toxikologische Praxis, wo es sich darum handelt, auf Arsenmengen zu fahnden, die zum mindesten gesundheitsschädlich oder gar tödlich wirken, genügen diese Präparate auch ganz gewiß, zumal sie sich bei den weniger empfindlichen Prüfungsverfahren als arsenfrei bewähren.

Sobald man aber die strengsten Anforderungen an die Reinheit der Reagentien stellt — und das ist erforderlich, wenn es gilt, die geringsten Spuren Arsen, z. B. bei physiologischen Versuchen, sicher nachzuweisen —, dann erkennt man bei Anwendung genügend scharfer Nachweismethoden alsbald die Grenze der technischen Leistungsfähigkeit. Mir ist es wenigstens bisher nicht gelungen, auch von den angesehensten Firmen eine Salzsäure zu erhalten, die bei Prüfung von mindestens 20 ccm der Arsenprobe im Marshschen Apparat standgehalten hätte.

Daher habe ich mich in den Fällen, wo es sich um die Prüfung auf die geringsten Spuren Arsen handelt, von der Verwendung größerer Säuremengen für die Zerstörung der organischen Substanz, wie sie z. B. auch bei der Säuregemischveraschung von A. Neumann¹⁾ erforderlich sind, ganz frei gemacht und ein Verfahren benutzt, bei dem nur geringe Säuremengen, dagegen größere Mengen von Salzen, die sich verhältnismäßig leicht gänzlich von Arsen befreien lassen, zur Verwendung kommen.

Die für dieses Salpeterschmelzverfahren erforderlichen Säuren, Schwefelsäure und rauchende Salpetersäure, erweisen sich in den hier in Betracht kommenden Mengen (einige Kubikzentimeter), wenn man die reinsten Kahlbaumschen Präparate verwendet, meistens als arsenfrei.

Die Schwefelsäure prüft man, indem man sie in etwa 20%iger Lösung in den Marshschen Apparat bringt (s. unten), und zwar mindestens in solchen Mengen, wie sie für die einzelnen Untersuchungen zur Verwendung kommen.

Die rauchende Salpetersäure ist natürlich ohne weiteres zur Prüfung im Marshschen Apparat nicht zu gebrauchen. Eine gemessene Menge (10 bis 20 ccm) wird mit etwa 10% konzen-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 37. 115, 1903; Arch. f. Anat. u. Physiol. 1903. 199.

trierter Schwefelsäure vermischt und in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade (mit Porzellanringen) vorsichtig abgedampft. Die Erhitzung wird so lange fortgesetzt, bis eine Tüpfelprobe des Rückstandes mit Diphenylaminschwefelsäure (1 Teil Diphenylamin in 100 Teilen konzentrierter Schwefelsäure) keine Blaufärbung mehr ergibt. Bei diesem Verdunsten der Salpetersäure ist zwar, wie mir wiederholte Destillationsversuche zeigten, das Entweichen sehr geringer Arsenmengen nicht ganz ausgeschlossen, doch bleibt der größere Teil im Rückstande, und außerdem herrschen hier dieselben Bedingungen, wie bei dem Zerstörungsverfahren selbst, so daß das Prüfungsergebnis den tatsächlichen Verhältnissen entspricht. Der Abdampfrückstand (Schwefelsäure) wird, mit Wasser verdünnt, im Marshschen Apparat geprüft.

Die Nitrate von Natrium und Kalium enthalten meistens Spuren von Arsen, die sich nach dem Eisenfällungsverfahren nachweisen lassen. In neuerer Zeit liefert allerdings die Firma Kahlbaum auch Präparate, die sich in den hier in Betracht kommenden Mengen als arsenfrei erweisen. Jedoch ist es immer ratsam, oder bei genauen Versuchen notwendig, sich selbst von der Arsenfreiheit zu überzeugen, da auf irgendeine unkontrollierbare Weise geringe Verunreinigungen hineingeraten sein könnten. Die Reinigung der Nitrate, wie die anderer neutraler Salze, von Arsen geschieht auf Grund der von mir in Gemeinschaft mit M. Paucke ausgeführten und an anderer Stelle¹⁾ veröffentlichten Untersuchungen durch Fällung von Eisenhydroxyd in ihren abgekühlten Lösungen. Das Arsen wird auf diese Weise durch die Adsorptionswirkung des Eisenhydroxyds aus der Lösung entfernt. Hierzu ist eine Eisenlösung und eine Ammoniaklösung von bestimmtem Gehalt nötig.

Für die Eisenlösung verwende ich den Eisenammoniakalaun, das krystallisierte Ferriammoniumsulfat ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$). Von diesem Salz werden 226 g (genau 225,6 g) mit destilliertem Wasser zu 1 Liter gelöst; 1 cem dieser Lösung entspricht 50 mg $\text{Fe}(\text{OH})_3$, oder 10 cem entsprechen 0,5 g $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Nimmt man das reinsten Kahlbaumsche Präparat, so ist in 20 cem einer derartigen Lösung kein Arsen nachzu-

¹⁾ Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kollode 8, 273, 1911.

weisen. Natürlich könnte man auch Lösungen von beliebig anderem, aber bekanntem Eisengehalt verwenden.

Der Ammoniaklösung gibt man am besten eine derartige Konzentration, daß zur Fällung eines Volumens Eisenlösung das gleiche Volumen Ammoniaklösung erforderlich ist. Es hat sich bei den oben erwähnten systematischen Versuchen über die Adsorption des Arsens durch Eisenhydroxyd herausgestellt, daß die Adsorption am besten verläuft, wenn genau die stöchiometrischen Mengen Ammoniak zur Anwendung kommen, daß, mit anderen Worten, ein größerer Überschuß des Fällungsmittels nachteilig wirkt. Der Eisenlösung von dem angegebenen Gehalt würde eine Lösung äquivalent sein von 23,9 g Ammoniak im Liter, d. i. 1,404 normal. Da nun beim längeren Aufbewahren und wiederholtem Öffnen der Flasche immer ein gewisser Teil Ammoniak sich verflüchtigt, und da andererseits ein geringer Überschuß für die Adsorptionswirkung nicht besonders nachteilig ist, so wird man die Ammoniaklösung in der Weise am einfachsten herstellen, daß man eine 10%ige Lösung auf das 4fache verdünnt, so daß man eine Lösung von ca. 2,5% NH_3 = 1,47 n erhält. Man prüft durch Titration mit Normalsäure (Lackmus oder Methylorange als Indikator); wenn 10 ccm Ammoniaklösung ca. 14,5 ccm (zwischen 14 und 15 ccm) 1 n-Säure verbrauchen, dann ist die Lösung richtig eingestellt.

Da nun die Ammoniaklösungen durchweg auch einen gewissen Arsengehalt haben, so ist es ratsam, entweder die ursprüngliche Ammoniaklösung zunächst längere Zeit mit frisch gefälltem, ausgewaschenem Eisenhydroxyd zu schütteln oder die Gebrauchslösung dauernd über einer gewissen Menge Eisenhydroxyd aufzubewahren, wobei die Flasche von Zeit zu Zeit umzuschütteln und die jedesmal zu verwendende Menge Ammoniaklösung zunächst zu filtrieren ist.

Zur Prüfung der Ammoniaklösung verdampft man ein bestimmtes Volumen auf dem Wasserbade nicht ganz zur Trockne; der Rückstand wird mit etwas verdünnter Schwefelsäure aufgenommen und in den Marshschen Apparat gebracht.

Diese Eisen- und Ammoniaklösungen werden auch für die Abscheidung des Arsens zum Nachweis und zu seiner Bestimmung benutzt (s. unten).

Die Reinigung des Natrium- und Kaliumnitrats führt man nun in der Weise aus, daß man diese Salze in Wasser löst, z. B. 500 g NaNO_3 in 650 ccm, 500 g KNO_3 in 3 l Wasser, zu den Lösungen je eine bestimmte Menge Eisenlösung, z. B. 25 ccm, hinzufügt und sie unter Umrühren in Eis auf etwa 5° abkühlt. In der Kälte wird dann durch Zusatz des gleichen Volumens Ammoniaklösung das Eisenhydroxyd ausgefällt und nach kurzem Stehen durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filtrat wird in gleicher Weise, aber nur mit 10 ccm Eisen- und Ammoniaklösung behandelt. Dieser zweite Eisenhydroxydniederschlag dient zur Prüfung, ob die Salpeterlösungen nunmehr arsenfrei sind. Er wird auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das ablaufende Waschwasser mit Diphenylaminschwefelsäure bei der Tüpfelprobe auf Porzellan keine Blaufärbung mehr gibt.

Das Eisenhydroxyd wird sodann in etwa 25 ccm heißer 20%iger Schwefelsäure gelöst und diese Lösung wird nach dem Abkühlen im Marshschen Apparat geprüft (s. unten). Sollte bei dieser Kontrolle noch Arsen gefunden werden, so müßten die Salpeterlösungen noch einmal mit einer entsprechenden Menge Eisen- und Ammoniaklösung behandelt werden, bis die letzte Kontrolle die Arsenfreiheit erweist.

Die Fällung des Eisenhydroxyds kann man auch bei gewöhnlicher Temperatur ausführen, doch wird die Adsorptionswirkung durch die Eiskühlung noch gesteigert.

Die auf diese Weise gereinigten und geprüften Salpeterlösungen werden nun teils als Lösungen aufbewahrt (etwa zur Hälfte), teils zur Gewinnung der festen Salze eingedampft. Durch Bestimmung des spezifischen Gewichts kann man leicht den Salzgehalt der durch die Reinigungsmethode etwas verdünnten Lösungen erfahren. Ist man den hier gemachten Angaben gefolgt, so wird man durch Vermischen äquivalenter Lösungsmengen (etwa der Hälften der beiden Lösungen) eine Lösung von etwa 23% Natriumkaliumnitrat erhalten.

Die anderen Hälften der Lösungenengt man in Schalen auf dem Wasserbade ein, bis der größte Teil des Salzes ausgeschieden ist. Nach dem Erkalten trocknet man das Salz an der Luft auf mehrfachen Lagen Fließpapier und mischt gleiche Teile miteinander. Dieses Salzgemisch wird in einer Pulverflasche aufbewahrt, um für die Salpeterschmelze verwendet zu werden.

II. Zerstörung der organischen Substanz.

Das Zerstörungsverfahren, das ich für Fleisch früher bereits beschrieben habe¹⁾, besteht in der Behandlung der organischen Substanz mit einigen Kubikzentimetern eines Gemisches von 9 Teilen rauchender Salpersäure und 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure (Säurebehandlung) und der Schmelze mit Natriumkaliumnitrat (Salpeterschmelze²⁾). Dadurch wird alle organische Substanz vollständig zerstört, d. h. in anorganische Alkalisalze (Carbonat, Sulfat, Phosphat usw.) übergeführt und auch alles Arsen in Alkaliarseniat verwandelt, das sich aus der wässrigen Lösung dann durch Eisenhydroxyd quantitativ fällen läßt.

Der erste Teil des Zerstörungsverfahrens, die Säurebehandlung, muß je nach Art des Untersuchungsobjekts etwas modifiziert werden, wie das aus den weiter unten beschriebenen Beispielen hervorgeht.

Zu der Salpeterschmelze verwendet man am vorteilhaftesten eine Schale oder einen Tiegel aus Platin. Geräte aus anderem Metall, wie z. B. Kupfer, Nickel, Silber sind unbrauchbar, da sie durch den schmelzenden Salpeter angegriffen werden. Auch die neuerdings in die Laboratoriumspraxis eingeführten Quarzgefäße haben sich leider für diesen Zweck durchaus nicht bewährt. Sie sind ja gerade dadurch ausgezeichnet, daß sie sehr große Temperaturdifferenzen unbeschadet vertragen — man kann einen Quarztiegel aus der Gebläseflamme unmittelbar in kaltes Wasser tauchen, ohne daß er zerspringt — und so hätte man vermuten sollen, daß sie auch in diesem Falle einen wohlfeilen Ersatz für Platin bilden würden. Es zeigte sich aber, daß die Quarzgefäße außerordentlich empfindlich sind, wenn in ihnen Salze geschmolzen werden. Vertragen sie leer oder mit einem lockern Inhalt die größten Temperaturstürze, so springen sie schon beim langsamen Abkühlen der Schmelzen. Man kann dieses Zerspringen und Zerreißen der Quarzwandungen auch nicht dadurch völlig verhindern, daß man den Hauptteil der

¹⁾ Zeitschr. f. angewandte Chem. 18, 421, 1905.

²⁾ Wie ich in der zitierten Abhandlung schon erwähnt habe, benutzten Wöhler und Steibold bereits im Jahre 1847 eine ganz ähnliche Schmelzmethode; neuerdings hat sich z. B. auch E. Salkowski (Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 95, 1908) der Salpeteranalyse bedient.

Schmelze noch flüssig ausgießt. Der geringe Schmelzübergang, der an der inneren Wandung haften bleibt, verursacht beim Erkalten, offenbar infolge der großen Verschiedenheit der Temperaturkoeffizienten von Quarz und Schmelzfluß, ein Zerspringen der Gefäßwandungen. Vielleicht wird auch die Quarzoberfläche durch das bei der Schmelze entstehende Alkalicarbonat etwas angegriffen.

Porzellantiegel haben sich dagegen noch besser bewährt. Zwar zerspringen sie auch meistens, wenn man die ganze Schmelze darin erkalten läßt; gießt man aber die Hauptmasse des Schmelzflusses aus (etwa in eine Schale mit Wasser), so bleibt der Tiegel beim weitem Abkühlen unversehrt. Man kann auch so verfahren, daß man, statt den Schmelzfluß auszugießen, in die eben erstarrende Schmelzmasse vorsichtig zunächst wenig, allmählich mehr Wasser hineinspritzt, so daß man auf diese Weise sogleich eine heißgesättigte Salzlösung erhält¹⁾.

Am geeignetsten für die Salpeterschmelze sind jedoch die Platingeräte, da diese völlig widerstandsfähig sind, vorausgesetzt, daß man nicht zu stark erhitzt. Der Platintiegel oder die Platinschale wird auf ein sauberes Tondreieck (am besten mit Platinblechen umwickelt) gesetzt und mit einer nicht zu großen Flamme erhitzt, so daß die Salzschmelze eben noch im Fluß bleibt; dann wird das Platin nicht angegriffen. Wegen des guten Wärmeleitvermögens ist bei Platin schon kein so starkes Erhitzen notwendig wie bei Porzellan, um die Wärme auch auf die oberen Teile der Seitenwandungen zu verteilen und das Schmelzen der Masse im Gange zu halten.

An einigen Beispielen möchte ich nun das Zerstörungsverfahren näher erläutern.

1. Harn.

a) Säurebehandlung. Der Harn (in einzelnen Proben oder die ganze Tagesmenge) wird zunächst gemessen und mit Salpeter versetzt, indem man 10 bis 15% seines Volumens von der oben beschriebenen Salpeterlösung (23% (NaK)NO₃) oder 2,5 bis 3,5% festes Natriumkaliumnitrat hinzufügt, und dann

¹⁾ Dieses Verfahren wurde von meinem Assistenten, Herrn Dr. Hans Winkler, ausprobiert.

in einer nicht zu großen Porzellanschale unter wiederholtem Nachfüllen auf dem Wasserbade eingedampft. Bei Flüssigkeiten ist das Vermischen mit Salpeter von vornherein deshalb vorteilhaft, weil dann der Trockenrückstand die organische Substanz gleich möglichst innig mit dem Salpeter gemischt enthält.

Der Abdampfrückstand wird (auf einem Wasserbade mit Porzellanringen und unter einem gut ziehenden Abzuge) nach und nach mit einem Gemisch von 9 Teilen rauchender Salpetersäure und 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure (Säuregemisch) behandelt. Sollte der Abdampfrückstand schon ganz trocken sein, so muß er zunächst erst wieder etwas angefeuchtet werden, da sonst die Reaktion mit dem Säuregemisch zu lebhaft werden und zur Entzündung der Masse führen kann. Von der Säure fügt man tropfenweise (aus einem Meßzylinder) mit wiederholten Pausen unter möglichst gleichmäßiger Verteilung auf den ganzen Schaleninhalt so viel hinzu, daß im ganzen etwa 1% der Harnmenge, jedoch nicht unter 5 ccm gebraucht werden. Man erhält einen gelbbraunen Rückstand, der dann weiterhin mit Salpeter geschmolzen wird.

b) Die Salpeterschmelze führt man in der Weise aus, daß man in einer Schale oder einem Tiegel aus Platin oder Porzellan (s. oben) zunächst 5 bis 10 g gereinigtes Natriumkaliumnitrat mit möglichst kleiner Flamme zum Schmelzen bringt, und dann den Abdampfrückstand von der Säurebehandlung in kleinen Portionen mit einem Platinspatel einträgt, wobei man jedesmal so lange wartet, bis nach dem Aufblähen der Schmelzmasse völlige oder fast völlige Veraschung eingetreten ist. War der Abdampfrückstand gar zu trocken, so kann bei zu schnellem Eintragen bisweilen Entzündung eintreten. Um dieses zu vermeiden, feuchtet man die Masse etwas an; vielleicht ist es auch notwendig, noch etwas Salpeter hinzuzufügen.

2. Blut.

a) Säurebehandlung. Zur vollständigen Zerstörung des Blutes ist wegen des hohen Gehalts an Eiweiß, Hämoglobin und anderen organischen Stoffen entsprechend mehr Salpeter erforderlich. Eine Reihe von Versuchen zeigte, daß für 50 ccm Blut 150 bis 200 ccm der 23%igen Salpeterlösung notwendig

sind, also das 3- bis 4fache Volumen an Lösung oder für 1 Teil Blut $\frac{3}{4}$ bis 1 Teil feste Salpetermischung. Blutserum braucht etwas weniger; es genügt das 2- bis 3fache Volumen an Salpeterlösung oder $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Teile feste Salpetermischung.

Das zu untersuchende Blut oder Serum wird mit der erforderlichen Menge Salpeterlösung vermischt und in einer Porzellanschale unter wiederholtem Umrühren (da sich immer wieder eine Decke von gerinnendem Eiweiß abscheidet) auf dem Wasserbade eingedampft. Bevor das Gemisch ganz trocken ist, wird es vorsichtig tropfenweise mit dem Säuregemisch versetzt; man fügt im ganzen etwa 10 bis 20% des ursprünglichen Blut- oder Serumvolumens hinzu unter möglicher Verteilung auf die ganze Masse. Dabei tritt unter Aufblähen und Verfärben der Masse ziemlich starke Reaktion ein. War der Abdampfrückstand schon völlig trocken, so muß er vor der Säurebehandlung zunächst erst wieder etwas angefeuchtet werden, da sich sonst die ganze Masse entzünden kann.

b) Die Salpeterschmelze wird in der gleichen Weise ausgeführt wie beim Harn angegeben: Das Eisen des Häoglobins scheidet sich in dem untern Teil der Schmelze als rotbraunes Oxyd ab.

3. Organteile (Fleisch).

a) Säurebehandlung. Feste Organteile (Fleisch) werden zunächst mit sauberen Messern oder Scheren möglichst zerkleinert und dann in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade allmählich mit dem Säuregemisch versetzt; im ganzen wird auf 1 Teil Fleisch etwa $\frac{1}{2}$ Teil Säuregemisch verwendet. Dabei verwandeln sich die Organteile unter Aufblähen in eine dickflüssige gelbliche Masse. Durch zu schnelles Hinzufügen der Säure kann unter Rauchentwicklung Verkohlungen eintreten.

Der Rückstand der Säurebehandlung wird dann mit so viel Salpeterlösung verrührt, als der 5- bis 6fachen Menge der ursprünglichen Substanz entspricht, so daß die $1\frac{1}{4}$ bis $1\frac{1}{2}$ fache Menge festes Salpetergemisch zur Anwendung kommt. Beim Eindampfen dieser Mischung bleibt zuletzt ein gelblicher kristallinischer Rückstand.

b) Die Salpeterschmelze wird in der gleichen Weise wie unter 1 und 2 ausgeführt.

III. Abscheidung des Arsens.

Zur Abscheidung des Arsens aus der Zerstörungsmasse verfährt man folgendermaßen: Die Salpeterschmelze wird mit Wasser in ein Becherglas gebracht (hat man ein Platingefäß für die Schmelze verwendet, so setzt man dieses am besten noch heiß in kaltes Wasser, die erstarrende Schmelze löst sich dann leicht von der Wandung ab) und unter Erwärmen gelöst. Dabei fügt man unter Umrühren allmählich aus einem Meßzylinder verdünnte (20%) Schwefelsäure hinzu, solange als sich noch Kohlensäure und Stickoxyde entwickeln; man prüft mit einem Tropfen auf Lackmuspapier und setzt so viel Säure hinzu, daß die Reaktion schwach sauer bleibt. Sind dann alle Gase unter Erhitzen ausgetrieben, so läßt man erkalten, fügt einige Tropfen Methylorange hinzu und neutralisiert die Lösung mit Ammoniak.

Da die Adsorptionswirkung des Eisenhydroxyds mit sinkender Temperatur zunimmt, so ist es ratsam, die Lösung durch Einsetzen in Eis abzukühlen; jedoch ist das nicht unbedingt erforderlich. Man läßt dann von der oben erwähnten Eisenlösung (am bequemsten aus einer Bürette) eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter hinzulaufen, und nachdem diese mit der Lösung gleichmäßig vermischt sind, fügt man dasselbe Volumen von der eingestellten Ammoniaklösung unter Umrühren hinzu.

Bei der Bearbeitung von Harn und Fleisch wird in der ersten Fällung der größte Teil des Eisens als helles Ferriphosphat abgeschieden. Dadurch wird die Adsorptionskraft des Eisens für Arsen beeinträchtigt, und man wird in solchen Fällen — natürlich je nach Menge und Arsengehalt des Untersuchungsobjektes und nach Menge der angewendeten Eisenlösung — das Arsen größtenteils vielleicht erst in der zweiten Fällung finden.

Der Eisenniederschlag wird nach etwa halbstündigem Stehen abfiltriert und zur Entfernung der anhaftenden Salpeterlösung mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser mit Diphenylamin keine Salpeterreaktion mehr gibt. Dieses Auswaschen geht bei gewöhnlichen Eisenhydroxyd-Fällungen ziemlich schnell, dauert jedoch bei den weniger durchlässigen Phosphat-Fällungen länger. Das Waschwasser fängt man gesondert auf und engt es auf dem Wasserbade ein, um es dann der Hauptlösung vor der zweiten oder (z. B. bei den phosphor-

haltigen Objekten, die mehrere Fällungen erfordern) zusammen mit den eingeengten Waschwässern der folgenden Fällungen vor der letzten Fällung wieder zuzufügen. Man muß die Eisenfällungen natürlich so lange wiederholen, bis sich der letzte Niederschlag als ganz oder fast arsenfrei erweist.

Es würde sich z. B. empfehlen, bei der Verarbeitung von $\frac{1}{2}$ Liter Harn von der Eisen- und der Ammoniaklösung folgende Mengen für die einzelnen Fällungen zu verwenden: 1. 25 ccm, 2. 15 ccm, 3. 10 ccm, eventuell 4. 5 ccm. War weniger Substanz in Arbeit genommen und ist vor allem kein starker Phosphatniederschlag zu erwarten, so wird man zuerst 20 oder 10 ccm nehmen und die zweite (Kontroll)Fällung mit 5 ccm ausführen. Für die Bemessung der Eisenmengen ist natürlich auch der Arsengehalt maßgebend. Wie aus den oben zitierten, von mir gemeinsam mit M. Paucke ausgeführten Untersuchungen hervorgeht, würden unter normalen Verhältnissen 10 ccm der Eisenlösung (entsprechend 500 mg $\text{Fe}(\text{OH})_2$) genügen, um aus 100 ccm Lösung etwa 25 mg Arsen bei 25° oder etwa 35 mg Arsen bei 0° völlig zu adsorbieren.

Die einzelnen Eisenfällungen werden nach Beendigung des Auswaschens in heißer 20%iger Schwefelsäure gelöst und die Lösung mit derselben Säure auf ein bestimmtes Volumen (z. B. 50 oder 100 ccm) aufgefüllt. Diese schwefelsauren Lösungen werden dann zur Prüfung im Marshschen Apparat benutzt.

IV. Nachweis des Arsens im Marshschen Apparat.

Den Arsennachweis nach der Methode von Marsh-Liebig habe ich vor mehreren Jahren eingehend durchgearbeitet und in einigen Beziehungen modifiziert¹⁾. Bei meinem Apparat ist das Durchleiten des Gases durch Baumwolle oder ähnliches Stopfmateriale vermieden, und zum Trocknen wird kristallisiertes Calciumchlorid ($\text{CaCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$) verwendet, da sowohl feinfaserige Stoffe als auch die sonst gebräuchlichen Trockenmittel, wie gekörntes oder geschmolzenes Calciumchlorid, auf den Arsenwasserstoff zersetzend wirken²⁾. Durch diese und die übrigen

¹⁾ Zeitschrift f. angewandte Chemie, 18, 423, 1905.

²⁾ S. a.: G. Lockemann, Über die katalytische Zersetzung von Arsenwasserstoff, Zeitschr. f. angewandte Chemie 18, 491, 1905, und A. Gütlich, Über Bestimmungsmethoden für Arsen- und Antimonwasserstoff, Dissertation Leipzig 1909, S. 16 bis 35.

Versuchsbedingungen wird die Empfindlichkeit des Arsennachweises auf 0,0001 mg = 0,1 mmg (Milliogramm) As. gesteigert.

Die von mir früher beschriebene Form des Apparates ist dieselbe geblieben, nur habe ich in letzter Zeit statt der Schale für das Kühlwasser ein Becherglas verwendet, welches auf einem Brett seitlich oberhalb der Glühröhren aufgestellt wird. Ein Becherglas faßt mehr Kühlfüssigkeit als eine Schale; außerdem gestattet das auf einem Stativring mit einigen von unten eingetriebenen Nägeln befestigte etwa 10 cm breite und 18 cm lange Tragbrett ein Hin- und Herschieben des Becherglases, so daß seine Stellung der jeweiligen Lage des Kühlfadens angepaßt werden kann. Das Becherglas wird mit Wasser und Eis gefüllt und nimmt die an einem kurzen gebogenen Glasstabe oder dergl. befestigten Enden der Baumwollfäden auf, die um die verengten Stellen der Glühröhren geschlungen werden an denen sich der Arsenspiegel absetzen soll¹⁾. Die Einzelheiten des Apparates sind im übrigen in der früheren Abhandlung näher beschrieben²⁾.

Hat man eine größere Zahl von Arsenuntersuchungen auszuführen, so empfiehlt es sich, mehrere Apparate zu je zweien rechts und links von einem Stativ (s. Abb. l. c. S. 427) aufzustellen und das Verdrängen der Luft durch Einleiten von Wasserstoff, der in einem Kippschen Apparat entwickelt wird, zu beschleunigen. Der Kippsche Apparat wird für diesen Zweck am besten mit einer Zink-Kupfer-Legierung beschickt, welche 90% Zn und 10% Cu enthält³⁾, und als Säure benutzt man die „Salzsäure für forensische Zwecke“. Das Zink mit dem

¹⁾ M. Dennstedt zitiert in seinem vor der deutschen chemischen Gesellschaft am 3. Dezember 1910 gehaltenen Vortrage aus meiner Arbeit, ohne meinen Namen zu nennen, nur diese Kühlvorrichtung, die ich auf Vorschlag von Dr. W. Lenz für die Arsenröhren eingeführt habe.

²⁾ Beschreibungen des Apparates und seines Gebrauchs findet man auch in den neueren Auflagen der Lehrbücher für toxikologische Analyse von W. Autenrieth, G. Baumert, J. Gadamer, sowie in E. Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 1, S. 394; F. P. Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chemie, S. 188; C. Neuberg, Der Harn usw., I. Teil, S. 802 (alle mit Abb., jedoch bei Treadwell und Neuberg etwas abgeänderte Form).

³⁾ Auf meine Veranlassung stellt Kahlbäum diese Legierung für den genannten Zweck in Stangen her.

hohen Kupfergehalt hat nämlich die Eigenschaft, Arsen zurückzuhalten, so daß man auf diese Weise trotz eines gewissen Arsengehaltes der Salzsäure reinen Wasserstoff erhält. Man wäscht das Gas dann nur mit gewöhnlichem Wasser oder mit verdünnter Sodalösung. Benutzt man dagegen zur Wasserstoffentwicklung im Kippschen Apparat das gewöhnliche Zink und die gewöhnliche „reine“ Salzsäure, so ist es notwendig, außerdem noch eine oder zwei Waschflaschen mit möglichst konzentrierter Kaliumpermanganatlösung vorzuschalten¹⁾, um den mit entwickelten Arsenwasserstoff vordem Einleiten in den Marshschen Apparat zu absorbieren. Die letzte Waschflasche wird mit einem Gabelrohr verbunden, von dem aus Gummischläuche zu den Steigrohren zweier nebeneinander aufgestellter Marshscher Apparate führen. Zur gleichmäßigen Regulierung des doppelten Gasstromes kann man die beiden Gummischläuche mit Schraubquetschhähnen versehen.

Bei der Ausführung des Arsennachweises verfährt man nun folgendermaßen: In die Entwicklungsgefäße der Marshschen Apparate bringt man 5 bis 6 Stückchen verkupferten Zinks, hergestellt aus garantiert arsenfreiem Stangenzink „Kahlbaum“, welches zerkleinert, in einer $\frac{1}{2}\%$ igen Kupfersulfatlösung etwa 1 Minute hin- und hergerüttelt und dann mit Wasser mehrmals abgespült wurde. Die Apparate werden geschlossen und aus den Hahntrichtern läßt man 10 ccm Wasser hineinlaufen, so daß die unteren Öffnungen der Steigrohre ganz in Wasser eintauchen. Sodann werden die Glühröhren mit Gummistopfen in die Ansätze der Trockenrohre eingesetzt und auf dem andern Ende zwischen Klammern befestigt. Nachdem die oberen Öffnungen der Steigrohre mit den vom Kippschen Apparat herführenden Gummischläuchen verbunden sind, öffnet man den Hahn des Kippschen Apparates und überzeugt sich zunächst, ob die Marshschen Apparate völlig dicht halten. Ist dieses der Fall, so bricht man die Spitzen der Glühröhren ab und leitet etwa $\frac{1}{2}$ Stunde lang den Wasserstoffstrom durch die Apparate. Alsdann läßt man aus den Hahntrichtern 10 ccm 40%ige Schwefelsäure in die Entwicklungsgefäße fließen, die durch

¹⁾ Reckleben und Lockemann, Zeitschr. f. angewandte Chemie, 21, 433, 1908.

die darin vorhandene gleiche Wassermenge auf die halbe Konzentration verdünnt, mit den Zinkstückchen alsbald Wasserstoff entwickelt. Nach Entfernung der Gummischläuche von den Steigrohren sind die Apparate gebrauchsfertig.

Die Gasflammen werden entzündet und richtig eingestellt, die Drahtnetz-Schutzhüllen aufgesetzt und die feuchten Kühlfäden um die verengten Stellen der Glühröhren zwei- bis dreimal herumgeschlungen, während das obere Beoherglas ganz mit Eis und Wasser gefüllt wird. Bemerkt man nach einiger Zeit im Innern der gekühlten Stellen weder Wassertropfen noch Arsen Spiegel (zur Prüfung des verwendeten Zinks und der Schwefelsäure muß man natürlich zu Anfang einer Versuchsserie einige blinde Versuche auf die Dauer von etwa 2 Stunden durchführen), so bringt man von den zu prüfenden Lösungen abgemessene Mengen, etwa $\frac{1}{10}$ oder $\frac{1}{4}$, in die Hahntrichter und läßt sie unter Nachspülen mit 20%iger Schwefelsäure in die Apparate laufen.

Benutzt man keinen Kippschen Apparat, so läßt man in die Entwicklungsgefäße zu Anfang nicht Wasser, sondern gleich 20%ige Schwefelsäure laufen und wartet mindestens $\frac{3}{4}$ Stunden, bis man die Flammen entzündet. Die vorher geschilderte Methode hat außer der schnellen Verdrängung der Luft noch den Vorzug, daß das Zink zu Anfang geschont wird und dann für die Gasentwicklung nach Zusatz der zu prüfenden Lösung ganz frisch zur Verfügung steht.

Nach 2 Stunden, während welcher Zeit man die Gasentwicklung (nötigenfalls unter weiterem Zusatz von Säure) und die Kühlung (unter Nachfüllen von Eisstücken und vielleicht auch Anfeuchten der Kühlfäden mit Hilfe eines pipettenartigen Glasrohres, das man in das Kühlwasser getaucht hat) kontrolliert, wird der Versuch abgebrochen.

Die erhaltenen Arsen Spiegel vergleicht man mit den Spiegeln einer mit abgemessenen Arsenmengen hergestellten Normalskala¹⁾. Am besten lassen sich die ganz kleinen Arsenmengen, etwa bis zu 12—15 mmg As, schätzen. Es ist daher ratsam, von den Eisenlösungen nur so viel für die Prüfung im Marshschen Apparat zu verwenden, daß die Arsen Spiegel unter-

¹⁾ Siehe z. B. die Abbildung einer Normalskala in meiner oben sitierten Abhandlung zwischen S. 424 und 425.

halb dieser Grenze bleiben. Nötigenfalls ist ein Teil der Eisenslösung noch mit 20%iger Schwefelsäure auf das 10- oder 100fache zu verdünnen. Wenn man dann mehrere Proben mit verschiedenen Mengen prüft und jeden so erhaltenen Arsenspiegel für sich durch Vergleich mit den Normalspiegeln wertet, so erhält man durch entsprechende Umrechnung auf das Ganze Zahlen, deren Mittelwert dann den wirklichen Arsengehalt der Lösung mit ziemlicher Genauigkeit angibt.

Bei zuverlässigen Untersuchungen ist es natürlich erforderlich, Kontrollversuche mit sämtlichen Chemikalien in den gleichen Mengen anzustellen, wie sie für die Verarbeitung der Untersuchungsobjekte erforderlich waren. Denn erweisen sich die einzelnen Chemikalien bei ihrer Prüfung vielleicht auch als arsenfrei, so ist es doch nicht ausgeschlossen, daß durch die Häufung ganz geringer und im einzelnen nicht erkennbarer Arsenspuren in der Gesamtmischung schließlich nachweisbare Mengen vorzufinden sind, die dann bei der Beurteilung der Arsenspiegel mit zu berücksichtigen wären. Bei meinen Versuchen fand ich, auch bei Verwendung ziemlich erheblicher Mengen von Chemikalien, von denen ich allerdings nur die reinsten und in der geschilderten Weise behandelten Präparate benutzte, am Schluß solcher blinden Versuche gar keine oder nur sehr geringe Arsenspuren, die unter dem Wert von 1 mg As blieben.

Zur Kenntnis der Wirkungsweise der Phenylcinchoninsäure auf den Purinstoffwechsel des Hundes.

Von
K. Fromherz.

(Aus dem Laboratorium des städtischen Krankenhauses Wiesbaden.)

(Eingegangen am 31. Juli 1911.)

Nicolaier und Dohrn¹⁾ stellten fest, daß die innerliche Darreichung von Phenyl-Chinolin-Carbonsäure beim Menschen eine Vermehrung der Harnsäureausscheidung im Urin herbeiführt. Über die Ursache dieser Erscheinung ließen sich verschiedene Theorien aufstellen. Die Entdecker selbst nahmen eine vermehrte Harnsäurebildung in den Organen durch toxisch gesteigerten Nucleinzerfall an, eine Wirkungsweise, die jede therapeutische Anwendbarkeit bei Gicht ausschließen würde. Im Gegensatz dazu erklärte Weintraud²⁾ die vermehrte Ausscheidung der Harnsäure lediglich mit einer spezifisch gesteigerten Nierenfunktion, gestützt auf Versuche, die Frank und Bauch³⁾ am normalen Menschen und am Gichtiker ausgeführt haben. Um in die Wirkungsweise der Phenyl-Chinolin-Carbonsäure, die nunmehr Atophan genannt wird, auf den Purinstoffwechsel einen tieferen Einblick zu bekommen, wurden auf Weintrauds Ver-

¹⁾ Nicolaier und Dohrn, Über die Wirkung der Chinolincarbonsäuren und ihrer Derivate auf die Ausscheidung der Harnsäure. *Aroh. f. klin. Med.* 93, 331, 1908.

²⁾ Weintraud, Therapie der Gegenwart, Märzheft 1911; *Verhdl. des XXVIII. Kongresses für innere Medizin*, 1911, 482. — Bauch, Über die Wirkung des Atophans auf den Stoffwechsel des Gesunden und Gichtkranken. *Med. Dissertation Heidelberg* 1911.

³⁾ Frank und Bauch, Über den Angriffspunkt des Atophans bei seiner Einwirkung auf die Harnsäureausscheidung. *Berl. klin. Wochenschr.* August 1911, 1463.

anlassung im Laboratorium des Städtischen Krankenhauses Wiesbaden auch Versuche an Hunden angestellt, die die Einwirkung des Atophans auf die Ausscheidung des Allantoins feststellen sollten, das analog der Harnsäure beim Menschen beim Hunde das Endprodukt des Purinabbaues darstellt.

Diese Versuche hatten wir schon einige Zeit abgeschlossen, zögerten jedoch mit der Veröffentlichung wegen der nicht genügend einheitlichen Resultate, als eine Arbeit von Starkenstein¹⁾ erschien, die sich mit demselben Gegenstande beschäftigte.

Starkenstein stellte beim Hund eine Verminderung der Allantoinausscheidung durch Atophan fest, bei gleichzeitiger geringer Steigerung der Harnsäureausscheidung. Er nimmt deshalb an, daß die Atophanwirkung beim Hund in einer Hemmung der Harnsäureoxydation besteht, die eventuell auch durch ein Abbauprodukt des Atophans hervorgebracht werden könnte. Für den Menschen dagegen nimmt er eine prinzipiell andere Wirkungsweise an, nämlich eine Steigerung der Harnsäurebildung durch vermehrten Zerfall von Nucleoproteiden der Zellen. Eine gleichartige Wirkungsweise beim Menschen wie beim Hund lehnt er ab, weil nach Wiechowski²⁾ eine Harnsäurezerstörung beim Menschen überhaupt nicht stattfindet und sich im Organversuch eine Hemmung der Urikolyse durch Atophan nicht nachweisen ließ. Beim Vogel endlich (Hahn) fand Starkenstein eine Verminderung der Harnsäureausscheidung zugunsten der Harnstofffraktion; er muß hier wieder eine prinzipiell verschiedene dritte Wirkungsart fordern, nämlich eine Hemmung der Harnsäuresynthese aus Harnstoff.

Die günstige Wirkung des Atophans auf Gicht muß Starkenstein auf eine ziemlich umständliche Weise dadurch erklären, daß durch den gesteigerten Nucleinzerfall, der durch die toxische Atophanwirkung hervorgerufen wird, die „zum Zerfall prädestinierten“ Nucleoproteide der Zellen fortgeschafft werden. Dadurc soll im Enderfolg bei längerer Darreichung

¹⁾ Starkenstein, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 65, 177, 1911.

²⁾ Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 107, 1908; diese Zeitschr. 25, 431, 1910.

eine Verminderung des gesamten Nucleinstoffwechsels erzielt werden.

Im ganzen erscheint also die gesamte Erklärung der Wirkungsweise des Atophans auf den Purinstoffwechsel eine recht verwickelte und nicht sehr befriedigende. Sie befriedigt um so weniger, als auch die einzelnen Versuchsreihen des Autors nicht so recht gleichlautend verliefen. Und so erscheint uns die Veröffentlichung unserer Reihen, die nur zum kleineren Teil die Befunde Starkensteins bestätigen, zur Klärung dieser Frage geboten.

Gleich unser erster Versuch (vgl. Tabelle I), der bei ausschließlicher Fütterung eines Hundes mit abgekochtem Pferdefleisch, einschließlich Brühe, ausgeführt wurde, ergab nun im ausgesprochenen Gegensatz zu den Resultaten von Starkenstein am Versuchstage eine auffallende Vermehrung der Allantoinausscheidung auf fast das doppelte der Norm. Das Atophan wurde per os, unter das Futter gemischt gegeben und ohne Störung vertragen. Die Bestimmung des Allantoins wurde nach dem Verfahren von Wiechowski¹⁾ ausgeführt, mit der Abänderung, daß mit gelöster Phosphorwolframsäure gefällt wurde unter Verdünnung auf ein rundes Volum, von dem später ein gemessener Teil weiter verarbeitet wurde. Ebenso wurde in den späteren Versuchen das Allantoin bestimmt.

Tabelle I (Versuch 1).

Datum	Harnmenge	Allantoin pro die	Bemerkungen
22./23. XI.	500	0,3871	
23./24. XI.	300	0,5588	
24./25. XI.	360	0,3353	
25./26. XI.	440	0,7460	3 mal 1,0 Atophan pro die
26./27. XI.	—	0,2130	
27./28. XI.	400	0,3012	

Das Resultat des vorigen Versuches sollte nun durch Versuche am purinfrei ernährten Hund und am Hungertier kontrolliert werden, mit gleichzeitigen Bestimmungen der im ersten Versuch nicht verfolgten Stoffwechsel-Endprodukte.

¹⁾ Wiechowski, diese Zeitschr. 25, 441, 1910.

Die Resultate von Versuch 2 sind in Tabelle II zusammengestellt. Das Tier, ein langhaariger Terrier mittlerer Größe, war zum Zweck des Katheterismus kolpotoniert. Es hungerte vom 7. März an. Vom 10. März an wurde die Gesamt-Stickstoffausscheidung bestimmt, die vom 14. an ein gleichmäßiges Niveau erreichte. Der Harn wurde durch tägliches Katheterisieren um 12 Uhr mittags abgegrenzt¹⁾. Die Phosphorsäure wurde nach der Uranacetatmethode, die Harnsäure nach dem Folinsehen Verfahren bestimmt; die Werte der letzteren sind jedoch bei den geringen Mengen sicher sehr wenig genau, soweit nicht ein stärkerer Ausschlag in Betracht kommt.

Tabelle II (Versuch 2).

Datum	Harnmenge	Spea. Gew.	Stickstoff pro die	Kochsalz pro die	Phosphorsäure pro die	Harnsäure pro die	Allantoin pro die	Bemerkungen
14. III.	100	1030	1,72	0,52	0,665	0,0207	—	Hunger seit 7./III. Harnmenge von 12 Uhr mittags bis 12 Uhr mittags abgegrenzt: 18./14. III.
15. III.	135	1018	1,72	0,29	0,475	0,0225	0,1175	
16. III.	80	1030	2,04	0,26	0,550	0,0225	0,1103	
17. III.	95	1033	2,28	0,18	0,650	0,0270	0,1240	16. III. 1 Uhr p. m. 1,5 g, 7 Uhr p. m. 1,5 g Atophan per os.
18. III.	240	1027	4,52	0,38	0,750	0,0260	0,2013	
19. III.	145	1023	2,36	0,62	0,660	0,0244	0,0669	
20. III.	80	1032	1,65	0,38	0,440	0,0188	—*)	*) Allantoinbestimmung mißlungen

Die Ausscheidungen hielten sich in den Vortagen auf gleichmäßigen Höhen. Am Tage der Atophandarreichung war Gesamtstickstoff und Allantoin unbedeutend, fast innerhalb der Fehlergrenzen gesteigert, am ersten Nachtage erfolgte eine starke Vermehrung des Gesamtstickstoffs und des Allantoins fast auf das Doppelte der Norm, ohne nennenswerte Steigerung der Harnsäure- und Phosphorsäure-Ausscheidung. Am zweiten Nachtage ist die Allantoinausscheidung vermindert unter die Norm, die übrigen Stoffwechselprodukte sind wieder normal.

In diesem Versuch verlief also die Allantoinausfuhr, abgesehen von dem verspäteten Einsetzen der Steigerung, genau wie unter denselben Umständen die Harnsäureausfuhr beim Menschen. Das Resultat dieses zweiten Versuches steht auch in guter Übereinstimmung mit dem ersten Versuch, ist jedoch den Ergebnissen von Starckenstein genau entgegengesetzt.

¹⁾ Ebenso wurde auch bei Versuch 1 verfahren.

Betrachtet man diese beiden Versuche für sich, ohne Rücksicht auf die Versuche von Starkenstein und auf die folgenden, dann wäre auch beim Hund die Annahme naheliegend, daß das Atophan seinen Angriffspunkt auf die Nieren hat und ihre Funktion, das Endprodukt des Nucleinabbaues zur Ausscheidung zu bringen, steigert¹⁾. Von einer Steigerung des Purinumsatzes als Erklärung für die Atophanwirkung kann wegen der fehlenden P_2O_5 -Vermehrung nicht die Rede sein, und mit Sicherheit kann geschlossen werden, daß hier keine Hemmung der Allantoinbildung aus Harnsäure stattgefunden hat.

Unsere folgenden Versuche stimmen mit den ersten beiden nicht überein, sondern sind mehr nach der Richtung der Starkensteinschen Resultate ausgefallen. Der Versuch 3 wurde an dem gleichen Terrier ausgeführt wie der Versuch 2, in einer Periode purinfreier Kost, die auf die Hungerperiode unmittelbar folgte. Bevor wir das Atophan verabreichten, war wieder eine gleichmäßige Ausscheidung aller von uns bestimmten Stoffwechsel-Endprodukte erreicht.

Tabelle III (Versuch 3 und 4).

Datum	Harn- menge	Spez. Gew.	Stick- stoff pro die	Koch- salz pro die	Phos- phor- säure pro die	Harn- säure pro die	Allan- toin pro die	Bemerkungen
27./28.III.	800	1007	2,45	3,80	0,97	0,0440	—	7. III. bis 30. III. Hunger, vom 21. III. an: 200 g Milch, 200 g Grießbrot, $\frac{1}{4}$ Bg. Filterpapier. Periode von 12 bis 18 Uhr.
29. III.	620	1006	2,07	1,37	0,69	0,0369	0,1527	
30. III.	450	1008	2,15	1,30	0,64	0,0304	— *)	*) Mischungen.
31. III.	310	1011	2,49	0,50	0,52	0,0225	0,1043	30. III. 1 Uhr p. m. 3 g Atophan im Futter.
1. IV.	600	1010	4,72	1,35	0,63	0,0410	0,0380	
2. IV.	—	—	2,91	2,73	0,59	0,0684	0,0121	
3. IV.	500	1007	2,39	1,63	0,49	0,0369	0,0731	
4. IV.	550	1010	3,53	0,82	1,75	0,1460	0,5203	3. IV. 4 Uhr p. m.: 300 g Milch, 200 g Brot, 10 g Natr. nucleinic. + 3 g Atophan.
5. IV.	350	1014	4,23	1,12	0,64	0,0390	0,2656	Futter v. 27./28.III.
6. IV.	425	1011	3,75	2,42	0,51	0,0368	0,0378	Futter v. 27./28.III.

¹⁾ Weintraud, Zur Wirkung des Atophans. Verh. des Kongresses für innere Medizin, Wiesbaden 1911, 482.

Das Atophan bewirkte wieder eine starke Stickstoffsteigerung an dem auf den Versuchstag folgenden Tag, keine Veränderung der Phosphorsäureausscheidung und eine unbedeutende Harnsäurevermehrung, die in gar keinem Verhältnis steht zu der starken, sich auf 3 Tage erstreckenden Allantoinverminderung, also ungefähr genau dasselbe Resultat wie bei dem dritten Hunderversuch von Starkenstein, bei dem nur die Phosphorsäure- und Stickstoffbestimmungen fehlen.

Im Anschluß an den beschriebenen Versuch bei purinfreier Kost untersuchten wir die Verarbeitung von zugelegter Nucleinsäure bei gleichzeitiger Atophandarreichung. Dieser Versuch benutzt die Nachperiode des vorigen Versuches als Vorperiode. Wir erhielten eine starke Vermehrung sowohl der Harnsäure als des Allantoin. Die Vermehrung der Phosphorsäure entspricht der verbrannten Nucleinsäure, die Vermehrung der Gesamt-N-Ausscheidung ist dieselbe wie bei den früheren Atophanversuchen an diesem Hund. Wie ist nun bei diesem Versuch die Verarbeitung der Nucleinsäure gegenüber der Norm verändert? Wenn man aus der Phosphorsäureausscheidung einen Schluß ziehen darf, muß man annehmen, daß höchstens drei Viertel der eingeführten Nucleinsäure verbrannt wurden. Aus dem verbrannten Teil, d. i. 7,5 g nucleinsaures Natron, wurden gebildet: 0,66 g Allantoin und 0,11 g Harnsäure; für 10,0 g des Salzes würde sich daraus berechnen; 0,88 g Allantoin und 0,147 g Harnsäure. Hirokawa¹⁾ fand nach Verfütterung von 10,0 g nucleinsaurem Natron im Harn seines Hundes: 1,40 g Allantoin und 0,024 g Harnsäure in der ersten Periode und 1,08 g Allantoin und 0,204 g Harnsäure nach längerer Nucleinsäurefütterung. Es war demnach in unserem Versuch unter der Atophanwirkung die Gesamtmenge der aus der gleichen Quantität verbrennender Nucleinsäure entstandenen Purinabbauprodukte (1,03) um 20 bis 30% geringer als in der Norm (1,42 bis 1,28 bei Hirokawa). Jedenfalls war also der Nucleinzerfall hier nicht gesteigert.

Das Verhältnis Harnsäure zu Allantoin unseres Versuches (16,6:100) war nicht das der normalen Periode von Hirokawas Hunden (1,7:100), sondern es lag etwa in derselben

¹⁾ Hirokawa, diese Zeitschr. 26, 441, 1910.

Höhe wie in der letzten Zeit der Versuche dieses Forschers (18,8:100), als durch die Gewöhnung an die purinreiche Kost eine Verschiebung zugunsten der Harnsäure eingetreten war.

Wir haben also in diesem Versuch:

1. Keine Steigerung des Nucleinzerfalls.
2. Eine unbedeutende Verminderung der Gesamtsumme der aus einer gegebenen Menge Purin entstehenden Endprodukte (Allantoin + Harnsäure).
3. Eine deutliche Verschiebung des Verhältnisses Harnsäure: Allantoin, die allenfalls als eine Hemmung der Harnsäureoxydation angesehen werden könnte.

Überblickt man alle vorhandenen Versuche zur Aufklärung der Atophanwirkung auf den Purinstoffwechsel des Hundes, dann kann man die Deutung Starkensteins, daß dieses Mittel die Oxydation der Harnsäure zu Allantoin hemmen sollte, nicht aufrecht erhalten. Für sie spricht eigentlich nur der erste eventuell noch der zweite Hunderversuch Starkensteins, bei denen die Harnsäurevermehrung einigermaßen der Allantoinverminderung entspricht. In unseren Versuchen und in dem dritten Versuch Starkensteins ist entweder keine Allantoinverminderung eingetreten, oder auf jeden Fall keine entsprechende Harnsäurevermehrung. Auf keinen Fall lassen sich also mit einer solchen Hypothese alle Versuchsergebnisse unter einem Gesichtspunkt zusammenfassen. Es bleiben also für den Hund nur noch die beiden Hypothesen der Atophanwirkung übrig, die auch allein für den Menschen zu diskutieren sind: Entweder das Atophan wirkt toxisch auf den Nucleinzerfall, oder es bewirkt einen spezifischen Nierenreiz. Die erste Wirkungsweise, die von Starkenstein sowie von Nicolaier und Dohrn für den Menschen vertreten wird, erscheint auch bei diesem Hunderversuche nicht zur Erklärung aller Erscheinungen geeignet. Denn erstens müßte dann auch eine entsprechende Phosphorsäurevermehrung zu beobachten sein, die in keinem Versuch nachgewiesen ist; zweitens sprechen alle Versuche von Starkenstein und auch unsere letzten beiden Versuche durchaus dafür, daß auch bei reichlicher Atophandarreichung der Nucleinzerfall nicht gesteigert zu sein braucht.

Es bleibt also nur die von Weintraud angenommene Nierenwirkung der Phenyleincheninsäure übrig. Mit dieser

kann man zugleich alle Versuche unter einem Gesichtspunkt zusammenfassen, wenn man annimmt, daß das Atophan die spezifische Nierentätigkeit den Purinabbauprodukten gegenüber beeinflusst, indem sie sie steigert oder eventuell auch lähmt. Eine solche Reizung liegt vor bei der Wirkungsweise am Menschen und bei unseren ersten beiden Versuchen, während z. B. in unserem Versuch 3 und im dritten Hunderversuch Starkensteins eine Hemmung anzunehmen ist. Diese anzunehmenden Reize beeinflussen das Ausscheidungsvermögen der Niere für Harnsäure mehr als das für Allantoin, wodurch das Verhältnis Harnsäure zu Allantoin manchmal zugunsten der Harnsäure verschoben wird.

Nach Schittenhelms Nucleinfütterungsversuchen an Hunden muß man annehmen, daß der Hund das abgebaute Nuclein quantitativ in Allantoin überführt und als solches ausscheidet. Ist demnach die Allantoinbildung aus Purin und die Ausscheidung durch die Hundeniere an sich bereits eine maximale, so kann sie durch Atophan natürlich nicht gesteigert werden. Vielmehr kann nur eine Verminderung der Allantoinausscheidung eintreten, wenn das Atophan — wofür unser Versuch 4 spricht — auch bei der Hundeniere die Harnsäureeliminierung steigert und dadurch das Material für die Allantoinbildung vermindert. Beim Menschen ist im Gegensatz dazu die Harnsäurebildung aus Nuclein keine maximale, sie wird vielmehr dauernd durch die ungenügende Harnsäureausscheidung der Nieren gehemmt (Weintraud) und wird deshalb erst dann ausgiebiger, wenn unter der Atophanwirkung die Niere in dieser Richtung zu einer maximalen Leistung angeregt wird.

Damit erklären sich ohne weiteres die Unterschiede der Atophanwirkung beim Menschen und beim Hunde. In beiden Fällen beeinflusst das Atophan die Abbauprodukte des Nucleinstoffwechsels, aber nur beim Menschen wird durch die vollständigere Ausscheidung des betreffenden Stoffwechselproduktes, der Harnsäure, die Menge derselben gesteigert, während beim Hund die Bildung der Endprodukte (Allantoin und Harnsäure) meistens schon eine quantitative ist und deshalb keiner Steigerung fähig ist.

Damit soll jedoch nicht gesagt werden, daß wir mit dieser Hypothese die Frage der Atophanwirkung auf den Purinstoff-

wechsel des Hundes für gelöst halten. Die Verhältnisse erscheinen recht verwickelt, und zu ihrer definitiven Klärung sind weitere Versuche noch sehr erwünscht. Besonders wären zum sicheren Nachweis der Nierenwirkung des Atophans noch Versuche zu machen, wie intravenös injiziertes Allantoin von einem unter Atophanwirkung stehenden Tier ausgeschieden wird, nachdem im hiesigen Laboratorium Frank und Bauch am Menschen gezeigt haben, daß injizierte Harnsäure dann quantitativ ausgeschieden wird. Unter allen Umständen erscheint uns aber Starckensteins Annahme prinzipiell verschiedenartiger Angriffspunkte der Wirkung des Atophans bei Menschen und Hund nicht mit den Tatsachen in Einklang zu bringen.

**Bemerkungen zu dem Aufsatz von Walther Schrauth
und Walter Schoeller:**

**Biochemische Untersuchungen über aromatische Queck-
silberverbindungen.**

Bd. 32, S. 509.

**Von
Ferdinand Blumenthal.**

**(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts
zu Berlin.)**

(Eingegangen am 23. Juli 1911.)

Walther Schrauth und Walter Schoeller schreiben, bezugnehmend auf meine gleichnamige Publikation, in Nr. 6 des 32. Bandes dieser Zeitschrift unter anderem folgendes: „Wir müssen darauf hinweisen, daß wir selbst seit etwa 4 Jahren auf dem gleichen Arbeitsgebiet tätig sind und, wie gesagt, im Jahre 1909 bereits zum ersten Male das Natriumsalz einer aromatischen Quecksilbercarbonsäure für therapeutische Zwecke empfohlen haben“ usw. Der Anspruch, der aus diesem Satz hervorgehen soll, ist mir nicht verständlich. Die Autoren haben doch selbst in den *Therapeut. Monatsheften*, Dez. 1909, ausdrücklich geschrieben: „und deren chemischer Charakter, nämlich die teilweise Bindung des Quecksilbers im organischen Kern, unlängst durch die Arbeiten von Dimroth aufgeklärt worden ist. Zu ihnen gehört auch das Hydrargyrum salicylicum, das wegen seiner sonstigen guten Eigenschaften eine weite Verbreitung gefunden hat, ferner das Hydrargyrum carbol., das Resorcinquecksilber u. a.“ Diese früheren Ausführungen, in denen sie anerkennen, daß das alte bekannte Hydrargyrum salicylicum von Dimroth bereits als aromatische Quecksilbercarbonsäure erkannt wurde, sind völlig zutreffend. Nur dürfte das Wort „unlängst“ für die Publikation Dimroths, die 7 Jahre der ihrigen vorausgeht, nicht recht am Platze sein.

Es kann daher der oben zitierte Satz der beiden Autoren nur einen Sinn haben, wenn sich der Ausdruck „zum erstenmal“ auf das Wort „Natriumsalz“ bezieht. Aber auch dafür muß ich ihnen die Priorität bestreiten, denn schon Plumert und Schadeok haben vor mehr als 20 Jahren das Salicylquecksilber als Kalium- bzw. als Natriumsalz ein-

gespritzt. Die Recepte, aus denen dies hervorgeht, finden sich z. B. in Liebreich-Langgaard¹⁾ zitiert. In der Realenzyklopädie der gesamten Pharmazie von Moeller und Thoms 6, 504, Berlin 1906, Urban und Schwarzenberg, ist auch dies alles ausführlich mitgeteilt, nämlich, daß das salicylsaure Quecksilber eine aromatische Quecksilbercarbonsäure ist und daß man sie mit Kochsalz und Alkalien in Lösung bringen kann. Ich kann daher in dem von Sohr. und Sch. in die Therapie eingeführten Assurol nichts anderes sehen als eine gegen früher abweichende Art des Löslichmachens des altbekannten Salicylquecksilbers.

Übrigens liegen andere erfolgreiche Versuche, die Quecksilbersalicylsäure leichter wasserlöslich zu machen, bereits seit langem vor. So ist das im Jahre 1904 in die Therapie eingeführte Enésol ein saurer Salicylsäure-ester der Arsensäure, in dem die dritte Hydroxylgruppe durch Quecksilber ersetzt ist²⁾. Dieses gegen Syphilis vielfach subcutan verwandte reizlose Enésol ist bedeutend ungiftiger und weniger schmerzhaft als das Asurol und hat daneben noch den Vorzug, daß durch die gleichzeitige Einführung des Arsens ein zweiter therapeutischer Faktor für den Syphilitiker nutzbar gemacht wird, während die Amidooxyisobuttersäure, die im Asurol benutzt ist, therapeutisch wohl nur als Ballast bezeichnet werden kann.

Ob nun aber überhaupt das Löslichmachen des Salicylquecksilbers ein erheblicher Fortschritt gegenüber der ursprünglichen Form ist, das ist keineswegs entschieden. Sicherlich ist es verfrüht, heute schon ganz allgemein zu sagen, daß ein aromatisches Quecksilberpräparat, das gelöst injizierbar ist, einem unlöslichen vorzuziehen sei.

Da nun ferner die Medizin bereits seit langem in dem Quecksilber-salicyl, in dem Quecksilberthymol und Quecksilberresorcin und anderen mehr — höchst wirksame Heilpräparate besitzt und über diese Präparate reichliche jahrelange Erfahrungen vorhanden sind, so ist es wohl kaum für uns etwas prinzipiell Neues, wenn die Bedeutung der Bindung des Quecksilbers in der Phenolgruppe betont wird. Diese in ihrer therapeutischen Wirkung uns bekannte Bindung würde erst dann erheblich an Bedeutung gewinnen, wenn die Wirkung durch Einführung anderer Gruppen in den Kern erhöht werden könnte. Ich habe daher gerade deshalb die Bearbeitung solcher aromatischer Quecksilberverbindungen vorgenommen und habe ausdrücklich betont, daß ich hierzu durch die Erfahrungen mit aromatischen Arsenkörpern, insbesondere durch das Atoxyl angeregt worden bin. Diese aromatischen Arsenkörper sind aber amidiierte Körper, und diese Aminogruppe ist es, auf die es dabei erheblich ankommt. Solche amidiierten aromatischen Quecksilberverbindungen, die sich zur subcutanen Behandlung Syphilitischer eignen, sind aber vor mir noch von niemand auf ihre Brauchbarkeit untersucht worden. Ich bin auch, je mehr meine Untersuchungen hierbei fortschritten, um so mehr von der Wichtigkeit solcher Gruppen überzeugt worden. Es hat sich gezeigt, daß arom. Amidomercuri-

¹⁾ Compend. d. Arzneimittellehre, Berlin. S. 427, 1907.

²⁾ Moeller-Thoms Realenzykl. 6, 462.

carbonsäuren, ebenso wie Nitromercuricarbonensäuren¹⁾ für Versuchstiere erheblich weniger giftig sind als Salicylquecksilber bei gleicher Art der Bindung des Quecksilbers und unter Berücksichtigung des Hg-Gehalts. Schon dies würde dafür sprechen, daß der von mir betretene Weg ein richtiger ist. Ein wie großer Unterschied zwischen Schrauth und Schoeller und mir in der Wertschätzung solcher Nitro- und Amidogruppen für die Wirkung der aromatischen Quecksilbercarbonsäuren vorhanden ist, geht z. B. daraus hervor, daß sie einen Widerspruch darin sehen, daß die Diaminomercuridicarbonensäure eine spirilloide Wirkung aufweist, während analoge Quecksilberdicarbonensäuren²⁾ nach Schilling eine derartige Wirkung nicht zeigten. Für mich ist es nicht wunderbar, daß zwischen den Präparaten ein greifbarer Unterschied in der spirilloiden Wirkung vorhanden ist, da eben das eine eine Amino- bzw. Nitrogruppe enthält, das andere nicht³⁾.

Man denke nur an den therapeutischen Unterschied zwischen dem bereits 1878 von Michaelis dargestellten Arsenobenzol und dem Salvarsan Ehrlichs, bzw. der Phenylarsinsäure und der Amidophenylarsinsäure. Die fundamentalen Arbeiten Ehrlichs haben uns ja gezeigt, welche Bedeutung der Amidogruppe an und für sich, ferner ihrer Stellung zum Arsen zukommt, selbst wenn die Wertigkeit des Arsens, die Art seiner Bindung sonst ganz unverändert ist. Diese Gesichtspunkte leiteten mich bei dem Studium aromatischer Hg-Präparate, und irgendeine Berührung mit den Arbeiten von Schrauth und Schoeller vermag ich nicht zu finden. Ein Recht ihrerseits auf Überlassung und Reservierung dieses Arbeitsgebietes erkenne ich daher nicht an. Die therapeutische Bearbeitung aromatischer Quecksilberpräparate ist seit mehr als einem Jahrzehnt Allgemeingut der Medizin. Aromatische Nitro- und Amidoquecksilbercarbonsäuren sind zuerst von mir für die interne Therapie pharmakologisch untersucht worden. Trotzdem liegt es mir fern, die Bearbeitung amidierter und nitrierter aromatischer Quecksilberverbindungen zur internen Therapie für mich allein in Anspruch zu nehmen. Denn ich bin der für jeden Arzt selbstverständlichen Ansicht, daß es in der Therapie keine Reservierung von Arbeitsgebieten geben darf.

¹⁾ Die Untersuchungen von Dr. Franz Blumenthal haben die Bedeutung dieser Gruppen für die spirilloide Wirkung ergeben.

²⁾ Leider ist die betreffende Substanz nicht genauer bezeichnet. Da aber Schr. und Sch. bisher nur über nicht amidierter und nitrierter Produkte berichtet haben, so ist das gleiche auch von diesen Dicarbonensäuren anzunehmen.

³⁾ Die Nitroverbindungen werden teilweise im Organismus zu Amidoverbindungen reduziert.

Lecithin und diastatische Wirkungen.

Von

Emile F. Terroine, Paris.

(Eingegangen am 3. August 1911.)

Einige Verfasser (Bang, Lapidus, Wohlgemuth, Starkenstein usw.) haben in dieser Zeitschrift die Resultate ihrer Versuche über den Einfluß von Lipoiden auf die diastatischen Wirkungen veröffentlicht. Es geht aus den Angaben hervor, besonders aus denen von Lapidus und Starkenstein, daß Lipoide und besonders Lecithin gar nicht die beschleunigenden Wirkungen besitzen, die ihnen Hewlett zuschrieb. Da die obengenannten Verfasser meine eigenen Forschungen über dieses Thema gar nicht erwähnen, möchte ich einfach auf die Schlußfolgerungen meiner Arbeiten, die ich gemeinsam mit Frl. Kalaboukoff verfaßte, verweisen, die ich 1907 in der „Société de Biologie“ veröffentlicht habe und die ich hier genau wiederhole:

1. Zusatz von Lecithin zu Pankreassaft beschleunigt nie seine spaltende Wirkung auf Monobutyryn; es beschleunigt nur sehr wenig seine Wirkung auf Öl, und zwar nur bei relativ hohen Konzentrationen. (C. R. Soc. de Biologie 63, 374.)

2. Die lipolytische Wirkung der Glycerinextrakte von Magenschleimhaut wird nicht durch die Beigabe von Lecithin verändert; die Intestinallipase wird nicht durch Zusatz von Lecithin verändert. (C. R. Soc. de Biologie 63, 619.)

3. Zusatz von Lecithin ist ohne Einfluß auf die Schnelligkeit der Stärkehydrolyse, der Verdauung von Casein und koaguliertem Albumin sowie auf die Koagulation von Milch durch Pankreassaft. (C. R. Soc. de Biologie 63, 665.)

Ich möchte noch hinzufügen, daß bezüglich der Pankreas-Lipase dieselben Schlüsse in meinem Aufsatz: „Zur Kenntniss der Fettspaltung durch Pankreassaft“ gezogen werden. (Diese Zeitschr. 23, 408 bis 462.)

Weiter betone ich, daß die Zusammenfassung der in der „Société de Biologie“ veröffentlichten Mitteilungen in dem „Biochemischen Centralblatt 8, Nr. 63, 416 und 417, 1908, sich befindet; diese Zusammenfassung erwähnt unsere Schlußfolgerungen. Endlich füge ich noch hinzu, daß Bang unsere Resultate in seinem Aufsatz: „Biochemie der Zellipoide“ erwähnt hat. (Ergebnisse der Physiologie 8, 471, 1909.)

Autorenverzeichnis.

- Blumenthal, Ferdinand. Bemerkungen zu dem Aufsatz von Walther Schrauth und Walter Schoeller: Biochemische Untersuchungen überaromatische Quecksilberverbindungen. S. 503.
- Borschim, S. Über den Einfluß des Lecithins auf die Resorption der Haut. S. 471.
- Buchwaldt, F. Berechnung der Fettmenge in der Milch durch Bestimmung der Lichtabsorptionsfähigkeit der Milch und der Anzahl der Fettkugeln in der Volumeneinheit. S. 30.
- Davidsohn, H. siehe Michaelis und Davidsohn.
- Erlenmeyer, Emil. Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten. S. 149.
- — und G. Hilgendorff. Zur Frage nach der Existenzfähigkeit molekularer asymmetrischer Storaximtsäuren. S. 134.
- Friedmann, E. Zur Kenntnis des Abbaues der Carbonsäuren im Tierkörper. (XIII. Mitteilung.) S. 40.
- — Zur Kenntnis des Abbaues der Carbonsäuren im Tierkörper. (XIV. Mitteilung.) S. 49.
- — und H. Tachau. Über die Bildung des Glykokolls im Tierkörper. (I. Mitteilung.) S. 88.
- Fries, H. Über das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Blute. S. 368.
- Fromherz, K. Zur Kenntnis der Wirkungsweise der Phenyllochohinsäure auf den Purinstoffwechsel des Hundes. S. 494.
- Greifenhagen, W., J. König und A. Scholl. Bestimmung der Kohlenhydrate durch Oxydation mittels Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung. S. 169.
- — — Bestimmung der Stärke. S. 194.
- — — Bestimmung des Leimes. S. 217.
- Hilgendorff, G. siehe Erlenmeyer und Hilgendorff.
- Hübbsenet, E. siehe Palladin; Hübbsenet und Korsakow.
- Kikkoji, T. Über den Abbau des Naphthalinkernes im Tierkörper. S. 57.
- König, J. siehe Greifenhagen, König und Scholl.
- Korsakow, M. siehe Palladin, Hübbsenet und Korsakow.
- Kreidl, Alois und E. Lenk. Bestimmung des spezifischen Gewichtes kleinster Milohmengen. S. 166.
- La Franca, S. Der Purinstoffwechsel bei einigen Leberkrankheiten. S. 434.
- Lederer, Richard und K. Stolte. Die Zusammensetzung des Menschen- und des Hundehirns. S. 108.
- Lenk, E. siehe Kreidl und Lenk.
- Liebermann, L. v. und Franz Wiesner. Über das Sauerstoffübertragungsvermögen verschieden hoherwärmten Blutes. S. 363.
- Lockemann, Georg. Über den Nachweis kleiner Arsenmengen in Harn, Blut und anderen organischen Substanzen. S. 478.
- Marchlewski, L. und J. Marszałek. Studien in der Chlorophyllgruppe. XI. S. 413.
- Marszałek, J. siehe Marchlewski und Marszałek.
- Meyerhof, Otto. Untersuchungen über die Wärmetönung der vitalen

- Oxydationsvorgänge in Eiern. I. S. 246.
 — — Desgl. II. S. 280.
 — — Desgl. III. S. 316.
- Michaelis, Leonor und Heinrich Davidsohn. Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. S. 386.
- Oerum, H. P. T. Über die quantitative Bestimmung des MilCHFettes vermittelst der Fettkugeln. S. 18.
- Österberg, Emil siehe Wolf und Österberg.
- Palladin, W., E. Hübbenet und M. Korsakow. Über die Wirkung von Methylenblau auf die Atmung und die alkoholische Gärung lebender und abgetöteter Pflanzen. S. 1.
- Reinhard, A. siehe Zaleski und Reinhard.
- Schäfer, P. Weitere Untersuchungen zur Kenntnis hämolytischer Organextrakte. S. 445.
- Scholl, A. siehe Greifenhagen, König und Scholl.
- Stolte, Karl. Eine einfache und zuverlässige Methodik der Aschenanalyse. S. 104.
 — — siehe Lederer und Stolte.
- Tachau, H. siehe Friedmann und Tachau.
- Tanaka, Masahiko. Über Kalkresorption und Verkalkung. S. 113.
- Terroine, Emile F. Lecithin und diastatische Wirkungen. S. 506.
- Wiesner, Franz siehe v. Liebermann und Wiesner.
- Wolf, Charles G. L. unter Mitwirkung von Emil Österberg. Eiweißstoffwechsel beim Hunde. II. S. 329.
- Zaleski, W. und A. Reinhard. Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen. S. 228.

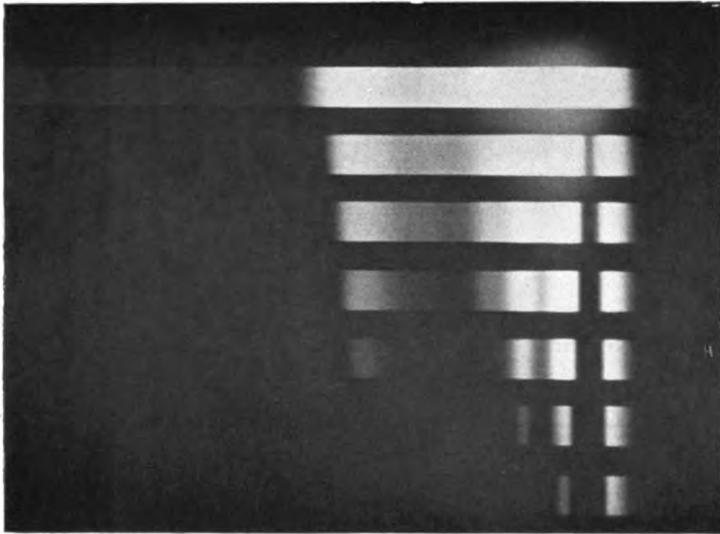


Fig. 1.

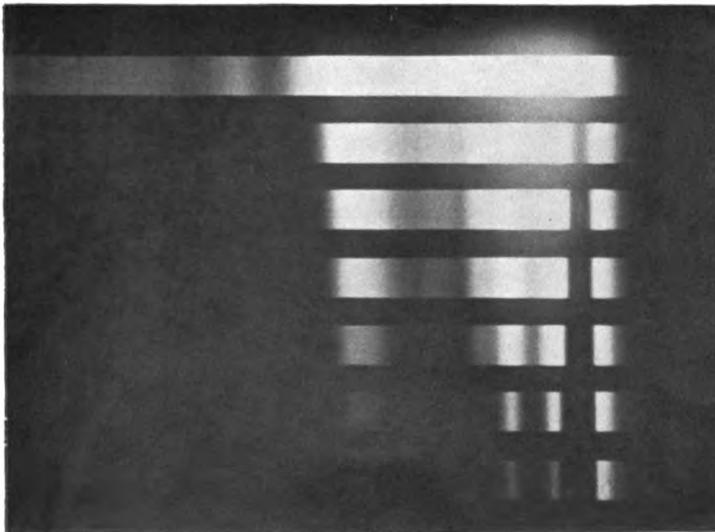


Fig. 2.

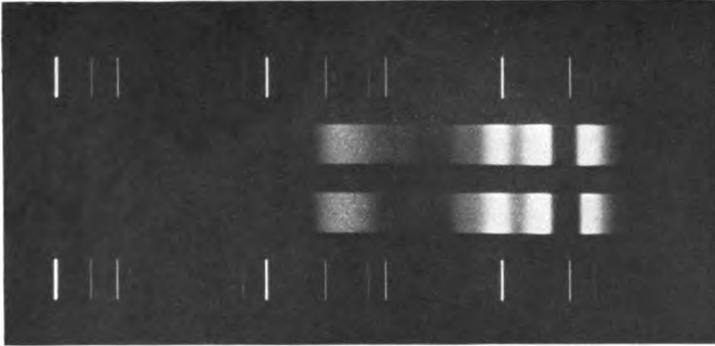


Fig. 1.

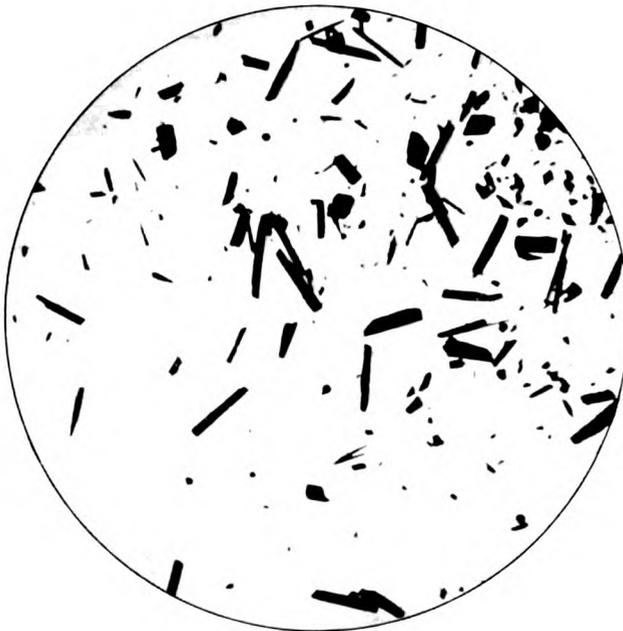
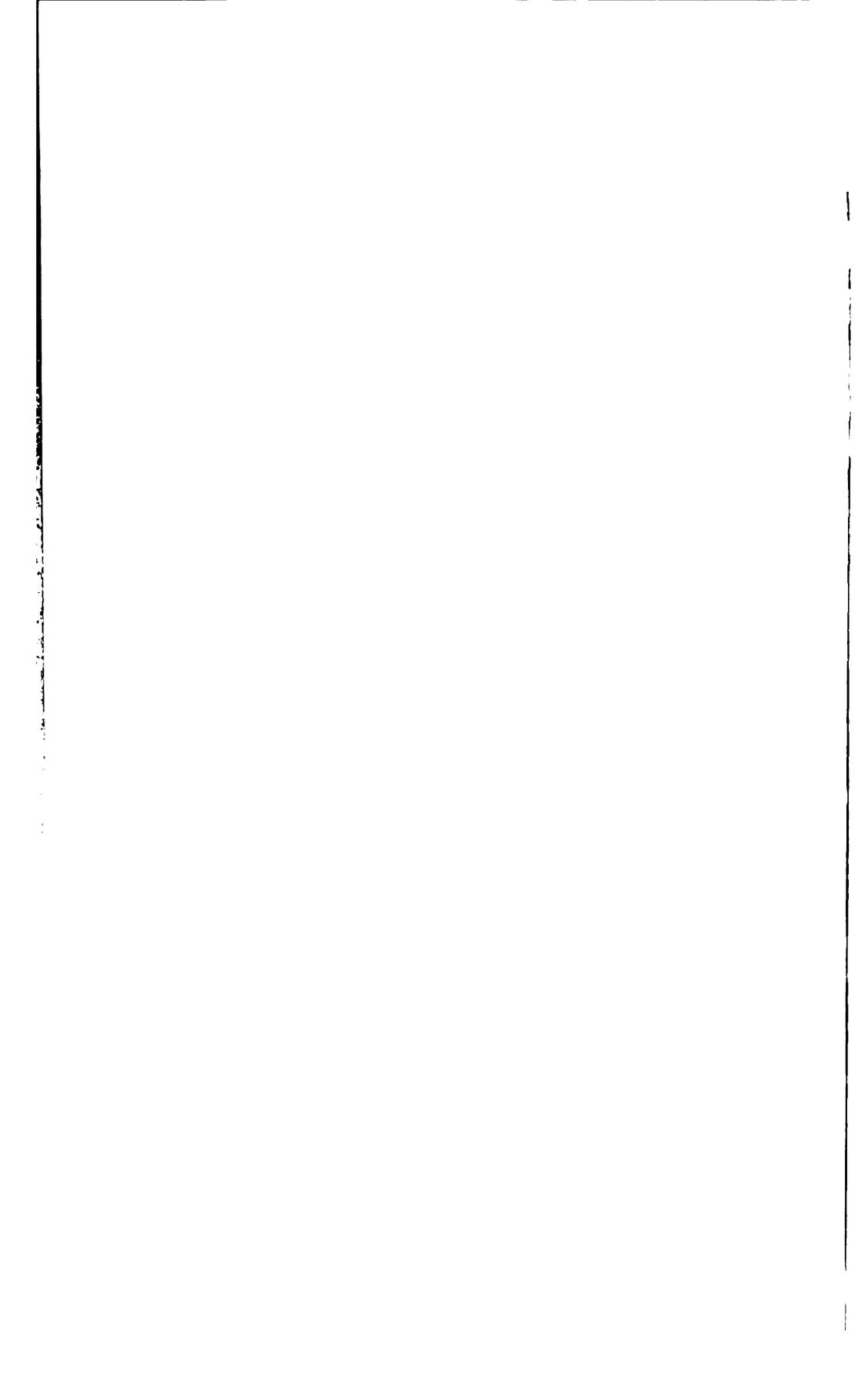
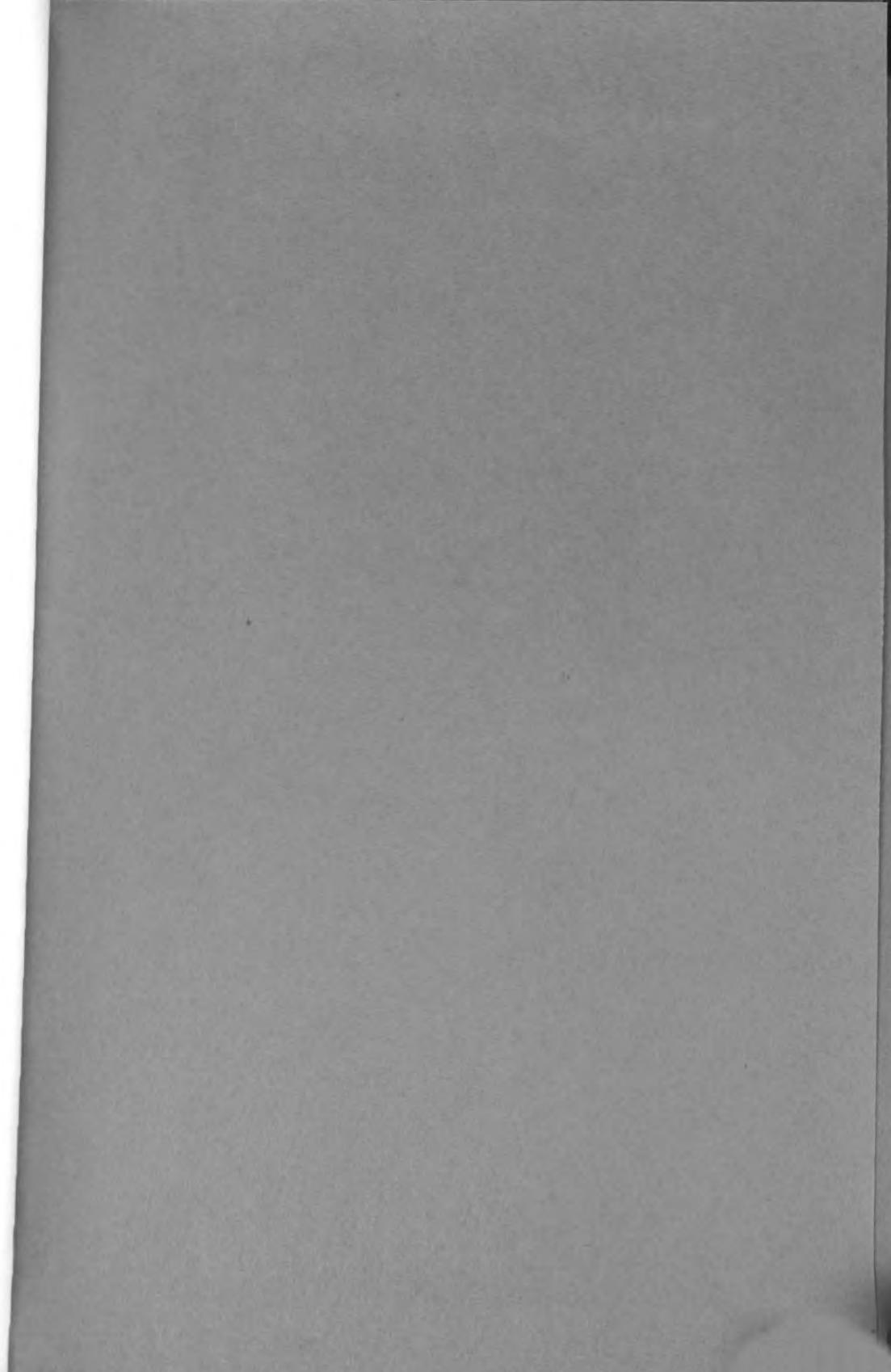


Fig. 2.









THE LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
San Francisco Medical Center

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE STAMPED BELOW

7 DAY LOAN

7 DAY

SEP 23 1963

RETURNED

7 DAY

SEP 25 1963

DEC 1 1965

7 DAY

OCT 8 1963

RETURNED

OCT 8 1963

15m-12,'60 (B5248s4) 4815

STACKS

141686

